

Título: ESTUDIO DEL EFECTO DE ESTRÉS OXIDATIVO Y DE LOS REGULADORES DEL CRECIMIENTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ALCALOIDES INDÓLICOS EN SUSPENSIONES CELULARES DE CATHARANTHUS ROSEUS (L.)G. DON

Nombre: LEMENAGER HOUDUSSE, DIANE

Universidad: NAVARRA

Departamento: BIOLOGÍA VEGETAL

Fecha de lectura: 18/04/2005

Dirección:

> **Director:** JONE AGUIRREOLEA MORALES

> **Codirector:** MARC RIDEAU

Tribunal:

> **presidente:** MANUEL SANCHEZ DIAZ

> **secretario:** MARIA JESUS LOPEZ ZABALZA

> **vocal:** JUAN CARBONELL GISBERT

> **vocal:** JORGE ARGIBAY

> **vocal:** MARC CLASTRE

Descriptores:

> ALCALOIDES

> HORMONAS

> CULTIVO CELULAR

> BIOLOGIA MOLECULAR

El fichero de tesis no ha sido incorporado al sistema.

Resumen: #TITULO:

ESTUDIO DEL EFECTO DEL ESTRÉS OXIDATIVO y DE LOS REGULADORES DEL CRECIMIENTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ALCALOIDES INDOLICOS EN SUSPENSIONES CELULARES DE CATHARANTHUS ROSEUS (L.)G. DON #RESUMEN:

Debido a la presencia de alcaloides indólicos de valor terapéutico en *Catharanthus roseus*, el cultivo celular de esta especie ha sido intensamente investigado, habiéndose utilizado diferentes estrategias para aumentar su producción, sin embargo, ello requiere un conocimiento en profundidad de las vías biosintéticas, así como de los mecanismos reguladores de su metabolismo, lo cual está aún lejos de ser dilucidado. Trabajos previos realizados con la línea celular C20D de *Catharanthus roseus*. L.(G) Don han demostrado que la producción de alcaloides está modulada de forma importante por los reguladores del crecimiento. Así, la transferencia de estas células desde su medio de mantenimiento (con 2,4-D) a un medio libre de auxina, induce la producción de alcaloides indólicos monoterpenicos (aims). Además, se sabe que la adición de zeatina estimula de forma

importante la acumulación de AAs. Los mecanismos mediante los cuales actúa esta doble señal hormonal no se conocen todavía. Existen evidencias crecientes de que las especies reactivas de oxígeno (ROS) actúan como moléculas señal en las plantas; por otra parte, diferencias en la función de las ROS pueden derivar de la acción de las hormonas, así como de intersecciones entre las diferentes vías de señalización, que activan coordinadamente la expresión génica. Por todo ello, el objetivo de este trabajo ha sido profundizar en el estudio de los mecanismos implicados en la regulación de la biosíntesis de los AAs en suspensiones celulares de *C. roseus*, siguiendo dos enfoques complementarios, hormonal y molecular. Por una parte, se ha investigado el efecto del estrés oxidativo y de los reguladores del crecimiento sobre la producción de alcaloides mediada, tanto por la eliminación del 2,4-D, como por la adición de zeatina al medio de cultivo. En este sentido, se han determinado las actividades enzimáticas más importantes del sistema antioxidante de protección, así como el efecto de diversos oxidantes y antioxidantes sobre la acumulación de alcaloides. Además, se ha evaluado la influencia de determinados reguladores del crecimiento, solos o en interacción, sobre la acumulación de alcaloides. Los resultados ponen de manifiesto la importancia del estado redox de las células en la regulación de la producción de alcaloides. Por otra parte, se han estudiado posibles marcadores moleculares de la producción de alcaloides. En este sentido, en primer lugar, se ha utilizado una estrategia basada en PCR para caracterizar el ADNc que codifica la geranyl di fosfato sintasa (CrGPS) en *C. roseus*, cuya expresión no se correlacionó con la producción de alcaloides. En segundo lugar, se ha identificado, por electroforesis bidimensional en gel de poliacrilamida, una proteína CrPS (proteína S de *C. roseus*), cuyo ADNc reveló que es miembro de la super familia α -hidrolasa. Mediante Northern blot se confirmó que su expresión se correlaciona con la producción de alcaloides, sugiriéndose la implicación de dicha proteína en la vía de transducción de la señal que conduce a la producción de AAs.