



RESUMEN.

Castilleja tenuiflora Benth. (“hierba del cáncer”) es recomendada por la medicina tradicional Mexicana para tratar síntomas asociados con el cáncer, que podrían deberse a que acumula compuestos fenólicos como flavonoides y feniletanoides. El nitrógeno (N) es un elemento fundamental para el crecimiento y desarrollo de las plantas y, su deficiencia provoca el incremento en la concentración de compuestos fenólicos y de la actividad de enzimas claves de su biosíntesis como es la fenilalanina amonio liasa (PAL). En el presente trabajo se evaluó el efecto de la reducción de N sobre el metabolismo de compuestos fenólicos de *C. tenuiflora*. Los brotes de *C. tenuiflora* se cultivaron en biorreactores de inmersión temporal con medio de cultivo B5 con 25.74 mM de N total (control) y en medio en el que se redujo la concentración de N al 5% (1.32 mM N), sin afectar la relación nitrato:amonio. Los resultados mostraron que la reducción de N provocó una disminución significativa en la altura y biomasa de los brotes, en la concentración total de clorofila, así como en su capacidad de multiplicación y de formación de raíz. La máxima actividad de la enzima PAL fue 2.5 veces mayor en los brotes cultivados con la reducción de N (1.45 μmol equivalentes de ácido cinámico (EAC)/h/mg proteína) que en el control (0.36 μmol EAC/h/mg proteína). De manera similar, la concentración de compuestos fenólicos totales y de flavonoides fue 1.7 y 1.8 veces mayor a lo obtenido en el control, respectivamente. Además a partir del día 9, bajo reducción de N se acumularon antocianinas en los brotes. Se analizaron los extractos metanólicos de 11 y 21 días por HPLC; en todos los extractos se encontraron los feniletanoides verbascósido e isoverbascósido como compuestos mayoritarios, que se acumularon mayormente en los brotes con reducción de N. La actividad de la enzima peroxidasa (POD) fue mayor en los brotes bajo reducción de N lo que sugiere una condición de estrés. En conclusión, la reducción de N afectó de manera negativa el crecimiento y desarrollo de los brotes de *C. tenuiflora*. En respuesta al estrés por deficiencia de N, los brotes de *C. tenuiflora* acumularon mayor concentración de compuestos fenólicos totales y flavonoides. En específico, aumentó la concentración de los feniletanoides verbascósido e isoverbascósido y de las antocianinas. Estos cambios en la concentración de compuestos químicos estuvieron asociados con el incremento en la actividad de la enzima PAL.



ABSTRACT

Castilleja tenuiflora Benth. (“hierba del cáncer”) is recommended by the Mexican traditional medicine to treat symptoms associated with cancer, which could be due to accumulation of phenolic compounds, such as flavonoids and phenylethanoids. Nitrogen (N) is an essential element for growth and development of plants and its deficiency causes an increase in the concentration of phenolic compounds and on the activity of key enzymes of its synthesis such as the phenylalanine ammonia lyase (PAL). The aim of this study was to evaluate the effect of the reduction of N on the metabolism of phenolic compounds in *C. tenuiflora*. Shoots of *C. tenuiflora* were cultivated in temporary immersion bioreactors with B5 medium and 25.74 mM of total N (control) or reducing the concentration of N at 5% (1.32 mM N), without affecting the nitrate:ammonium rate. The results showed that the reduction of N caused a significant decrease in height and biomass of shoots, total concentration of chlorophyll, as well as their ability to multiply and root formation. The maximum activity of the enzyme PAL was 2.5 times higher in the shoots grown with reduced N (1.45 μmol cinnamic acid equivalents (CAE)/h/mg protein) than in the control (0.36 μmol CAE/h/mg protein). Similarly, the concentration of total phenolics and flavonoids was 1.7 and 1.8 times higher than that obtained in the control, respectively. Also from day 9, under reduced N, shoots accumulated anthocyanins. Methanol extracts were analyzed by HPLC, and found that phenylethanoids verbascoside and isoverbascoside are the main compounds, which mostly accumulated in the shoots with reduced N. The activity of the enzyme peroxidase was higher in the shoots under N reduction suggesting a stress condition. In conclusion, the reduction of N significantly affected the shoot growth of *C. tenuiflora*. In response to N deficiency stress, the shoots of *C. tenuiflora* accumulate higher concentrations of total phenolics and flavonoids. Specifically, concentration of phenylethanoid verbascoside and isoverbascoside and, anthocyanins were increased. Changes in the concentrations of the chemical compounds were associated with increased activity of the enzyme PAL.