

Obtención de metabolitos secundarios a partir de raíces transformadas

por Héctor E. Flores,¹ Teresa Ayora,² Marcela Méndez² y Víctor M. Loyola Vargas²

En el presente artículo se analizan las diferentes estrategias y opciones que plantea el uso de las raíces vegetales transformadas mediante bacterias para obtener productos naturales y, particularmente, metabolitos secundarios a gran escala

Las plantas superiores son una fuente importante de diversos productos para la industria química, tales como los saborizantes, las fragancias, los pesticidas y los fármacos (véase figura 1); tanto que en la actualidad el 25% de las fórmulas farmacéuticas comerciales contienen por lo menos un producto obtenido de dichas plantas. Muchos de estos compuestos son derivados de especies tropicales y algunos de ellos, como los denominados metabolitos secundarios, tienen un costo muy alto, que oscila de unos dólares (como en el caso de la codeína, un sedante, o el insecticida piretrina, por ejemplo) a varios miles de dólares por kilogramo (como en el caso de la vinblastina, un medicamento usado en el tratamiento contra la leucemia, cuyo valor es de 6 000 dólares por gramo). En Estados Unidos el mercado para los fármacos obtenidos de plantas alcanza los 9 000 millones de dólares y el mercado mundial para los saborizantes, las fragancias y los agroquímicos también es del orden de miles de millones de dólares.

Los metabolitos secundarios son com-

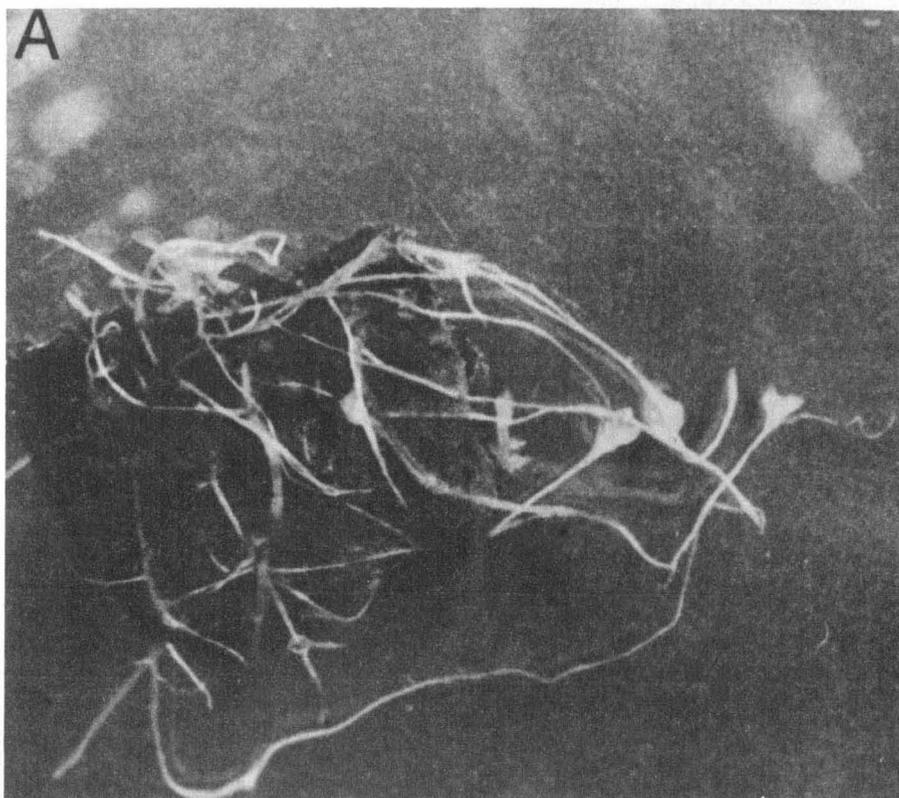


Foto A. Raíz transformada de papa

1. Biotechnology Institute, Pennsylvania State University University Park, PA 16802, EE.UU.
2. Centro de Investigación Científica de Yucatán, División de Biología, Depto. de Bioquímica, Apdo. Postal 87, 97310, Cordemex, Yucatán, México.

puestos producidos por plantas y microorganismos, cuya función en el metabolismo es desconocida. La compleja estructura de la mayor parte de ellos hace que, a pesar de los avances tecnológicos, su síntesis química sea todavía

incosteable, por lo que se estima que muchos de ellos continuarán obteniéndose a partir de plantas durante algún tiempo. Es probable, además, que en el mediano y en el corto plazos el desarrollo de nuevas tecnologías para el creci-

miento de cultivos de tejidos vegetales a gran escala para la obtención de metabolitos secundarios, por un lado, y el descubrimiento de nuevos compuestos biológicamente activos a partir de especies vegetales aún no exploradas, por otro lado, influyen notablemente en el desarrollo de la industria química basada en productos naturales. De aquí que sea necesario, primero, incrementar artificialmente la producción de los compuestos vegetales por encima de los niveles alcanzados por las plantas en condiciones naturales y, en segundo lugar, entender y preservar el inventario químico de las plantas superiores, especialmente el de los bosques tropicales, antes de que éstas se pierdan para siempre.

El uso de las plantas como materia prima para la obtención de metabolitos secundarios se remonta a épocas en las que el hombre, empujado quizá por la urgencia de poner remedio a sus males, dirigió su atención al mundo vegetal, que le proporcionaba alimentación, materiales para construir su vivienda y medios para prevenir y tratar enfermedades. Sin embargo, no fue sino hasta hace dos decenios que se propuso el empleo de cultivos de tejidos vegetales para la obtención a gran escala de metabolitos secundarios, como alcaloides morfínicos, glucósidos cardiacos y aceites esenciales, entre otros; hasta la fecha sólo se ha podido obtener comercialmente un compuesto con esta metodología: la shikonina.

El uso del cultivo de tejidos vegetales (CTV) para la obtención de metabolitos secundarios

En el decenio de los cincuenta, con el desarrollo de los métodos para cultivar células en suspensión, se contempló la posibilidad de usar células vegetales para producir metabolitos de interés comercial, de la misma manera en que las fermentaciones microbianas son aprovechadas para elaborar aminoácidos y antibióticos. En los últimos años, se han hecho considerables progresos en esta área en laboratorios de Japón, Alemania, Canadá y, en menor escala, Estados Unidos e Inglaterra.¹⁻³ Este esfuerzo llevó a la comercialización, en Japón,

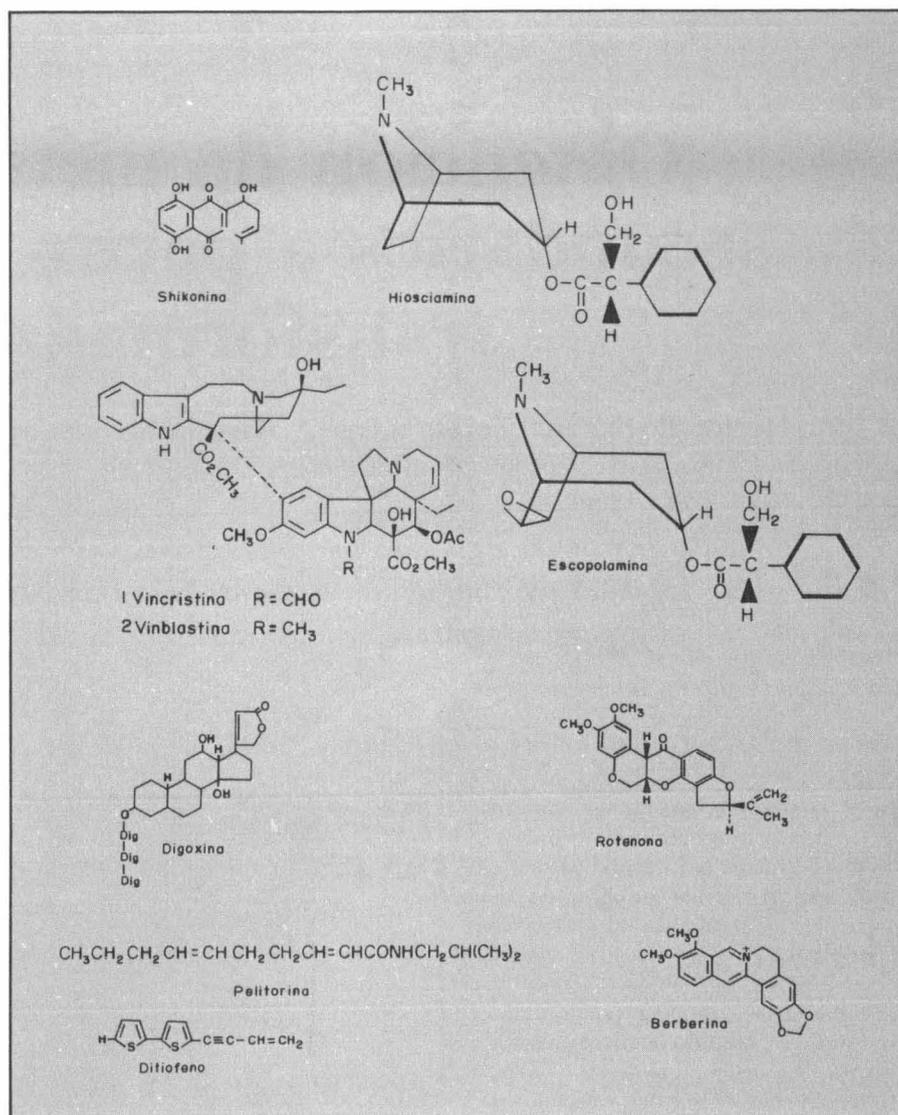


Figura 1. Estructuras químicas de varios productos naturales determinados en plantas

del primer compuesto producido en cultivo de tejidos vegetales: la shikonina. Las shikoninas son una familia de antraquinonas usadas extensamente en Japón como colorantes y por sus propiedades antiinflamatorias y antibacterianas; se obtienen de las raíces de *Lithospermum erythrorizon*, en las que se acumulan hasta formar el 2% del peso seco. Sin embargo, para alcanzar estos niveles, la planta necesita crecer durante varios años. Con base en un informe preliminar según el cual los cultivos de callos obtenidos de raíces de *Lithospermum erythrorizon* producían shikonina, Fujita y sus colaboradores⁴ seleccionaron una línea altamente productora y desarrollaron una metodología de dos etapas para el crecimiento y la producción de shikonina, que permite aumentar el rendimiento de 0.4 a

23% con base en peso seco.⁵ En un periodo de 23 días de fermentación las células crecidas en un reactor de 750 litros acumulan 23% de su peso seco como shikoninas, por lo que el cultivo de células de *Lithospermum erythrorizon* se ha convertido en la mayor fuente comercial de estos compuestos.⁶

Desafortunadamente, el ejemplo anterior no puede aplicarse a todas las especies. Si bien las líneas celulares seleccionadas acumulan diez veces más shikonina que las raíces de *L. erythrorizon*, este logro fue el resultado de una búsqueda sistemática, pero empírica, para optimizar las condiciones de síntesis de aquel compuesto.

Se conocen varios casos de cultivos de tejidos vegetales que producen metabolitos secundarios en cantidades similares o mayores que los de las plantas comple-

tas⁷ (véase cuadro 1). No obstante, la mayor parte de esos sistemas tienen un valor comercial limitado, o bien no son competitivos con otras metodologías existentes. Farmoquímicos de gran importancia como los alcaloides morfínicos, los glucósidos cardíacos, los aceites esenciales o los pesticidas naturales aún no pueden ser producidos por cultivo de tejidos vegetales en suspensión en niveles que se aproximen a los de las plantas. Uno de nuestros grupos¹ ha sugerido que existen por lo menos dos razones para esta situación: primero, con pocas excepciones, nuestro conocimiento de la biología de la mayor parte de los grupos de metabolitos secundarios es extremadamente limitado, y segundo, por lo menos en algunos casos, los sistemas experimentales usados para su estudio no han sido los más apropiados.

En la actualidad se acepta que la expresión de las vías de síntesis de los metabolitos secundarios en las plantas generalmente requiere que las células se diferencien en órganos. El crecimiento de los cultivos de tejidos vegetales, formados por células desorganizadas, casi siempre es incompatible con la expresión de las vías de síntesis de dichos metabolitos.^{4, 8, 9} Puesto que los productos secundarios se sintetizan y se encuentran en tejidos específicos en la planta completa,¹⁰ en etapas particulares de su desarrollo, no es de sorprender que las células indiferenciadas no los produzcan. Aun en los cultivos que generan metabolitos secundarios a niveles mayores que los de la planta completa, la síntesis se lleva a cabo en la fase estacionaria; es decir, cuando el cultivo ha dejado de crecer,¹¹ o cuando las células son transferidas de un medio de crecimiento a otro de producción.¹²⁻¹⁴ Esto último invariablemente ocasiona una drástica disminución en la velocidad de crecimiento.

Lindsey y Yeoman¹⁵ han demostrado claramente, en células de *Datura stramonium*, que la formación de alcaloides es inversamente proporcional a la velocidad de crecimiento de los callos. También se ha observado que la síntesis de metabolitos secundarios empieza cuando una estructura desorganizada es inducida a sufrir organogénesis o embriogénesis.¹⁶ Los callos indiferenciados de *Atropa belladonna*, por ejemplo, no producen el alcaloide hiosciamina; pero cuando se forman raíces reaparece la

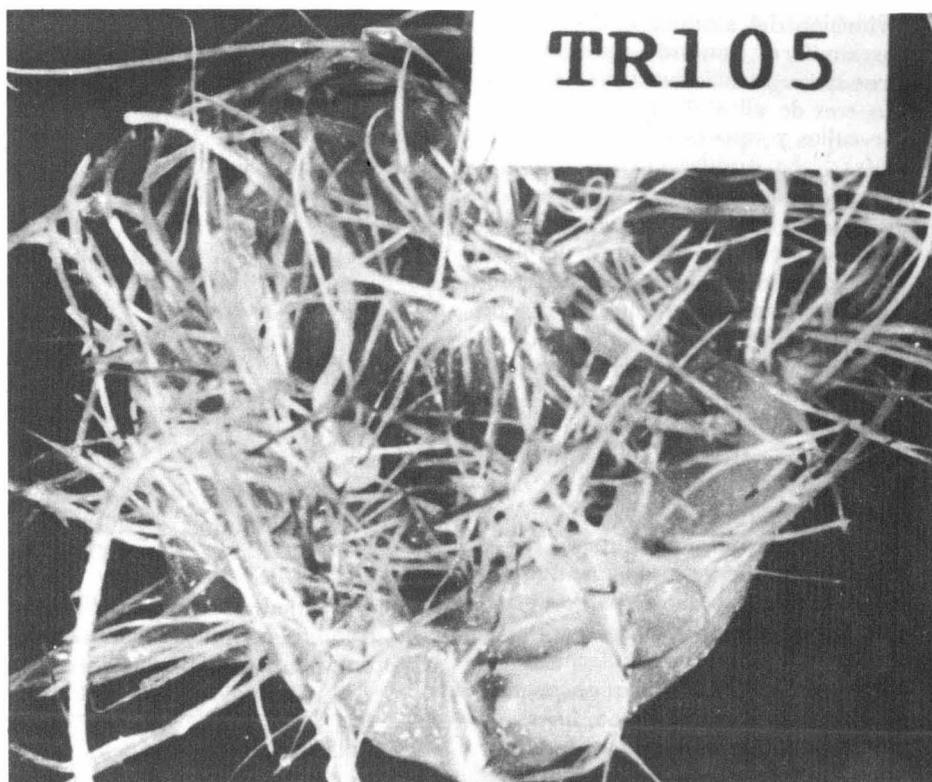


Foto B. Raíz transformada de zanahoria

Metabolitos secundarios obtenidos en cultivo de tejidos vegetales en igual o mayor concentración que en la planta

Compuesto	Planta
Acido rosmarínico	<i>Coleus blumii</i> ^{13,14}
Ajmalicina y Serpentina	<i>Catharanthus roseus</i> ^{13,14}
Antraquinona	<i>Morinda citrifolia</i> ^{62,63} <i>Cassia tara</i>
Atropina y Escopolamina	<i>Atropa belladonna</i> ⁴²
Benzilsoquinoleína	<i>Coptis japonica</i> ⁶⁴
Betalaína	<i>Beta vulgaris</i> ⁴⁴
Cinamoil putrescina	<i>Nicotiana tabacum</i> ⁷
Diosgenina	<i>Dioscorea deltoidea</i> ⁶⁵
Nicotina	<i>Nicotiana rustica</i> ⁴⁴
Shikonina	<i>Lithospermum erythrorhizon</i> ¹
Tebaína	<i>Papaver bracteatum</i> ⁶³
Ubiquinona-10	<i>Nicotiana tabacum</i> ⁶⁶
Vindolina y Catarantina	<i>Catharanthus roseus</i> ⁶⁷

Cuadro 1

formación del alcaloide.^{17, 18} Resultados similares han sido obtenidos en otros casos. A continuación se mencionan tres de ellos. El sistema formado por callos y raíces de *Duboisia myopoides*,¹⁹ ha podido correlacionar la diferenciación de raíces con la presencia de la atropina estearasa, una enzima que interviene en la síntesis del alcaloide atropina. Los glucósidos cardiacos de *Digitalis* sp. son producidos cuando los callos son inducidos a diferenciarse en embriones mediante un tratamiento con reguladores del crecimiento.¹⁶ Resultados similares se han obtenido para la síntesis de antocianinas durante la inducción de la embriogénesis en la zanahoria.²⁰

La acumulación de gran parte de los metabolitos secundarios, producidos por las plantas superiores, parece ser regulada durante el desarrollo y puede responder a señales tanto internas como externas. Por lo tanto, no es de sorprender la limitada capacidad de síntesis de metabolitos secundarios mostrada por los cultivos de tejidos vegetales desdiferenciados. Debido a lo anterior, Flores y sus colaboradores han sugerido que los cultivos organizados que crecen en forma continua deberán proporcionar nuevos sistemas experimentales para el estudio del metabolismo secundario, en los que pueda unirse la diferenciación morfológica con la diferenciación bioquímica.^{1, 21} Además, esos cultivos por

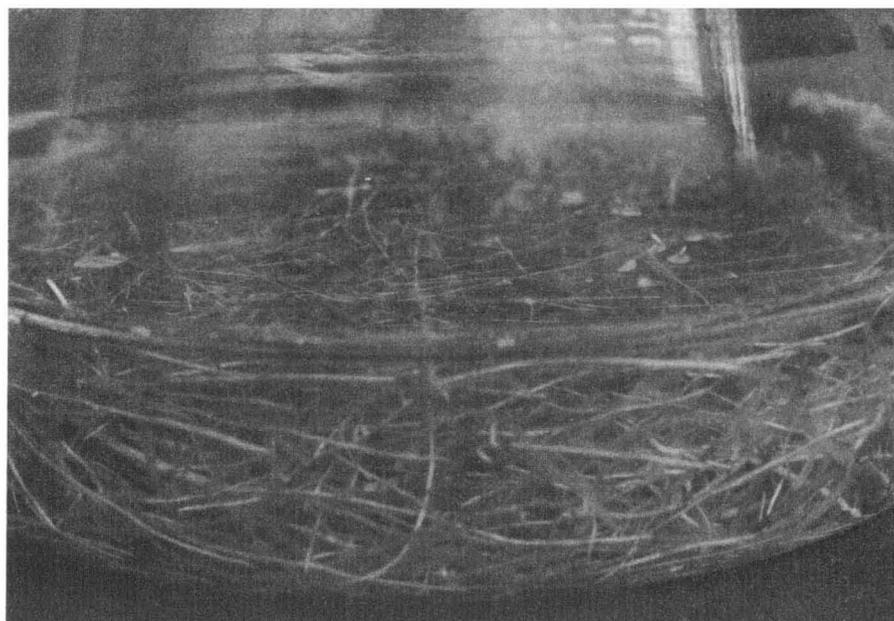


Foto C. Raíz transformada de *Datura stramonium*

sí mismos pueden ser potencialmente útiles como fuentes comerciales de nuevos productos naturales.

Usos de las raíces

Históricamente las raíces han sido una fuente económicamente viable en la alimentación. Las papas y la yuca se consumen en muchas partes del mundo y todos estamos familiarizados con vegetales como las zanahorias, los rábanos, los betabeles, la remolacha y los nabos. Otros usos de las raíces, practicados en

la antigüedad, son mucho menos apreciados hoy en día. Las propiedades medicinales de las raíces de gentiana se conocen desde los tiempos de Plinio, y las raíces de *Valeriana* sp. se usaban, antes de la era cristiana, como estimulantes en el tratamiento de desórdenes nerviosos.¹ Ya en nuestro siglo, la valeriana se utilizó durante la primera Guerra Mundial para tratar la neurosis de guerra de los soldados.^{1, 21} Los indios tupi del Brasil cuentan con un amplio repertorio medicinal, basado principalmente en el uso de raíces; una de las más valiosas es la *Cephaelis ipecahuanha*, un poderoso emético.^{1, 21} Otros muchos usos tradicionales de las raíces se encuentran descritos en las farmacopeas chinas, japonesas y mayas,^{22, 23} y su uso ha llegado hasta nuestros días entre los nativos. Otros compuestos que se encuentran en las raíces son los ginsinólidos, extraídos de *Panax quiquefolium*; el insecticida rotenona, obtenido de *Derris elliptica*; los aceites esenciales del sándalo, y los principios edulcorantes del anís (véase cuadro 2).

Los ejemplos anteriores intentan mostrar que las raíces tienen un amplio potencial bioquímico que aún no ha sido estudiado y aprovechado del todo. Es sorprendente la poca atención que se ha dado a la biosíntesis de los compuestos que se acumulan en las raíces, en comparación con aquéllos que se acumulan en otros órganos de la planta. Una razón de esto puede ser el que las raíces están enterradas en el suelo; en general, se piensa que la raíz es simplemente un mecanismo de anclaje y el si-

Productos naturales de interés comercial sintetizados en las raíces²¹

Compuesto	Uso	Fuente
Hiosciamina	Sedante	Solanaceae
Escopolamina	Sedante	Solanaceae
Nicotina	Insecticida	<i>Nicotiana tabacum</i>
Shikonina	Antiinflamatorio	<i>Lithospermum erythrorhizon</i>
Rotenona	Insecticida	<i>Derris elliptica</i>
Pelitorina	Insecticida	<i>Anacyclus pyrethrum</i>
Poliacetilenos	Nematicidas	Compositae
Lactonas sesquiterpénicas	Antitumorales	Compositae
Aceites esenciales	Fragancias	<i>Santalum album</i>
Ginsenoides	Estimulantes	<i>Panax quinquefolium</i> <i>Panax ginseng</i>
Sanguinarina	Enfermedades periodontales	<i>Sanguinaria canadensis</i> <i>Papaver eschscholtzia</i>

Cuadro 2

tio por el cual la planta toma agua y nutrientes. Otra razón importante podría ser la falta de un sistema experimental apropiado para el estudio de la fisiología y la bioquímica de las raíces.¹

El primer informe acerca de la contribución significativa de las raíces al metabolismo secundario de la planta completa, fue presentado por Dawson en 1941.²⁴ En una serie de experimentos de injertos entre tabaco y jitomate, ahora clásicos, demostró que las raíces eran, si no el único, sí el principal sitio de síntesis del alcaloide nicotina. Experimentos del mismo tipo, realizados más tarde, sugirieron que los alcaloides derivados del tropano, determinados en varias especies de Solanaceae, también son sintetizados en las raíces.²⁵

Los cultivos de raíces como sistema experimental

En 1934, White estableció un cultivo de raíces de jitomate, capaz de crecer indefinidamente en un medio que contenía sales minerales, sacarosa y extracto de levadura. El cultivo original establecido por White creció por más de 25 años y fue, de hecho, el primer cultivo de órganos vegetales. Subsecuentemente se han establecido diversos cultivos de raíces, a partir de gran número de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas, los cuales se han utilizado para estudios de nutrición mineral, metabolismo nitrogenado, acción de reguladores del crecimiento y desarrollo de raíces.²⁶

Poco tiempo después del informe de White,²⁷ Dawson²⁴ estableció un cultivo de raíces de tabaco, y logró demostrar, de manera concluyente, que éstas sintetizaban nicotina. Más tarde se observó que el aumento en los niveles de nicotina en las raíces en cultivo de tabaco se presentaba en forma paralela al crecimiento de aquéllas, medido como longitud de las raíces, número de ramificaciones o aumento en el peso seco.²⁷ Este hecho puso de manifiesto que, en órganos aislados, el crecimiento y la expresión de las vías del metabolismo secundario sí son compatibles.

No sólo los cultivos de raíces de tabaco producen metabolitos secundarios; también los cultivos de raíces de *Hyoscyamus niger* sintetizan un metabolito se-

cundario, la hiosciamina.²⁸ Desafortunadamente, cuando se dispuso, a finales de los años cincuenta, de sistemas de callos y cultivos en suspensión con rápido crecimiento, se dejaron de utilizar las raíces como modelos para estudios fisiológicos y bioquímicos, debido a su lenta velocidad de crecimiento *in vitro*. De esta manera, los callos y los cultivos en suspensión se convirtieron en modelos para la mayor parte de los estudios del metabolismo secundario.^{3,8,9} No obstante, recientemente se ha vuelto al uso de cultivos de raíces.²⁹⁻³²

Metabolismo secundario en raíces transformadas

La enfermedad de las raíces peludas (*hairy roots*), causada por la bacteria *Agrobacterium rhizogenes*, afecta a una amplia variedad de plantas. Hasta la fecha, se han transformado, y cultivado *in*

vitro, las raíces obtenidas de más de 50 especies de dicotiledóneas,³³ y de algunas monocotiledóneas.³⁴ Al igual que en la infección producida por *A. tumefaciens*, la expresión fenotípica es precedida por la integración estable de una porción del plásmido Ri (de sus siglas en inglés, *root-inducing*) en el genoma de la planta³⁵⁻³⁷ y, a diferencia de los tumores producidos por *A. tumefaciens*, las células transformadas mediante *A. rhizogenes* son capaces de diferenciar brotes espontáneamente, cuando se transfieren a un medio sólido.^{35, 38, 39}

Los genes que se encuentran en el ADN-RiT aparentemente controlan, entre otras cosas, el balance endógeno de reguladores del crecimiento producidos por las células transformadas, de tal manera que determinan la proliferación de raíces adventicias de rápido crecimiento en el sitio donde se produce la infección de la bacteria (véase figura 2). Una situación similar se produce con la mutante citocinina negativa de *A. tume-*

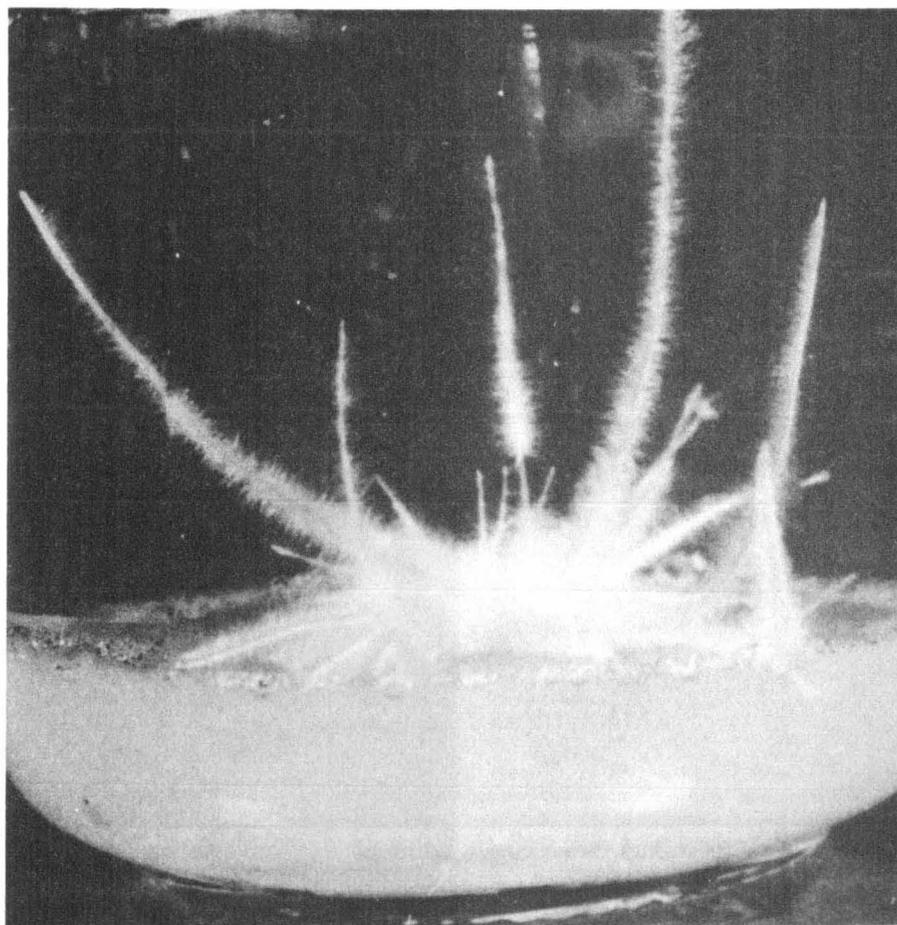


Foto D. Raíz transformada de *Datura stramonium*

faciens, la cual produce tumores con morfología de raíz (datos no publicados de Robert y otros). Las raíces peludas así producidas pueden cultivarse asépticamente después de haber sido tratadas con ciertos antibióticos, como la carbenicilina, que eliminan el exceso de bacterias. El fenotipo de raíces peludas es estable en cultivo, y éstas crecen mucho más rápido que las normales.

Con base en las informaciones anteriores, el grupo de investigadores dirigido por el doctor Flores, de la Universidad de Pensilvania, EE.UU., decidió utilizar el sistema mencionado para el estudio del metabolismo secundario.⁴⁰ Los primeros experimentos se hicieron

con especies de la familia de las Solanaceae, productoras de los alcaloides hiosciamina y escopolamina; se obtuvieron cerca de 20 clonas de raíces peludas de *Hyoscyamus muticus*, todas ellas con un crecimiento muy vigoroso, mayor en todos los casos al de las raíces sin transformar. Las raíces transformadas produjeron los alcaloides derivados del tropano en cantidades iguales a las de las plantas completas o a la de los cultivos de raíces normales. Además, dos clonas seleccionadas, de entre las 20 originales, han mantenido ambas características después de más de 40 transferencias mensuales.^{1, 21, 38, 40} La producción de alcaloides disminuye drásticamente cuando

a partir de las raíces se forman callos, pero reaparece cuando se permite que las raíces vuelvan a rediferenciarse.²¹

Actualmente, estos resultados han sido ampliados a otros géneros, como *Datura*,⁴¹⁻⁴³ *Nicotiana*,^{40, 44-47} *Solanum*,^{48,49} *Beta*,⁴⁴ *Cinchona*,⁴⁸ *Scopolia*,^{50, 51} *Atropa*,^{42, 52, 53} *Tagetes*,⁵⁰ *Ambrosia*,⁵⁰ *Bidens*,⁵⁰ *Carthamus*,⁵⁰ *Rudbeckia*,⁵⁰ *Glycyrrhiza*,⁵⁰ *Sparticum*,⁴⁷ *Chaenactis*,⁵⁴ *Panax*,⁵⁵ *Duboisia*⁵⁶ y *Catharanthus*⁵⁷ (véase fotos A, B, C, D, E y F).

Lo más característico de estas raíces peludas es su potencial para la producción de biomasa. Comenzando con un inóculo de 2 a 4 mg (1 ó 2 puntas de raíz) una clona típica de *H. muticus*, que crece en cultivo en lote por un periodo de tres semanas, muestra un aumento de 2 500 a 5 000 veces en su biomasa.³⁸ Este es un crecimiento aún mayor que el de los cultivos en suspensión con mayor velocidad de crecimiento.⁵⁸ Otro hecho muy importante es que la producción de alcaloides es muy estable, aun después de muchas transferencias,¹ lo que las convierte en una herramienta muy útil para estudios fisiológicos y bioquímicos en relación con los metabolitos secundarios. Un tercer aspecto importante es que algunos cultivos de raíces peludas excretan al medio los metabolitos que están siendo sintetizados, como la *Nicotiana rustica*.⁴⁴ Algunas de las clonas establecidas con esta metodología producen una mayor cantidad de metabolitos secundarios que la planta completa. Las raíces de *Scopolia japonica* transformadas con *A. rhizogenes*⁵¹ mostraron una amplia variedad de fenotipos, con velocidades de crecimiento y un contenido de alcaloides característicos. Una clona acumuló escopolamina hasta el nivel de 0.5% (peso seco), en tanto que otra acumuló hiosciamina al nivel de 1.3% (peso seco). Estos resultados sugieren que es posible buscar, en poblaciones silvestres, la variabilidad natural en la producción de metabolitos secundarios y recuperar las clonas altamente productivas mediante cultivos estables de crecimiento rápido.

Los cultivos de raíces normales de varias especies de *Hyoscyamus* también producen alcaloides derivados del tropano.³⁰ Dichos cultivos muestran un aumento de dos a seis veces en el peso fresco, en un periodo de ocho días y acumulan hiosciamina y escopolamina en el intervalo de 0.04 a 1.1% y de 0.06

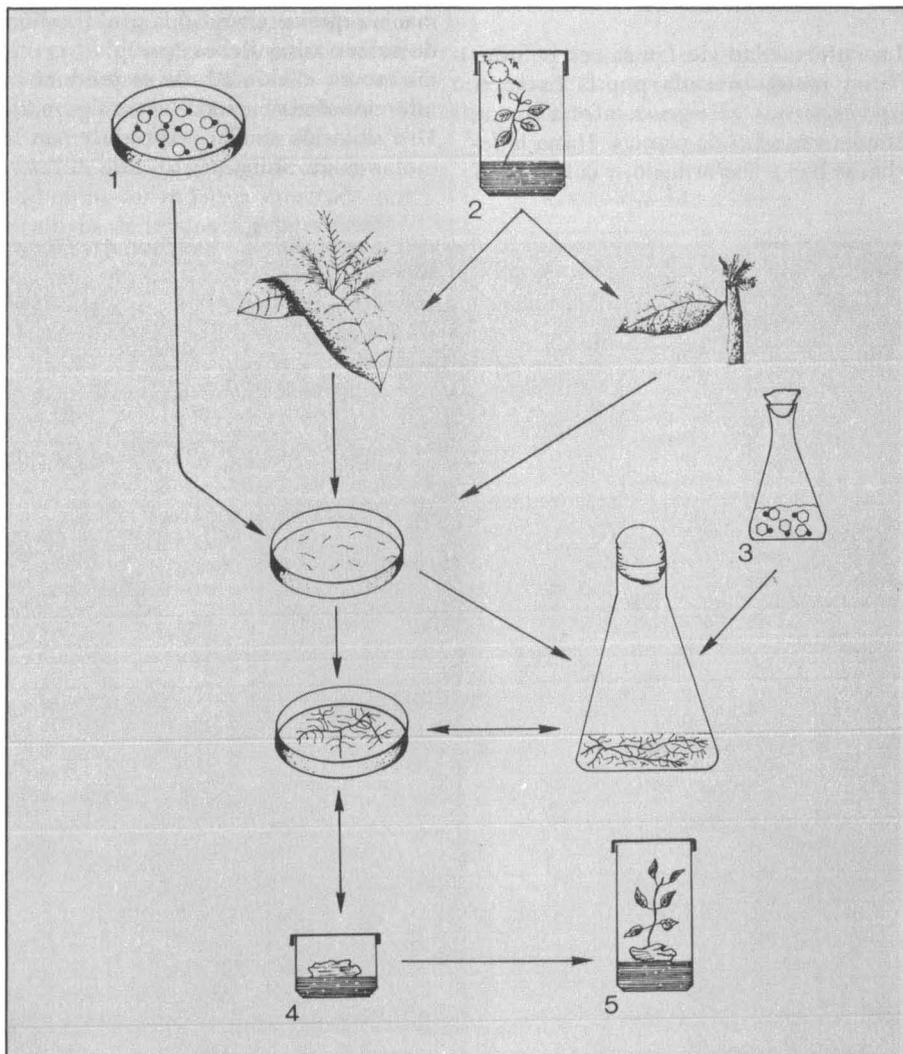


Figura 2. Establecimiento de un cultivo de raíces transformadas. 1. Protoplastos cultivados *in vitro* y creciendo bajo condiciones estériles. 2. Plantulitas obtenidas en condiciones asépticas, o cultivos de células en suspensión son inoculados con *Agrobacterium rhizogenes*. Las raíces obtenidas se pueden desdiferenciar a callo (4) o rediferenciar a planta(5)

a 0.3% (peso seco), respectivamente. El tratamiento con auxinas estimula el crecimiento de raíces de *Hyoscyamus albus* cultivadas *in vitro*, pero produce una marcada disminución en el contenido de los alcaloides. Esto contrasta con los estudios descritos anteriormente, los cuales muestran que las raíces peludas pueden producir altos niveles de alcaloides derivados del tropano, mientras crecen, por lo menos, a un orden de magnitud mayor que las raíces normales. Sin embargo, no debe abandonarse el uso de los modelos con raíces sin transformar, ya que pueden ser útiles para la búsqueda de líneas sobreproductoras o de nuevos metabolitos.

Los resultados de los estudios, detallados en los párrafos anteriores, indican claramente que los cultivos de raíces son sistemas experimentales útiles para el estudio de los productos naturales. Si éstos pueden llegar a convertirse en fuentes comerciales de metabolitos secundarios dependerá de los siguientes factores: 1) del desarrollo de tecnologías para cultivar células vegetales a gran escala en fermentadores y la recuperación de los productos; 2) del avance en el conocimiento de las señales que estimulan la producción de los compuestos a muy alto nivel (arriba del 10% en peso seco), y 3) de la identificación en las raíces de compuestos de gran valor. Estas condiciones pueden reunirse en los próximos años. Actualmente, comienzan a explorarse; por ejemplo, Rhodes y sus colaboradores⁴⁶ informaron en 1986 acerca de la producción de nicotina en raíces peludas de *Nicotiana rustica* crecidas en un sistema de dos etapas: lote-flujo continuo. Su cultivo mostró un rápido crecimiento, una alta densidad final y liberó la mayor parte de la nicotina en el medio. Más recientemente se desarrolló un prototipo para un reactor a gran escala, en el cual las raíces peludas de *Hyoscyamus muticus* han sido crecidas a altas densidades en una columna de burbujeo de 9 litros (datos no publicados de Hjortso y Flores). Nuestro grupo ha desarrollado recientemente una metodología para crecer los cultivos de raíces transformadas de *Datura stramonium* en un fermentador de 14 litros (datos no publicados de Ayora y otros). Los resultados obtenidos sugieren que los cultivos de raíces afectivamente pueden ser crecidos a gran escala.

Foto E. Raíz transformada de *Hyoscyamus niger*



Las raíces son mantenidas rutinariamente en la oscuridad, ya que nuestro grupo⁴⁹ (datos no publicados de Maldonado y Loyola-Vargas), ha observado que cuando las raíces peludas de *Bidens sulphureus* y de *Tagetes* o de *Datura stramonium* son cultivadas en condiciones de luz, se ponen verdes. La velocidad de crecimiento y el rendimiento final de las raíces peludas, tanto de *Bidens sulphureus* como de *Tagetes*, en la luz es consistentemente más elevado que el de las que han crecido en la oscuridad, lo que sugiere que la fotosíntesis podría estar contribuyendo de manera significativa al crecimiento de las raíces peludas verdes. Estas raíces verdes tienen una anatomía normal, cloroplastos en las células corticales, fijación del CO₂ dependiente de la luz y niveles de clorofila y actividad de ribulosa 1, 5-bifosfato carboxilasa, comparables a los de las hojas,⁴⁹ (datos no publicados de Flores). Estos hechos sugieren la posibilidad de que las raíces en cultivo tengan un potencial que normalmente no tienen en la planta, ya que varias vías de síntesis de metabolitos secundarios están asociadas con los cloroplastos, como lo sugiere la síntesis de serpentina en células de *Catharanthus roseus* transformadas con *A. tumefaciens* (datos no publicados de Monteforte y otros). Las raíces fotosintéticas de las diferentes especies podrían expresar un nuevo patrón de metabolitos secundarios, hasta ahora desconocido.

Recientemente se desarrolló una

nueva estrategia para estimular la síntesis de productos naturales en los cultivos de células vegetales. Se ha demostrado que los inductores fúngicos (*elicitors*, en inglés) producen acumulación de fitoalexinas, y de otros compuestos como el alcaloide sanguinarina en *Papaver* sp.,⁵⁹ de isoflavonoides en *Vigna angularis*,⁶⁰ y de otros muchos metabolitos⁶¹ (Godoy y Loyola-Vargas, datos no publicados). Resultados preliminares obtenidos en nuestros laboratorios, indican que esta estrategia también puede ser utilizada en la inducción de metabolitos secundarios en las raíces peludas.

En resumen, el uso de los cultivos de raíces vegetales transformadas promete hacer de este sistema una poderosa herramienta en la biotecnología vegetal, como modelo experimental para el estudio de la síntesis de los metabolitos secundarios y, en el futuro, para la obtención comercial de metabolitos secundarios. ●

REFERENCIAS

1. Flores H., M. W. Hoy y J. J. Pickard, *Trends Biotechnol.*, 1987, núm. 5, pp. 64-69.
2. Misawa, M. y T. Suzuki, *Appl. Biochem. Biotech.*, 1982, núm. 7, pp. 205-216.
3. Neumann, K. H., W. Barz y E. Reinhard, *Primary and Secondary Metabolism of Plant Cell Cultures*, Springer-Verlag, Berlín, 1985.
4. Fujita, Y., Y. Hara, T. Ogino y C. Suga, *Plant Cell Rep.*, 1981, núm. 1, pp. 61-63.



Foto F. Raíz transformada de *Catharanthus roseus*

5. Fujita, Y., S. Takahashi y Y. Yamada, *Proceedings*, 3rd. European Conference on Biotechnology, 1984, núm. 1, pp. 161-166.

6. Curtin, M. H., *Biotechnology*, 1983, núm. 1, pp. 649-657.

7. Berlin, J., *Endeavour*, 1984, núm. 8, pp. 5-8.

8. Barz, W., E. Reinhard y M. H. Zenk, *Plant Tissue Culture and its Biotechnological Application*, Proc. Ist. Int. Congr. Med. Plant. Res., Springer-Verlag, Berlin, 1977.

9. Staba, J., *Plant Tissue Culture as a Source of Biochemicals*, CRC Press, Boca Ratón, Florida, EE.UU., 1980.

10. Mersey, B. G. y J. Cutler, *Can. J. Bot.*, 1986, núm. 64, pp. 1039-1045.

11. Hall, R. D. y M. M. Yeoman, *J. Exp. Bot.*, 1986, núm. 37, pp. 48-60.

12. Berlin, J., K. H. Knobloch, G. Hofle y L. Witte, *J. Nat., Prod.*, 1982, núm. 45, p. 83.

13. Zenk, M. H., H. El-Shagi y B. Ulbrich, *Naturwiss.*, 1977, núm. 64, p. 585.

14. Zenk, M. H., H. El-Shagi, H. Arens, J. Stockigt, E. W. Weiler y B. Deus, en *Plant Tissue Culture and its Biotechnological Application*, W. Barz, E. Reinhard y M. H. Zenk (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, 1977, pp. 27-43.

15. Lindsey, K. y M. M. Yeoman, *J. Exp. Bot.*, 1983, núm. 34, pp. 1055-1065.

16. Luckner, M., *Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants and Animals*, 2nd. ed., Springer-Verlag, Berlin, 1984.

17. Blandary, S. B. R., H. A. Collin, E. Thomas y H. E. Street, *Ann. Bot.*, 1969, núm. 33, pp. 647-656.

18. Hartman, T., L. Witte, F. Oprach y G. Topfel, *Planta Med.*, 1986, núm. 5, pp. 390-395.

19. Kitamura, Y., H. Miura y M. Sugii, *Chem. Pharm. Bull.*, 1985, núm. 33, pp. 5445-5448.

20. Ozeki, Y. y A. Komamine, *Physiol. Plant.*, 1981, núm. 53, pp. 570-577.

21. Flores, H., "Biotechnology in Agricultural Chemistry", ACS Symposium Series 334, H.M. LeBaron, R. O. Mumma, R. C. Honeycutt y J. H. Duesing (Eds.), en *Am. Chem. Soc.*, Washington, D. C., EE.UU., 1987, pp. 66-86.

22. Barrera, A. y A. Barrera-Vázquez, *El libro del judío*, CECSA, México, 1983.

23. Roys, R. L., *The Ethno-Botany of the Maya*, Tulane University of Louisiana, Nueva Orleans, EE.UU., 1931.

24. Dawson, R. F., *Science*, 1941, núm. 94, pp. 396-397.

25. Waller, G. R. y E. K. Novacki, *Alkaloid Biology and Metabolism in Plants*, Plenum Press, Nueva York, EE.UU., 1977.

26. Butcher, D. N. y H. E. Street, *Bot. Rev.*, 1964, núm. 30, pp. 513-586.

27. White, P. R., *Plant Physiol.*, 1934, núm. 9, pp. 585-600.

28. Stienstra, T. M., *Proc. Kon. Akad. Wet. Ser. C.*, 1954, núm. 57, pp. 584-593.

29. Endo, T. y V. Yamada, *Phytochem.*, 1985, núm. 24, pp. 1233-1236.

30. Hashimoto, T., Y. Yukimune y Y. Yamada, *J. Plant Physiol.*, 1986, núm. 124, pp. 61-75.

31. Hay, C. A., L. A. Anderson, M. F. Roberts, y J. D. Phillipson, *Plant Cell Rep.*, 1986, núm. 5, pp. 1-4.

32. Norton, R. A. y G. H. N. Towers, *J. Plant Physiol.*, 1986, núm. 122, pp. 41-53.

33. Birot, A. M., D. Bouchez, F. Casse-Delbart, M. Durant-Tardif, L. Jouanin, V. Pautot, C. Robaglia, D. Tepfer, M. Tepfer, J. Tourneur y F. Vilaine, *Plant Physiol. Biochem.*, 1986, núm. 25, pp. 323-335.

34. Cabrera, J. L., A. Oropeza y L. Herrera-Estrella, *III Reunión Nacional de Bioquímica y Cultivo de Tejidos Vegetales*, Irapuato, Gto., México, 1987, p. 67.

35. Chilton, M. D., D. A. Tepfer, A. Petit, C. David, F. Casse-Delbart y J. Tempé, *Nature*, 1982, núm. 295, pp. 432-434.

36. White, F. F., G. Ghidossi, M. P. Gordon y E. W. Nester, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1982, núm. 79, pp. 3193-3197.

37. Willmitzer, L., J. Sánchez-Serrano, E. Buschfeld y J. Schell, *Mol. Gen. Genet.*, 1982, núm. 186, pp. 16-22.

38. Flores, H. y P. Filner, en *Primary and Secondary Metabolism of Plant Cell Cultures*, K. H. Neumann, W. Barz y E. Reinhard (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, 1985, pp. 174-185.

39. Tepfer, D., *Cell*, 1984, núm. 37, pp. 959-967.

40. Flores, H. y P. Filner, *Plant Physiol.*, 1985, núm. 77, p. 12.

41. Jaziri, M., M. Legros, J. Homes y M. Vanhaleln, *Phytochem.*, 1988, núm. 27, pp. 419-420.

42. Kamada, H., N. Okamura, M. Satake, H. Harada y K. Shimomura, *Plant Cell Reports*, 1986, núm. 5, pp. 239-242.

43. Payne, J., J. D. Hamill, R. J. Robins y M. J. C. Rhodes, *Planta Med.*, 1987, núm. 53, pp. 474-478.

44. Hamill, J. D., A. J. Parr, R. J. Robins y M. J. C. Rhodes, *Plant Cell Rep.*, 1986, núm. 5, pp. 111-114.

45. Parr, A. J. y J. D. Hamill, *Phytochem.*, 1987, núm. 26, pp. 3241-3245.

46. Rhodes, M. J. C., M. Hilton, A. J. Parr, J. D. Hamill y R. J. Robins, *Biotech. Lett.*, 1986, núm. 8, pp. 415-420.

47. Wink, L. y L. Witte, *Z. Naturforsch.*, 1987, núm. 42c, pp. 69-72.

48. Hamill, J. D., A. J. Parr, M. J. C. Rhodes, R. J. Robins y N. J. Walton, *Biotechnology*, 1987, núm. 5, pp. 800-804.

49. Wei, Z. M., H. Kamada y H. Harada, *Plant Cell Rep.*, 1986, núm. 5, pp. 93-96.

50. Flores, H., J. J. Pickard y M. W. Hoy, en Proc. Ist. Inst. Conf. Naturally Occurring Acetylenes and Related Compounds, J. Lam y H. Breteier (Eds.), Elsevier, Amsterdam, Holanda, 1988, en prensa.

51. Mano, Y., S. Nabeshima, C. Matsui y H. Ohkawa, *Agric. Biol. Chem.*, 1986, núm. 50, pp. 2715-2722.

52. Jung, G. y D. Tepfer, *Plant Sci.*, 1987, núm. 50, pp. 145-151.

53. Ondrej, M. y J. Protiva, *Biol. Plant.*, 1987, núm. 29, pp. 241-246.

54. Constabel, P. y G. H. N. Towers, *Agricell Rep.*, 1987, núm. 9, p. 13.

55. Yoshikawa, T. y T. Furuya, *Plant Cell Rep.*, 1987, núm. 6, pp. 449-453.

56. Deno, H., H. Yamagata, T. Emoto, T. Yoshioka, Y. Yamada y Y. Fujita, *J. Plant Physiol.*, 1987, núm. 131, pp. 315-323.

57. Parr, A. J., A. C. J. Peerless, J. D. Hamill, N. J. Walton, R. J. Robins y M. J. C. Rhodes, *Plant Cell Rep.*, 1988, núm. 7, pp. 309-312.

58. Noguchi, M., T. Matsumoto, Y. Hirata, K. Yamamoto, A. Katsuyama, A. Kato, S. Azechi y K. Kato, en *Plant Tissue Culture and its Biotechnological Application*, W. Barz, E. Reinhard y M. H. Zenk (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, 1977, pp. 94-95.

59. Eilert, U. y Constabel, J., *Plant Physiol.*, 1986, núm. 125, pp. 167-172.

60. Hattori, T. y Y. Ohta, *Plant Cell Physiol.*, 1985, núm. 26, pp. 1101-1110.

61. Di Cosmo, F. y M. Misawa, *Trends Biotechnol.*, 1985, núm. 3, pp. 318-322.

62. Zenk, M. H., H. El-Shagi y U. Schulte, *Planta Med. Suppl.*, 1975, pp. 79-101.

63. Fowler, M. W. en *Basic Biotechnol.*, J. Bu'lock y B. Kristiansen (Eds.), Academic Press, 1987, pp. 525-544.

64. Fukui, H., K. Nakagawa, S. Tsuda y M. Tabata, *Plant Tissue Culture*, 1982, núm. 1982, pp. 313-319.

65. Tal, B., J. Gressel y J. Goldberg, *Planta Med.*, 1982, núm. 44, pp. 111-115.

66. Matsumoto, T., T. Ikeda, C. Okimura, Y. Obi, T. Kasaki y M. Noguchi, *Plant Tissue Culture*, 1982, núm. 1982, p. 275.

67. Kasumasa, H., A. Yamanaka, N. Kurano, K. Miyamoto y Y. Miura, *Agric. Biol. Chem.*, 1987, núm. 51, pp. 1311-1317.

Pongamos en manos de los niños y jóvenes de nuestro país la chispa que encienda su curiosidad por el mundo que les rodea.

El pasado, presente y futuro de la ciencia y la tecnología a su alcance con:

chispa

- * Juegos
- * Experimentos
- * Observaciones
- * Ideas a aplicar

en una revista mensual diseñada en México para ellos

INNOVACION Y
COMUNICACION.
S.A. DE C.V.

TLACOPAC 6 548-87-64 550-42-42
01040 MEX. D.F.
APDO. POSTAL 19-456 03910 MEX. D.F.

Suscribirse a Chispa es abrir la ventana del conocimiento, de la aventura y de la diversión

Mi nombre es _____ Deseo suscribir a Chispa a mi _____ cuyos datos son:

(parentesco)

Nombre _____ Calle _____ No. _____ Colonia _____

Delegación o Municipio _____ Ciudad _____ Estado _____ C.P. _____

Teléfono _____ Por lo que adjunto a este les estoy enviando el cheque Giro No. _____

por \$25,750.00

(12 números. Un año).