

CONTENIDO

	Página
INDICE DE CUADROS.....	ix
INDICE DE FIGURAS.....	ix
ABREVIATURAS.....	xi
RESUMEN.....	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 <i>Catharanthus roseus</i>	3
2.1.1 Origen y distribución.....	3
2.1.2 Clasificación taxonómica.....	3
2.1.2.1 Taxonomía.....	3
2.1.2.1 Descripción botánica.....	4
2.2 Raíces transformadas de <i>C. roseus</i>	5
2.3 Interacción de las plantas con el entorno.....	6
2.3.1 Rizósfera.....	7
2.4 Raíces.....	8
2.4.1 Exudados.....	9
2.4.1.1 Interacción de los exudados con otros organismos.....	10
2.5 Proteínas.....	13
2.5.1 Proteínas de defensa.....	14
2.6 Jasmonato de metilo.....	17
2.7 Proteómica.....	18
2.7.1 Separación electroforética de proteínas.....	23
2.7.1.1 Electroforesis en gel de poliacrilamida.....	24
2.7.1.1.1 Electroforesis SDS-PAGE.....	25
III Objetivos.....	28
3.1 General.....	28
3.2 Específicos.....	28
IV HIPÓTESIS.....	30
V MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
5.1 Diseño experimental.....	31
5.2 Material biológico.....	32
5.3 Preparación de medio de cultivo B ₅ (Gamborg et al., 1968).....	32
5.4 Mantenimiento de los cultivos de raíces transformadas.....	33
5.5 Caracterización de raíces transformadas de <i>C. roseus</i>	33

5.5.1 Volumen final del medio de cultivo	34
5.5.2 pH.....	34
5.5.3 Conductividad.....	35
5.5.4 Peso fresco	35
5.5.5 Peso seco.....	35
5.6 Inducción de las raíces con jasmonato de metilo.....	36
5.7 Recolecta del medio de cultivo	36
5.8 Concentración de proteínas secretadas en el medio de cultivo	37
5.8.1 Quitinasas y glucosiladas	37
5.8.2 Doble dimensión.....	37
5.9 Extracción de proteínas de tejido de raíces transformadas	38
5.10 Cuantificación de proteínas.....	39
5.11 Zimografía.....	40
5.11.1 Glucosiladas	40
5.11.2 Quitinasas	41
5.12 Electroforesis de doble dimensión en gel de poliacrilamida.....	42
5.12.1 Primera fase (electroenfoque 1 "D")	42
5.12.2 Segunda fase (electroforesis en gel de poliacrilamida 2 "D")	42
5.12.3 Tercera fase (tinción del gel de poliacrilamida)	43
5.13 Análisis de los geles	44
VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
6.1 Caracterización de cultivo de raíces transformadas de <i>C. roseus</i>	45
6.1.1 pH del medio de cultivo	45
6.1.2 Conductividad eléctrica del medio de cultivo	46
6.1.3 Peso fresco de las raíces transformadas de <i>C. roseus</i>	47
6.1.4 Peso seco de las raíces transformadas de <i>C. roseus</i>	49
6.1.5 Cuantificación de proteínas totales secretadas al medio.....	50
6.2 Cuantificación de proteínas totales secretadas bajo condiciones de inducción con MeJa	51
6.3 Analisis zimográficos	53
6.3.1 Glucosiladas	53
6.3.1 Quitinasas	55
6.4 Análisis de los patrones electroforéticos	57

VI CONCLUSIONES.....	66
VII LITERATURA CITADA.....	67