

## ÍNDICE

	Página
Resumen	i
Introducción	1
<b>Capítulo 1</b>	<b>3</b>
Antecedentes	3
1.1 Generalidades	3
1.2 Aluminio	3
1.2.1 El aluminio en el suelo	4
1.2.2 Formas químicas del aluminio en función del pH	4
1.2.3 Formas fitotóxicas del aluminio	5
1.3 Suelos ácidos	6
1.4 Fitotoxicidad por aluminio	7
1.4.1 Efecto del aluminio en hojas	8
1.4.2 Efecto en raíces	8
1.4.3 Efecto del aluminio en células en suspensión	10
1.5 Efecto del aluminio en el cultivo de cafeto	10
1.6 Interacción del aluminio con la vía de transducción de señales	11
1.6.1 Mecanismos de toxicidad inducidos por aluminio	13
1.6.1.1 El aluminio en la pared celular	13
1.6.1.2 El aluminio en la membrana plasmática	13
1.7 Fosfolipasa C	14
1.7.1 Isoenzimas de la PLC	15
1.7.2 Características estructurales	16
1.8 PLC en plantas	16
1.9 El cafeto	17
<b>Capítulo 2</b>	<b>20</b>
Objetivo general	20
Objetivos particulares	20
Hipótesis	21
Diseño experimental	22

<b>Capítulo 3</b>	23
Materiales y métodos	23
3.1 Modelo experimental	23
3.2 Metodología	24
3.2.1 Cultivo de células en suspensión de café	24
3.2.2 Preparación del citrato de aluminio	25
3.2.4 Dosis respuesta con diferentes sales de aluminio	26
3.2.5 Curso temporal	27
3.2.6 Extracción de proteínas totales	27
3.2.7 Cuantificación de la proteína total	27
3.2.8 Determinación de la actividad enzimática de la PLC	29
3.2.9 Evaluación del crecimiento celular	30
3.2.10 Medición del pH en el medio de cultivo	31
3.2.11 Interacción del morin con el $\text{Al}^{3+}$ a diferentes pH	31
3.2.12 Medición del $\text{Al}^{3+}$ libre en el medio de cultivo	32
3.2.13 Medición del $\text{Al}^{3+}$ de forma teórica	34
<b>Capítulo 4</b>	35
Resultados y discusión	35
4.1 Efecto del Al sobre el crecimiento celular	35
4.2 Cambios en el pH del medio del medio de cultivo	37
4.2.1 Determinación del pH a tiempos cortos	37
4.2.2 Determinación del pH a tiempos largos	38
4.3 Efecto del Al sobre la actividad de la PLC	40
4.3.1 Efecto del Al a una hora de tratamiento	40
4.3.2 Curva dosis respuesta	42
4.3.3 Dosis respuesta a bajas concentraciones	43
4.3.4 Curso temporal	45
4.4 Cuantificación de Al libre en el medio de cultivo	47
4.4.1 Interacción del morin con el $\text{Al}^{3+}$ a diferentes pH	47
4.4.2 Interacción del morin con el $\text{Al}^{3+}$ utilizando diferentes sales de Al	48
4.4.3 Cuantificación del $\text{Al}^{3+}$ en el medio de cultivo	50

4.4.4 Cuantificación del $\text{Al}^{3+}$ presente en el medio de cultivo de las células	51
4.5 Cuantificación del $\text{Al}^{3+}$ de forma teórica	53
<b>Capítulo 5</b>	56
Conclusiones	56
Perspectivas	58
Apéndice 1	59
Referencias bibliográficas	60

## RESUMEN

En los suelos minerales ácidos el aluminio (Al) es el principal causante de toxicidad para las plantas, esto se debe a que generalmente presentan un pH muy ácido que provoca que el Al se encuentra en su forma química disponible. Las plantas de *Coffea arabica* L. usualmente crecen en suelos que contienen altos niveles de materia orgánica y bajo estas condiciones el Al es tóxico por la naturaleza ácida de los suelos. El principal efecto del Al sobre las plantas es la inhibición del crecimiento de las raíces y en células en suspensión también se conoce que puede tener un efecto inhibitorio en el crecimiento, esto puede ser debido principalmente a un bloqueo en la división celular. Estos efectos también se han relacionado con la vía de transducción de señales de los fosfoinosidos que involucra a la fosfolipasa C (PLC) una enzima importante que está involucrada en la generación de segundos mensajeros a partir de la hidrólisis del fosfatidil inositol 4,5-bisfosfato (PIP<sub>2</sub>) generando inositol 1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>) y diacilglicerol (DAG).

En este trabajo se estudió el efecto de tres sales de Al con diferentes características fisicoquímicas [AlCl<sub>3</sub>, Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> y Al-citrato] sobre las suspensiones celulares de *Coffea arabica* L. Se evaluaron diversas respuestas fisiológicas de estas células en suspensión cuando eran sometidas a diferentes tratamientos con Al, entre estas respuestas está el pH, el crecimiento celular y la actividad de la PLC; también se midió la cantidad de Al<sup>3+</sup> libre presente en el medio de cultivo. Dentro los resultados más relevantes se encuentra el efecto que tuvieron el AlCl<sub>3</sub> y el Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> sobre el crecimiento celular, ya que estas sales inhibieron el crecimiento casi en un 100 % a lo largo de un ciclo de cultivo. También se pudo observar que las tres sales de Al inhiben en un 60 % la actividad enzimática de la PLC. El pH del medio de cultivo no se vió afectado por el efecto de las sales y la cantidad de Al<sup>3+</sup> libre en el medio de cultivo disminuye casi al 50 %. Los resultados generados en este trabajo nos indican que el Al sin importar la forma química en que se encuentra provoca efectos similares sobre el cultivo de células en suspensión.