

## CONTENIDO

|                                                |           |
|------------------------------------------------|-----------|
| <b>INTRODUCCION</b>                            | <b>1</b>  |
| Generalidades                                  | 1         |
| Estrés y Metabolitos Secundarios               | 2         |
| Estrés hídrico y Metabolitos Secundarios       | 3         |
| Estrés hídrico y Alcaloides                    | 4         |
| Estrés y alcaloides en <u>C. roseus</u>        | 5         |
| Otras Respuestas de la Planta a Estrés Hídrico | 6         |
| Ajuste Osmótico                                | 9         |
| Relaciones hídricas, conceptos importantes     | 11        |
| Propiedades del agua y Relaciones Hídricas     | 10        |
| Potencial Hídrico                              | 11        |
| Componentes del Potencial Hídrico              | 13        |
| Contenido relativo de agua (CRA)               | 14        |
| <b>JUSTIFICACION</b>                           | <b>15</b> |
| <b>PARTE EXPERIMENTAL</b>                      | <b>16</b> |
| OBJETIVOS                                      | 16        |
| HIPOTESIS                                      | 16        |
| DISEÑO EXPERIMENTAL                            | 16        |
| MATERIALES Y METODOS                           | 18        |
| Material biológico                             | 18        |
| Condiciones de crecimiento                     | 18        |
| Tratamientos                                   | 19        |
| Tratamiento de estrés hídrico                  | 19        |
| Tratamiento con ABA                            | 20        |
| Tratamiento con PEG                            | 20        |
| Relaciones hídricas                            | 20        |
| Potencial hídrico                              | 20        |
| Potencial osmótico                             | 21        |
| Potencial de turgencia                         | 21        |
| Contenido relativo de agua                     | 21        |
| Ajuste osmótico                                | 22        |
| Comportamiento estomatal                       | 22        |
| Respiración                                    | 22        |
| Fotosíntesis                                   | 23        |
| Alcaloides                                     | 24        |
| Extracción                                     | 24        |
| Cuantificación                                 | 24        |
| Cromatografía de HPLC                          | 25        |
| Proteínas y Compuestos Nitrogenados            | 25        |
| Extracción                                     | 25        |
| Cuantificación de proteína                     | 26        |
| Cuantificación de prolina                      | 26        |
| Cuantificación de aminoácidos totales          | 27        |
| <b>RESULTADOS</b>                              | <b>28</b> |
| Experimento Preliminar                         | 28        |
| Caracterización de Estrés                      | 30        |
| Relaciones hídricas                            | 30        |
| Ajuste osmótico                                | 30        |
| Respiración                                    | 34        |

|                                             |    |
|---------------------------------------------|----|
| Fotosíntesis                                | 34 |
| Proteínas                                   | 34 |
| Prolina y aminoácidos totales               | 37 |
| Contenido de alcaloides                     | 38 |
| Alcaloides de alto y bajo peso molecular    | 39 |
| Distribución en la Planta                   | 42 |
| Efecto de PEG en el contenido de alcaloides | 42 |
| Efecto de ABA en el contenido de alcaloides | 44 |
| DISCUSION                                   | 48 |
| CONCLUSION                                  | 56 |
| BIBLIOGRAFIA                                | 57 |

## RESUMEN

Se ha reportado que diferentes condiciones de estrés pueden promover la acumulación de alcaloides en plantas. Catharanthus roseus produce alcaloides que son utilizados para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer, por lo tanto hay interés en aumentar la producción de sus alcaloides. En este trabajo se reporta el efecto de estrés hídrico en el contenido de alcaloides de plantas de C. roseus. Las plantas se sometieron a déficit hídrico suprimiendo el riego completamente y fueron monitoreadas durante los siguientes 28 días. Para caracterizar el estrés se midieron parámetros fisiológicos y bioquímicos. Los alcaloides fueron extraídos con metanol y se les purificó por medio de partición ácido-base. Fueron analizados por espectrofotometría y por HPLC. Al término del tratamiento el contenido de alcaloides (en base a peso seco) incrementó a más de dos veces en hojas maduras observándose también diferencias en la proporción de alcaloides. Al estudiar el efecto de estrés en otras partes de la planta se encontró que simultáneamente con el incremento en el contenido de alcaloides en hojas ocurre una disminución importante en raíces. Un incremento en el contenido de alcaloides en hojas también puede obtenerse si el tratamiento de déficit hídrico se sustituye con aplicación exógena de ácido abscísico (1mM) en hojas. Los resultados sugieren que el incremento en el contenido de alcaloides de hojas por efecto de estrés hídrico puede estar mediado por ácido abscísico al mismo tiempo que pueda estar ocurriendo una redistribución de los alcaloides de la raíz a otras partes de la planta.