

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DEL APÉNDICE.....	xv
RESUMEN...	xvii
ABSTRACT..	xviii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2 . Biosíntesis de metabolitos secundarios en plantas...	2
2.1.1. Alcaloides.....	3
2.1.2. Alcaloides bencilisoquinolínicos (ABI's)..	5
2.2 <i>Argemone mexicana</i> L.....	7
2.2.1. Descripción biológica y taxonomía.....	7
2.3 Cultivo de Tejidos Vegetales (CTV).....	10
Tipos de cultivos de tejidos vegetales.	10
Cultivo de raíces.....	12
2.4. Cultivo de tejidos transformados.....	13
2.4.1. <i>Agrobacterium</i> como patógeno de plantas.....	14
2.4.2. <i>Agrobacterium</i> en la biotecnología.....	15
2.5. Principales aplicaciones de la transformación mediante <i>Agrobacterium</i>	18
2.5.1. Transformación de plantas.....	18
2.5.2. Transformación genética mediada por <i>Agrobacterium</i> <i>rhizogenes</i>	19
2.6. Producción de metabolitos secundarios en tejidos transformados.	23
2.7. Recapitulación de los antecedentes.....	27

III. OBJETIVOS.	28
3.1. Objetivo general...	28
3.2. Objetivos específicos.	28
IV. HIPÓTESIS.....	29
V. MATERIALES Y MÉTODOS...	30
5.1. Descripción del área de estudio	30
5.2. Estrategia experimental.....	31
5.2.1. Material biológico.....	33
5.2.1.1. Cepas de bacterias	33
5.2.1.2. Materiales vegetales.	34
5.2.2. Procedimientos...	34
5.2.2.1. Obtención y mantenimiento de plántulas de <i>A. mexicana</i> en condiciones de esterilidad	35
5.2.2.2. Infección con <i>Agrobacterium</i>	38
5.2.3. Inducción de un cultivo de raíces normales.	43
5.3. Cuantificación de alcaloides.....	44
5.3.1. Extracción de alcaloides de los tejidos.	44
5.3.2. Extracción de alcaloides liberados al medio de cultivo.	45
5.3.3. Cuantificación de los alcaloides berberina y sanguinarina...	45
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
6.1. Material biológico.....	47
6.1.1. Germinación <i>in vitro</i> de las semillas de <i>A. mexicana</i>	47
6.1.2. Cultivo de plántulas <i>in vitro</i> de <i>A. mexicana</i> .	48
6.2. Transformación genética.....	49
6.2.1. Transformación con <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ...	49
6.2.2. Transformación con <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	51
6.3. Obtención y mantenimiento de cultivos <i>in vitro</i> no transformados de <i>A. mexicana</i> ...	54
6.3.1. Obtención y mantenimiento del cultivo de raíces de <i>A. mexicana</i> .	56

6.4. Cuantificación de alcaloides.	60
6.4.1. Cuantificación de alcaloides (berberina-sanguinarina) en el cultivo de callos <i>in vitro</i> de <i>A. mexicana</i>	60
Cuantificación de alcaloides (berberina-sanguinarina) en el cultivo de brotes normales <i>in vitro</i> de <i>A. mexicana</i>	61
6.4.3. Cuantificación de alcaloides (berberina-sanguinarina) en el cultivo de brotes transformados <i>in vitro</i> de <i>A. mexicana</i>	62
6.4.4. Cuantificación de alcaloides (berberina-sanguinarina) en el cultivo de raíces <i>in vitro</i> de <i>A. mexicana</i>	64
Cuantificación de alcaloides (berberina-sanguinarina) en el medio de cultivo <i>in vitro</i> de raíces de <i>A. mexicana</i>	65
VII. CONCLUSIONES...	67
VIII. LITERATURA CITADA.	69
IX. APÉNDICES.....	75
Apéndice 1. Composición de los diferentes medios de cultivo.	75
Apéndice 2. Estrategias experimentales.	82