



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATAN

FACULTAD DE QUIMICA

"Diseño de Estrategias para la Selección
de variantes de interés a partir de
una Línea de Raíces Transformadas
de *Catharanthus roseus*"

TESIS

PRESENTADA POR:

Marina del Pilar Navarrete Loeza

EN SU EXAMEN PROFESIONAL
EN OPCION AL TITULO DE:

QUIMICO BIOLOGO BROMATOLOGO

BIBLIOTECA CICY

MERIDA, YUCATAN, MEXICO

1995

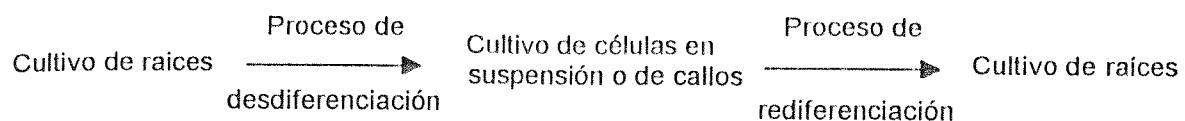
CONTENIDO.

INTRODUCCION	1
Justificación	4
Objetivos	5
I. ANTECEDENTES	6
I.1. Los metabolitos secundarios	6
I.2. Metabolitos secundarios en <i>Catharanthus roseus</i>	7
I.3. Producción de metabolitos secundarios <i>in vitro</i>	7
I.3.1. Sistemas de cultivos de tejidos empleados para la producción de metabolitos secundarios.....	9
I.3.1.1. Cultivo de células en suspensión para la producción de metabolitos secundarios.....	9
I.3.1.2. Cultivo de órganos para la producción de metabolitos secundarios.....	12
I.3.1.3. Producción de alcaloides en cultivos de tejidos de <i>Catharanthus roseus</i>	14
I.3.1.4. Comparación de los sistemas de producción de metabolitos secundarios <i>in vitro</i>	14
II. PARTE EXPERIMENTAL.....	16
II.1. Materiales.....	16
II.1.1. Material biológico.....	16
II.1.2. Reactivos.....	16
II.1.3. Material de vidrio.....	16
II.1.4. Diseño experimental.....	17
II.1.5. Metodología.....	17
II.1.5.1. Inducción de células en suspensión a partir de cultivos de raíces transformadas de <i>Catharanthus roseus</i>	17
II.1.5.2. Rediferenciación de las colonias celulares en raíces.....	18
II.1.5.3. Caracterización de las raíces regeneradas.....	19
II.1.6. Técnicas analíticas.....	19
II.1.6.1. Caracterización del crecimiento.....	19
II.1.6.2. Extracción y cuantificación de alcaloides.....	20

II. RESULTADOS Y DISCUSION.....	21
III.1. Metodología para la obtención de las nuevas líneas de raíces a partir de la línea original (R1/J1).....	21
III.1.1. Experimento 1. Inducción de un cultivo de células en suspensión mediante el uso de reguladores del crecimiento.....	21
III.1.2. Experimento 2. Inducción de callos empleando reguladores del crecimiento.....	24
III.1.3. Experimento 3. Inducción de células en suspensión por efecto de la fuente nitrogenada.....	25
III.2. Caracterización de las nuevas líneas de raíces regeneradas.....	28
III.2.1. Caracterización de la línea original de raíces (R1/J1).....	28
III.2.2. Caracterización de las líneas de raíces de la serie R.....	28
III.2.3. Caracterización de las líneas de raíces de las series RD6, RD25, RC6 y RC36.....	31
III.2.3.1. Caracterización de las líneas de raíces de las series RD6 y RD25.....	31
III.2.3.2. Caracterización de las líneas de raíces de las series RC6 y RC36.....	32
III.2.3.3. Caracterización de las líneas de callos C6 y C36.....	34
III.2.4. Caracterización de las líneas de raíces de las series RN y RN2.....	34
III.2.4.1 Caracterización de las líneas de raíces de la serie RN.....	34
III.2.4.2. Caracterización de las líneas de raíces de la serie RN2.....	35
III.2.4.3. Caracterización de la línea de células en suspensión SN1.....	36
IV. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	37
V. APENDICE.....	40
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	77

RESUMEN

El trabajo que se presenta en esta tesis es el diseño de una metodología para des/rediferenciación de un cultivo de raíces transformadas de *Catharanthus roseus* de acuerdo al siguiente esquema general:



El objetivo de esto, es el establecimiento de un método que permita generar la variabilidad en los cultivos de raíces transformadas, lo que posibilitaría la selección de variantes sobreproductoras de metabolitos secundarios, pero con la posibilidad de mantener después esa característica estable, o sea, generar un cultivo de raíces con características diferentes al cultivo original de raíces.

Se obtuvieron 30 nuevas líneas de raíces a partir de una sola línea. Algunas de estas nuevas líneas presentaron diferencias en sus patrones de crecimiento y de acumulación de alcaloides en comparación con la línea original.

Se seleccionó *Catharanthus roseus*, comúnmente llamada Vicaria o Teresita, como modelo experimental puesto que esta planta produce un amplio espectro de alcaloides de interés farmacéutico, algunos de los cuales se pueden obtener mediante el cultivo de tejidos.