



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATAN FACULTAD DE QUIMICA

“ESTUDIO DE LA PRODUCCION DE ALCALOIDES
TOTALES EN UNA LINEA TUMORAL EN
SUSPENSION DE *Catharanthus roseus*, POR
EFFECTO DE UN INDUCTOR FUNGAL”

TESIS

PRESENTADA POR:

Maritza Evelyn de Jesús Molina Pérez

EN SU EXAMEN PROFESIONAL
EN OPCION AL TITULO DE

QUIMICO BIOLOGO BROMATOLOGO

MERIDA, YUCATAN, MEXICO.

1991

BIBLIOTECA

INDICE GENERAL

	PAGINA
INTRODUCCION	1
CAPITULO I. ANTECEDENTES.	
1.1. DESCRIPCION BOTANICA DE <u>Catharanthus roseus</u> .	3
1.1.1. DESCRIPCION GEOGRAFICA.	3
1.1.2. IMPORTANCIA Y NOMENCLATURA DE LA PLANTA.	4
1.2. CULTIVO DE TEJIDOS: TERMINOLOGIA.	5
1.2.1. CULTIVO DE CALLOS.	5
1.2.2. CULTIVO DE TUMORES.	6
1.2.3. CULTIVO DE CELULAS EN SUSPENSION.	6
1.2.3.1. Ventajas esperadas para un cultivo de células sobre uno convencional de plantas.	7
1.3. METABOLISMO SECUNDARIO.	8
1.3.1. ALCALOIDES.	8
1.3.1.1. Propiedades físicas.	10
1.3.1.2. Propiedades químicas.	10
1.3.1.3. Clasificación.	10
1.3.2. METABOLITOS SECUNDARIOS DE CULTIVOS EN SUSPENSION DE <u>C. roseus</u> .	10
1.3.3. INFLUENCIA DE LOS FACTORES AMBIENTALES EN LA ACUMULACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN <u>C. roseus</u> .	12
1.3.3.1. Medio.	12
1.3.3.2. Carbohidratos.	12
1.3.3.3. Nitrógeno.	13
1.3.3.4. Fosfatos.	13
1.3.3.5. Minerales y vitaminas.	14
1.3.3.6. Fitorreguladores.	14

1.3.4. OTROS FACTORES QUE INFLUYEN EN EL METABOLISMO SECUNDARIO.	15
1.3.4.1. Luz.	15
1.3.4.2. Temperatura.	15
1.3.4.3. pH del medio de cultivo.	15
1.3.4.4. Estrés osmótico.	16
1.3.5. ADITIVOS PARA EL MEDIO DE CULTIVO CON EL OBJETIVO DE INCREMENTAR EL RENDIMIENTO DEL PRODUCTO.	16
1.3.5.1. Adición de precursores.	16
1.3.5.2. Inductores.	16
1.4.1. INDUCTORES Y SU MODO DE ACCION.	18
1.4.2. CRITERIOS IMPORTANTES SOBRE LA METODOLOGIA DE INDUCCION.	20
1.4.2.1. Selección del microorganismo.	20
1.4.2.2. Cultivo.	20
1.4.2.3. Inductores y preparación del homogenado.	21
1.4.3. FACTORES INVOLUCRADOS EN LA RESPUESTA DE LA CELULA AL INDUCTOR.	22
1.4.3.1. Especificidad del inductor.	22
1.4.3.2. Concentración del inductor.	23
1.4.3.3. Tiempo de contacto del inductor.	23
1.4.3.4. Importancia de la línea celular.	23
1.4.3.5. Curso temporal de la inducción.	24
1.4.3.6. Estadio de crecimiento del cultivo de células.	25
1.4.3.7. Influencia de los reguladores de crecimiento.	25
1.5. GRUPO <u>Aspergillus fumigatus</u> .	26
1.5.1. CARACTERISTICAS SOBRESALIENTES.	26
1.5.2. CONSIDERACIONES GENERALES.	26

1.6. OBJETIVO GENERAL.	27
1.6.1. OBJETIVOS PARTICULARES.	27
1.6.2. HIPOTESIS.	27
CAPITULO II. MATERIALES Y METODOS.	
2.1. REACTIVOS.	29
2.2. MATERIAL BIOLOGICO.	29
2.3. EQUIPOS.	29
2.4. PREPARACION DE LAS SOLUCIONES CONCENTRADAS DEL MEDIO DE CULTIVO DE PHILLIPS Y COLLINS.	30
2.5. PREPARACION DEL MEDIO PHILLIPS Y COLLINS.	31
2.6. PROPAGACION DEL CULTIVO EN SUSPENSION DE <u>C. roseus</u> (LBAl).	31
2.7. CURVA DE CRECIMIENTO.	31
2.7.1. VIABILIDAD.	31
2.7.2. NUMERO DE CELULAS.	32
2.7.3. PAQUETE CELULAR.	32
2.7.4. PESO FRESCO.	32
2.7.5. PESO SECO.	32
2.8. MANTENIMIENTO DEL HONGO.	33
2.8.1. CRECIMIENTO DEL HONGO.	33
2.8.2. PREPARACION DEL HOMOGENADO DEL HONGO (COSECHA).	33
2.8.2.1. AZUCARES TOTALES. FENOL-SULFURICO.	33
2.9. INDUCCION CON EL HOMOGENADO DEL HONGO.	34
2.10. EXTRACCION Y CUANTIFICACION DE ALCALOIDES TOTALES.	34
2.10.1. ANALISIS DE LOS ALCALOIDES POR CROMATO-GRAFIA DE CAPA DELGADA (TLC).	34

CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSION.

3.1. CARACTERIZACION DE LA LINEA TUMORAL LBA1 DE <i>C. roseus</i> .	36
3.1.1. CRECIMIENTO.	36
3.1.1.1. Viabilidad.	36
3.1.1.2. Número de células.	38
3.1.1.3. Paquete celular.	39
3.1.1.4. Peso fresco y peso seco.	39
3.1.2. PRODUCCION DE ALCALOIDES.	42
3.1.2.1. Análisis de los alcaloides por TLC.	45
3.2. EFECTO DEL HOMOGENADO DE <i>A. fumigatus</i> SOBRE EL CRECIMIENTO Y PRODUCCION DE ALCALOIDES DE LA LINEA TUMORAL LBA1.	46
3.2.1. CUANTIFICACION DE AZUCARES TOTALES DEL HOMOGENADO.	46
3.2.2. EFECTO DEL HOMOGENADO SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CULTIVO TUMORAL.	47
3.2.3. PRODUCTIVIDAD DE ALCALOIDES TOTALES.	49
3.2.3.1. Células.	50
3.2.3.2. Medio líquido.	50
3.2.3.3. Células + medio (productividad total).	52
3.2.3.4. Análisis de los alcaloides totales por TLC.	54
CONCLUSIONES.	59
Apéndice I. Composición del medio de Phillips y Collins.	61
Apéndice II. Curva estándar para la determinación de carbohidratos totales. Se utilizó glucosa como estándar.	62
BIBLIOGRAFIA.	63

RESUMEN

El presente trabajo comprende el estudio de la producción de alcaloides totales en un cultivo tumoral en suspensión de *Catharanthus roseus* (LBA1), bajo efecto de un homogenado de *Aspergillus fumigatus*, como inductor.

Para esto se consideraron 2 parámetros importantes: la edad del cultivo tumoral y la concentración del inductor.

La inducción se realizó en cultivos de 5, 9 y 15 días de edad, con una incubación de 72 horas.

Las concentraciones del homogenado fúngico empleadas fueron 0.6, 1.2 y 1.8 mg/ml. Este homogenado fue seleccionado en base a investigaciones previas realizadas en el CICY.

Los resultados muestran que el patrón de alcaloides de la línea tumoral LBA1 cambió con los diferentes tratamientos del homogenado y que la producción de los mismos, aumentó ligeramente durante la fase estacionaria (día 9) y a una concentración específica del homogenado (1.2 mg/ml).