



EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL MEDIO MS, VITAMINAS Y pH EN EL DESARROLLO DE CALLOS Y SÍNTESIS DE PROTEASAS DE CULTIVOS *IN VITRO* DE *Jacaratia mexicana*.

Isabel C. Guzmán Reyes, Alba B. Oliver Vallejo, Jesús A. Badillo Corona y María del Carmen Oliver Salvador

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Av. Acueducto s/n, Barrio La Laguna, Col. Ticomán, México, D.F., C.P. 07340, oliveripn@hotmail.com oliveripn@hotmail.com

Palabras clave: cultivo de callos, proteasas, *Jacaratia mexicana*

Introducción. Las proteasas de *Jacaratia mexicana* pueden competir en aplicaciones industriales donde se usa la papaína (1). Esta es una planta silvestre y una alternativa de producción de estas enzimas es por medio de cultivos *in vitro* de *J. mexicana*. En estudios anteriores hemos demostrado la producción de proteasas en cultivo de callos y en células en suspensión de *J. mexicana* así como biorreactores (2,3). En este trabajo se investigó el efecto de la concentración del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS), de vitaminas MS y B5 y tres valores de pH en la tasa de crecimiento de callos así como la producción de enzimas proteolíticas; con el propósito de conocer la formulación óptima del medio de cultivo MS y llevar a cabo el escalamiento de dicho cultivo celular de *J. mexicana* en un biorreactor de mayor tamaño.

Metodología. Se germinaron semillas de *J. mexicana*, en condiciones de asepsia. Con plántulas de 15 cm de altura se realizaron cortes de tallo de aproximadamente 1 cm y se colocaron en medio semisólido MS de acuerdo a la formulación indicada en el cuadro 1, adicionados con 0.5 mg/L 2,4-D y 0.25 mg/L de BAP. Establecido el cultivo de callos, cada 15 días estos se transfirieron a medios de cultivo fresco. Se determinó la tasa de crecimiento de los callos por diferencia en peso fresco y la actividad proteolítica en el medio de cultivo, por el método de Kunitz modificado (4).

Resultados y discusión. Se observó un decremento en la tasa de crecimiento de callos con dos veces la concentración de sales de MS, posiblemente debido al incremento de la fuerza iónica del medio. Esto concuerda con resultados obtenidos en otro estudio de nuestro grupo donde se observó que la biomasa era ligeramente mayor con el medio MS a ¼ de sales con respecto al medio MS completo en sales, no obstante la liberación de proteasas al medio era mayor con el MS completo. De lo cual podemos inferir que estos cultivos requieren menores concentraciones de sales de las que contiene el medio MS. Hubo un incremento de la tasa de crecimiento de callos de *J. mexicana* con vitaminas B5 de hasta dos veces con doble concentración con respecto a vitaminas MS.

Conclusiones. Se observó que con doble concentración del medio MS hay inhibición en el desarrollo de los callos de *J. mexicana*. Además, con una doble concentración de vitaminas MS y B5, se observa un incremento en la

tasa de crecimiento de los callos con respecto a la concentración 1x.

Cuadro 1. Diseño experimental para evaluar el efecto de diferentes factores en el desarrollo de callos de *J. mexicana*

	CONCENTRACIÓN DEL MEDIO MS		
	½ MS	MS	MS x 2
pH 5.4			
Vit MS	½ MS vit MS	1MS vit MS	2MS vit MS
Vit B5	½ MS vit B5	1MS vit B5	2MS vit B5
Vit MS 2X	½ MS vit MS 2X	1MS vit MS 2X	2MS vit MS 2X
Vit B5 2X	½ MS vit B5 2X	1MS vit B5 2X	2MS vit B5 2X
pH 5.7			
Vit MS	½ MS vit MS	1MS vit MS	2MS vit MS
Vit B5	½ MS vit B5	10 1MS vit B5	2MS vit B5
Vit MS 2X	½ MS vit MS 2X	1MS vit MS 2X	2MS vit MS 2X
Vit B5 2X	½ MS vit B5 2X	1MS vit B5 2X	2MS vit B5 2X
pH 6.0			
Vit MS	½ MS vit MS	1MS vit MS	2MS vit MS
Vit B5	½ MS vit B5	1MS vit B5	2MS vit B5
Vit MS 2X	½MS vit MS 2X	1MS vit MS 2X	2MS vit MS 2X
Vit B5 2X	½MS vit B5 2X	1MS vit B5 2X	2MS vit B5 2X

1/2MS: MS a media concentración de sales, 1MS: MS a concentración basal de sales, 2MS: MS a doble concentración de sales, Vit MS: vitaminas MS, Vit B5: vitaminas B5 (Gamborg).

Agradecimientos. *SIBE-COFFA-IPN. Proyecto SIP 20080579.

Referencias. 1. Briones-Martínez, R., Cruz y Victoria M. T., Cortés-Vázquez, M. I. y Oliver-Salvador M. C. (1994). Preparaciones Enzimáticas de interés Industrial. Información Tecnológica (Chile), 5, 57-62.
2. Oliver-Salvador M.C. et al. (2005). Proteases from cell culture of *Jacaratia mexicana*. 30th FEBS Congress and 9th IUBMB Conference, Budapest.
3. Morales E. (2008). Cultivos celulares de *Jacaratia mexicana* en tres tipos de biorreactores para la producción de enzimas proteolíticas. Tesis de Maestría en Ciencias. UPIBI-IPN. México.
4. Ortega M. L. y Del Castillo L. M. (1966). Actividad de la papaína en presencia de altas concentraciones de urea. *Ciencia Mex.* 24:247-251.