



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATAN

FACULTAD DE QUIMICA

"Establecimiento de líneas sobreproductoras de pigmentos a partir
de cultivos in vitro de Beta vulgaris L".

TESIS

PRESENTADA POR:

Lorenza Carolina Lopez L.

EN SU EXAMEN PROFESIONAL
EN OPCION AL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

BIBLIOTECA CICY
MERIDA, YUCATAN, MEXICO.
1993

INDICE

	pág.
INTRODUCCION	1
I ANTECEDENTES	3
A. Descripción de la planta	3
1. Taxonomía	3
a. Características morfológicas de <i>Beta vulgaris</i> L.	3
b. Características de producción de <i>Beta vulgaris</i> L.	4
2. Distribución	4
3. Composición química	5
4. Usos de <i>Beta vulgaris</i> L	5
5. Plantas productoras de azúcar	6
a. Caña de zúcar	6
b. Remolacha	6
6. Pigmentos	6
7. Biosíntesis de las betalaínas	8
8. Las betalaínas en la industria alimentaria	10
9. Factores que afectan la biosíntesis de las betalaínas en cultivos de tejidos	10
B. El cultivo de células vegetales	17
1. Cultivo de tejidos	17
2. Ventajas y limitaciones del cultivo de tejidos <i>in vitro</i>	19
3. Inducción del cultivo <i>in vitro</i> en medio sólido	20
4. Iniciación del cultivo en medio líquido	21
5. Mantenimiento de un cultivo en medio sólido	22
6. Cultivo de células en suspensión	23
7. Mantenimiento del cultivo en medio líquido	24
OBJETIVOS	26
DISEÑO EXPERIMENTAL	26

	pág.
II MATERIALES	27
A. Reactivos	27
B. Material biológico	27
C. Material de vidrio	27
III METODOS	28
A. Preparación de las soluciones madre para preparar los medios de cultivo	28
B. Preparación de los medios de cultivo	29
C. Desinfestación del material biológico	30
D. Germinación de las semillas	30
E. Desarrollo de la planta	31
F. Inducción de los callos	31
G. Evaluaciones	
1. Fase de inducción (medio sólido)	31
2. Fase de mantenimiento (medio sólido)	31
3. Fase de inducción (medio líquido)	32
4. Fase de mantenimiento (medio líquido)	32
IV RESULTADOS Y DISCUSION	36
A. Desinfestación del material biológico	36
B. Inducción de los callos de <i>Beta vulgaris</i> L.	36
1. Selección del medio de cultivo	36
2. Inducción del cultivo y determinación de las concentraciones óptimas de los fitorreguladores ANA/6-BPA	37
C. Fase de mantenimiento en medio sólido	38
1. Selección del medio de cultivo	38
2. Determinación de la relación óptima de los fitorreguladores ANA/6-BAP	39
3. Cuantificación de las betalaínas	40
4. Ciclo de cultivo en medio sólido	41

D. Fase de inducción en medio líquido	43
1. Establecimiento del cultivo	43
2. Ciclo de cultivo en medio líquido	43
E. Cuantificación de betalaínas en la planta <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	46
 CONCLUSIONES	65
 ANEXO I	66
 BIBLIOGRAFIA	68

RESUMEN

Betabel, *Beta vulgaris* L., es uno de los cultivos comercialmente más importantes como productores de azúcar. Actualmente, usando métodos modernos de extracción, se obtienen rendimientos de entre 15 y 20% del edulcorante.

Por otra parte, y debido a que se ha cuestionado la seguridad de algunos colorantes alimenticios sintéticos, su uso se encuentra muy restringido, por lo que pigmentos como los de los extractos de betabel se encuentran actualmente en estudio, para determinar si son una alternativa a los pigmentos sintéticos.

Este trabajo forma parte de esa búsqueda, como una alternativa biotecnológica, y en el cual se discuten las condiciones para el establecimiento de callos de tallo y hoja de *B. vulgaris* L., así como para el establecimiento de cultivos en suspensión. Para la fase de inducción de callos se utilizó al medio B5 con 2.50 μM de ANA y 2.21 μM de 6-BAP. La fase de mantenimiento en medio sólido se estableció en medio B5. Para el establecimiento de los cultivos en suspensión se utilizó al medio B5 adicionado de 0.5 μM de ANA y 2.21 μM de 6-BAP.

Se obtuvieron callos de tallo que se mantuvieron en el medio B5 con 0.5 μM de ANA y 2.21 μM de 6-BAP en luz continua y a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. El aumento del crecimiento fue del 300% al cabo de dos semanas y con un contenido de betalaínas de 6 U(A535-A650)/g PF.

En el mismo medio y con las mismas condiciones se mantuvieron células en suspensión a partir de callos de tallo, con las siguientes características a los 10 días de edad: paquete celular del 24%, peso fresco de 6.99 g y peso seco de 0.5123 g.