



EFECTO DE INDUCTORES EN LA SÍNTESIS DE PROTEASAS POR CULTIVO DE CÉLULAS DE *Jacaratia mexicana*

^bIliana del Carmen Barrera Martínez, Carlos Alberto Pedroza Zúñiga, ^aMaría del Carmen Oliver Salvador. Departamento de Bioprosesos, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional. Av. Acueducto s/n Barrio la Laguna Ticoman, México, D.F. C.P. 07340. Fax 5729600 Ext. 56305. Correo electrónico: coliver@acei.upibi.ipn.mx

Palabras clave: Proteasas, cultivo de callos, *Jacaratia mexicana*.

Introducción. El cultivo de células de tejidos y/o de órganos vegetales es utilizado como una herramienta biotecnológica para la producción de metabolitos, entre ellos las enzimas (1). Las proteasas ocupan un 60 % del mercado mundial de las enzimas y sus aplicaciones son muy variadas. El látex de *Jacaratia mexicana* contiene cantidades apreciables de proteasas (2). En estudios anteriores se establecieron condiciones de cultivo de callos y de células de *J. mexicana* y se demostró que éstos producen enzimas proteolíticas (3).

En este trabajo se estudió el efecto de la concentración de la auxina, 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoácetico) usando tres formulaciones del medio Murashige Skoog (MS) completo y con un 25% en sales (Cuadro 1). Por otra parte se sabe que las proteasas son inducibles, por lo cual se estudiará el efecto de inductores (caseína y/o hidrolizados de caseína) en el desarrollo del cultivo y en la producción de enzimas proteolíticas usando el medio MS9 (Cuadro 1).

Metodología. Semillas de *J. mexicana* se germinaron en condiciones de asepsia para obtener plántulas. Se colocaron 3 cortes de tallo de 1 cm en frascos tipo Gerber® con 20 mL de medio MS (Cuadro 1) y se sometieron a fotoperiodo de 16 h a 27°C. Una vez establecido el cultivo de callos se analizó la actividad enzimática en los medios donde crecieron éstos por el método de Kunitz mod. (3). Y se probaron 11 formulaciones del medio MS completo y a un 25% en sales usando tres concentraciones de 2,4-D como de indican en la Figura 1.

Resultados y discusión. Las semillas germinaron en medio de Knop en un tiempo de 7 días. Las plántulas alcanzaron un tamaño de 13 a 15 cm entre 15 a 20 días. Se indujeron callos friables. Del estudio del efecto de la concentración de la auxina 2,4-D se observó que a 0.5 mg/L, con todos los medios completos y a 25% en sales probados se obtuvo un óptimo en la actividad proteolítica determinada en los medios donde crecieron dichos callos (Fig. 1). Lo cual sugiere que a 0.5 mg/L de 2,4-D se propició aparentemente una mayor liberación de proteasas al medio y/o, posiblemente, un incremento en la síntesis de esta(s) enzima(s) en el cultivo de callos. Y los resultados acerca del efecto de la concentración de sales del medio MS muestran que no hay un efecto marcado en el desarrollo de las células.

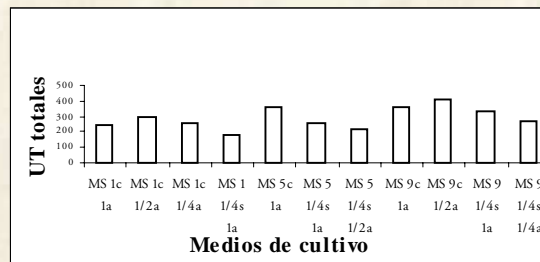


Figura 1. Efecto de la concentración del 2,4-D (1a=1mg/L, 1/2a=0.5 mg/L, 1/4a=0.25 mg/L) en la producción de proteasas en cultivo de callos de *J. mexicana* con MS completo (c) y a 25% sales (1/4s).

Cuadro 1. Formulaciones de medios MS probadas.

Medio	Auxinas	Citocininas (mg/L)
MS1	2,4-D	-
MS5	2,4-D	0.25 cinetina
MS9	2,4-D	0.5 BAP (benzilaminopurina)

Conclusiones y Perspectivas. Se demostró que los cultivos de callos de *J. mexicana* producen enzimas proteolíticas y que éstas se excretan al medio de cultivo.

Los callos obtenidos a partir de cortes de tallo en el medio MS9 completo y a un 25% en sales, presentaron la mayor tasa de crecimiento y la mayor actividad proteolítica.

La concentración de auxinas influye en la inducción y en el desarrollo de los callos así como en la síntesis de enzimas proteolíticas.

Se encuentra en proceso el estudio del efecto de inductores en cultivos de células en suspensión de *J. mexicana*, a nivel matraz.

Agradecimientos. ^aSIBE-COFFA-IPN, ^bPIFI, Proyecto CGPI: 20040175 y 20050149.

Bibliografía.

- 1) Bourgaud, F. Gravot, A., Milesi, S. y Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*. 161: 839-851.
- 2) Briones-Martínez, R., Cruz y Victoria M. T., Cortés-Vázquez, M. I. y Oliver-Salvador M. C. (1994). *Información Tecnológica* (Chile), 5(1): 29-38.
- 3) Badillo C. J. A.; Cruz M. A.; Garibay O. y C; Oliver S. M. C. (2002). Cultivo de células de *Jacaratia mexicana*. Enzimas proteolíticas. UPIBI-IPN. Informe de proyecto de investigación.