

Índice

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIAS	II
ÍNDICE	III
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE CUADROS	IX
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- ANTECEDENTES	3
2.1.- METIL JASMONATO	3
2.2.- <i>CATHARANTHUS ROSEUS</i>	4
2.2.1.- ALCALOIDES MONOTERPÉN INDÓLICOS	4
2.2.2- CLASIFICACIÓN DE LOS ALCALOIDES	5
2.3.- RAÍCES TRANSFORMADAS	7
2.4.- BIOSÍNTESIS DE ALCALOIDES MONOTERPEN INDOLICOS (AMIs)	8
2.5.- COMPARTAMENTALIZACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LOS ALCALOIDES	9
3.- OBJETIVO GENERAL	10
3.1. – OBJETIVOS PARTICULARES.	10
4.- MATERIALES Y MÉTODOS.	10
4.1.- DISEÑO EXPERIMENTAL.	10
4.2.- MATERIAL BIOLÓGICO	11
4.3.- MANTENIMIENTO DE CULTIVO	11
4.4.- MEDIO DE CULTIVO	11
4.5.- INDUCCIÓN	12
4.6.- DETERMINACIONES ANALÍTICAS	13
4.7.-EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES	14
4.7.1.-Cromatografía de capa delgada	14
4.7.2.- Metodología de extracción	15
4.8.- ACTIVIDAD ENZIMÁTICA	15
4.8.1.- Extracto enzimático	15

4.9.- CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS	16
5.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
5.1.- DOSIS-RESPUESTA	18
5.2.- CURSO TEMPORAL ($10\mu M$)	25
5.3.- CURSO TEMPORAL ($100\mu M$)	30
5.4.- ACTIVIDAD ENZIMÁTICA	35
6.- CONCLUSIONES	37
7.- BIBLIOGRAFÍA	38

1.- Introducción

Se ha propuesto que los inductores aceleran el proceso fisiológico o molecular que provoca la liberación de los alcaloides indólicos (Nef et al., 1991). En las plantas se realizan funciones metabólicas y fisiológicas, respondiendo a ellos con cambios en sus procesos bioquímicos. El uso de inductores puede facilitar el estudio de las rutas de síntesis de los metabolitos secundarios, como la de los alcaloides indólicos, ya que las líneas celulares que sólo producen cantidades traza de estos compuestos pueden ser estimuladas a sintetizar mayores cantidades y además, se puede provocar un aumento en la actividad de las enzimas involucradas en su síntesis (DiCosmo et al., 1987). La adición de efectores externos como homogenados fúngicos, cambio del pH del medio de cultivo, etc., también modifican, y en algunos casos sustancialmente, la biosíntesis de los Alcaloides Monoterpen Indolicos (AMIs) (Godoy-Hernández y Loyola-Vargas, 1991; Godoy-Hernández y Loyola-Vargas, 1997; Godoy-Hernández et al., 2000; Moreno-Valenzuela et al., 1999; Sáenz-Carbonell et al., 1993; Vázquez-Flota et al., 1994; Vázquez-Flota et al., 2000; Vázquez-Flota y Loyola-Vargas, 1994; Zhao et al., 2001).

El término "inductor" es usado para referirse a las moléculas que activan tanto cambios en la expresión genética como en el establecimiento de los mecanismos de resistencia contra situaciones de extremos ambientales, en las plantas ((Cosio et al., 1990; Darvill y Albersheim, 1984). El modo de acción de los inductores ha sido objeto de estudio en los últimos años y se ha encontrado que estos interaccionan con receptores de la membrana plasmática de la célula vegetal y de esta manera desencadenan los mecanismos de transducción de señales que promueven la defensa de las plantas (Cosio et al., 1990; Ebel, 1986)

Catharanthus roseus (L.) G. Don es una planta medicinal de gran interés debido a su riqueza en alcaloides indólicos que presentan notable actividad farmacológica. Los más importantes son los diméricos antitumorales (vincristina y vinblastina), así como los monoméricos antihipertensivos (ajmalicina) y sedantes (serpentina). Desde el punto de vista químico los alcaloides son compuestos que poseen un anillo heterocíclico con nitrógeno en su estructura, el cual es biogénicamente derivado de