



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATAN

FACULTAD DE QUIMICA

OBTENCION Y CARACTERIZACION FITOQUIMICA DE
LINEAS DE RAICES TRANSFORMADAS DE *Catharanthus roseus*.

TESIS

PRESENTADA POR:

Luz María Pacheco Barrera

EN SU EXAMEN PROFESIONAL
EN OPCION AL TITULO DE:

QUIMICO BIOLOGO BROMATOLOGO

MERIDA, YUCATAN, MEXICO.

1992

BIBLIOTECA CICY

I N D I C E

	Pág.
Introducción	1
 CAPITULO I. ANTECEDENTES	
I.1. <u>C. roseus</u>	3
I.2. Raíces y sus usos	4
I.3. Cultivo de tejidos	5
I.3.1. Ventajas del cultivo de tejidos para la obtención de metabolitos secundarios	7
I.3.2. Desventajas del cultivo de tejidos para la obtención de metabolitos secundarios	7
I.4. Raíces peludas o transformadas	7
I.4.1. Métodos para producir raíces transformadas	9
I.4.2. Cultivos de raíces transformadas	10
I.4.3. Productividad de las raíces transformadas	11
I.5. Alcaloides	11
I.5.1. Clasificación de los alcaloides	12
I.5.2. Biosíntesis de alcaloides en <u>C. roseus</u>	13
I.6. Objetivo general	18
I.6.1. Objetivos particulares	18
I.7. Diseño experimental	18
I.8. Hipótesis	18
 CAPITULO II. METODOLOGIA	
II.1. Germinación de semillas	20
II.2. Desinfestación de hojas maduras	21
II.3. Preparación de los medios de cultivo	21
II.4. Establecimiento de los cultivos de raíces transformadas	21
II.5. Manejo de las bacterias para la infección	21
II.6. Transformación	22
II.7. Parámetros de crecimiento	23
II.8. Extracción de los alcaloides	24
II.8.1. Cuantificación de los alcaloides totales	25
II.8.2. Cromatografía en placa fina	25
II.8.3. Cuantificación de ajmalicina	25
II.8.4. Cuantificación de serpentina	26
II.8.5. Estabilidad en la producción de los alcaloides en los cultivos	26
 CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSION	
III.1. Infección	29
III.2. Selección de las raíces transformadas	31
III.3. Caracterización de las líneas de raíces transformadas	31

III.3.1.	Caracterización del crecimiento de la línea LM2	32
III.3.2.	Caracterización del crecimiento de la LM1	32
III.3.3.	Análisis cualitativo de los alcaloides	34
III.3.4.	Alcaloides en la línea LBA9402/LM2	35
III.3.5.	Alcaloides en la línea 1855FD/LM1	36
III.3.6.	Estabilidad en la producción de los alcaloides	37
CONCLUSIONES		56
APENDICE 1		58
APENDICE 2		61
BIBLIOGRAFIA		63

RESUMEN

El presente trabajo comprende la obtención y caracterización de líneas de raíces transformadas, obtenidas mediante la infección de explantes de Catharanthus roseus con diferentes cepas de Agrobacterium rhizogenes. Entre las raíces obtenidas, se seleccionaron 5 líneas, las cuales fueron cultivadas en medio líquido B₅ con 3% de sacarosa. De las líneas obtenidas se caracterizaron dos. Entre las principales características observadas se encuentran las diferencias en las velocidades de crecimiento; la línea LBA9402/LM2 tiene una mayor velocidad de crecimiento que la línea 1855FD/LM1. Se midieron los cambios en la conductividad del medio de cultivo, determinándose que existe una relación muy estrecha entre la conductividad y el aumento en biomasa.

Finalmente se realizó una cuantificación de alcaloides individuales como son la ajmalicina y la serpentina; este último alcaloide se encontró en concentraciones elevadas en las dos líneas estudiadas.