

INDICE

INTRODUCCION	1
CAPITULO I	
I. ANTECEDENTES	7
I.1 DESCRIPCION DE LAS ESPECIES	7
I.1.1 <i>Tagetes patula</i>	7
I.1.2 <i>Tagetes erecta</i>	8
I.2 USOS DE <i>Tagetes</i>	8
I.2.1 Medicinales	8
I.2.2 Usos Religiosos o Ceremoniales	9
I.2.3 <i>Tagetes</i> para la obtención de pigmentos	10
I.2.4 <i>Tagetes</i> en el control de nemátodos	10
I.3 LOS TIOFENOS DE <i>Tagetes</i>	10
I.3.1 Distribución de los tiofenos en la planta	11
I.3.2 Biosíntesis de los tiofenos	12
I.3.3 Actividades biológicas de los tiofenos	12
I.3.4 Mecanismo de acción de los tiofenos	14
I.4 FORMACION DE TIOFENOS <i>in vitro</i>	15
I.4.1 Cultivos de tejidos desorganizados	15
I.4.2 Cultivos de raíces	15
I.4.2.1 Morfología y formación de tiofenos	15
I.4.3 Control de la acumulación de tiofenos	16

I.4.3.1 Control hormonal y transformación.....	16
I.4.3.2 Iluminación	17
I.5 ESTRATEGIAS PARA AUMENTAR LA PRODUCCION	17
I.5.1 Inductores fúngicos	18
I.5.2 Etileno	18
I.5.3 Selección por citometría de flujo	19
I.6 RENDIMIENTO Y PATRON DE TIOFENOS	19
I.7 TRANSFORMACION	20
I.7.1 Transformación y metabolitos secundarios	20
I.7.2 Transformación por <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	20
I.7.2.1 Transferencia del T-DNA	21
I.7.2.2 El T-DNA dentro de la célula vegetal	22
I.7.2.3 El T-DNA codifica para fitorreguladores	23
I.7.2.4 Genes del T-DNA y morfología tumoral	23
I.7.2.5 Opinas	24
I.7.2.6 Opinas como criterio de transformación	25
CAPITULO II	
II. MATERIALES Y METODOS	
HIPOTESIS	33
OBJETIVOS	34
DISEÑO EXPERIMENTAL	34
II.1 Metodología	35
II.1 Crecimiento de plantas de <i>T. patula</i> y <i>T. erecta</i>	35
II.2 Cultivo de tejidos.....	36
II.2.1 Cepas de <i>A. tumefaciens</i>	36

II.2.2 Obtención y mantenimiento de cultivos transformados de <i>T. erecta</i> con diferentes grados de diferenciación.....	36
---	----

II.2.3 Obtención y mantenimiento de cultivos de raíces transformadas de <i>T. patula</i> con LBA 4210	37
---	----

II.2.4 Transferencia de los cultivos de raíces transformadas de medio sólido a líquido	38
--	----

II.2.5 Obtención de raíces normales	38
---	----

II.2.6 Caracterización de los cultivos	39
--	----

II.2.7 Tratamientos	40
---------------------------	----

a) Adición de NaCl al medio de cultivo	40
--	----

b) Adición de ethrel al medio de cultivo	40
--	----

c) Adición de etileno a la atmósfera del matraz.....	40
--	----

d) Adición de CoCl ₂	40
---------------------------------------	----

e) Adición de tiosulfato de plata (STS).....	40
--	----

II.2.8 Sistema con intercambio gaseoso favorecido	41
---	----

II.2.9 Trampa para etileno	41
----------------------------------	----

II.3 Técnicas analíticas

II.3.1 Obtención de estándares de tiofenos	41
--	----

II.3.2 Extracción de tiofenos para análisis	43
---	----

II.3.3 Determinación de tiofenos totales	43
--	----

II.3.4 Determinación de tiofenos individuales	43
---	----

II.3.5 Análisis de etileno por cromatografía de gases	44
---	----

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSION

III.1 Identificación de estándares de tiofenos	61
--	----

III.2 Morfogénesis y producción de tiofenos	62
---	----

III.2.1 Obtención de cultivos transformados de <i>T. erecta</i>	62
--	----

III.2.2 Crecimiento	64
III.2.3 Formación de tiofenos	64
III.3 Transformación y producción de tiofenos en dos especies de <i>Tagetes</i>	65
III.3.1 Cultivo de raíces transformadas de <i>T.patula</i> en medio sólido	65
III.3.2 Obtención de cultivos en medio líquido	65
III.3.3 Crecimiento	65
III.3.4 Formación de tiofenos totales	65
III.3.5 Patrón de tiofenos individuales	67
III.3.6 Liberación de tiofenos al medio de cultivo	68
III.3.7 Estabilidad en el crecimiento y en la producción de tiofenos	68
III.4 Estrategias para aumentar la productividad	70
III.4.1 Adición de NaCl	71
III.4.2 Etileno	71
Adición de ethrel	72
Adición de etileno gaseoso.....	73
III.4.3 Eliminación de etileno a diferentes niveles	74
III.5 Estrategias para aumentar la producción de biomasa	76
III.5.1 Intercambio gaseoso	76
III.6 Comparación de la productividad de raíces de planta y raíces transformadas	77
CAPITULO IV	
CONCLUSIONES	115
CAPITULO V	
BIBLIOGRAFIA	117