

TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE CEDRO ROJO (*Cedrela odorata*) VÍA *Agrobacterium tumefaciens*

Carlos Martín Zétina Gómez, Alejandro Gregorio Nila Méndez, José Antonio González Rodríguez, Elizabeth Hernández Domínguez y Yuri Jorge Peña Ramírez* UNIBVE ITSA Carretera Costera del Golfo Km. 216.4 Colonia Agrícola Michapa. Acayucan, Veracruz. México. C.P. 96000 Tel / Fax 01 924 2457410 ext. 429, email: unibve@itsacayucan.edu.mx

Palabras claves: *Biotecnología forestal, silvicultura clonal, resistencia a plagas*

Introducción. El Cedro rojo (*Cedrela odorata*) una especie forestal, perteneciente a la familia de la meliáceas, de clase dicotiledónea, de gran valor económico por ser una madera preciosa. El cedro se ha sobreexplotado para fines comerciales, logrando con ello una pérdida de genotipos elite. Por otro lado la plaga *Hypsipyla grandella* conocido como barrenador de las Meliáceas limitan su explotación comercial. Por ello es requerido un método de transformación genética vía *Agrobacterium tumefaciens*. En este trabajo reportamos el empleo de un gen marcador para establecer un protocolo útil para obtener una transformación estable. Paralelamente se establecerá el umbral de expresión endógena de la expresión *Gus* en plantas control para identificar claramente los eventos de transformación.

Metodología: 1.- El proceso de transformación consiste en la obtención de material biológico que consiste en plántulas y embriones somáticos de *C. odorata* mantenidos en medio MS. 2.- Crecimiento en medio YM de cepas de *Agrobacterium tumefaciens* transformada con el gen C58C1*Gus::intrón*. 3.- Realización del cocultivo, en el cual la bacteria infectara a los explantes (tallo, raíz, embriones, cotiledones, hojas, ápices) 4.- Regeneración en medio TY-17 modificado (González-Rodríguez y Peña Ramírez, 2007), en el cual se elimina la bacteria y se desarrollan brotes transformados. 5.- Selección de material transformado que se desarrolle en medios conteniendo el agente selectivo. 6.- Realización del ensayo de tinción *Gus*.

Resultados y discusión: Empleando distintos tejidos como explantes y distintas concentraciones de *Agrobacterium*, se logró obtener expresión transitoria de *Gus* en explantes cocultivados. Las condiciones óptimas fueron cocultivo por 48 horas en medio conteniendo una dilución 1:100 de un cultivo bacteriano de la cepa C58C1 a 0.6 OD a 550 nm. Por otro lado se realizan los experimentos pertinentes para identificar el umbral de la expresión *Gus* basal en explantes no transformados de *C. odorata* mediante ensayos de fluorometría empleando el sustrato *X-Gluc*. Los resultados de ambos experimentos serán discutidos en el Congreso.

Conclusiones: Mediante la realización de este trabajo se logró obtener un nuevo método de transformación

genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, Con este método se demuestra la posibilidad de modificar genéticamente al cedro rojo para evitar que plagas, herbicidas, etc. afecten su desarrollo.



Fig1 Comparación de explantes transformados y silvestres. La imagen de la izquierda representa la tinción del marcador *Gus*, la imagen de la derecha es el control la cual no se cocultivó con *Agrobacterium tumefaciens*, no presenta tinción *Gus*.

Agradecimientos: Proyecto de ciencia básica fondo institucional SEP-CONACYT 2006-53851-C01.

Bibliografía:

- Hernández Domínguez A.. 2008. Desarrollo de un método de propagación masiva de plántulas de cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) por medio de embriogénesis somática empleando biorreactores de inmersión temporal RITA®. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico Superior de Acayucan Veracruz México.
- Gómez López Lucero del C. 2008. Rejuvenecimiento de cedro rojo (*Cedrela odorata*), establecimiento in vitro, aplicaciones de un sistema de reproducción clonal y pruebas en biorreactores Biomint®. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico Superior de Acayucan Veracruz México.
- González-Rodríguez JA y Peña-Ramírez YJ 2007 Establishment of efficient protocols for somatic Embriogénesis induction in five tropical trees from Mesoamérica. Acta Horticulturæ748: 229-236
- Wang, M.B., Upadhyaya, N.M., Bretell, R.I.S. and Waterhouse, P.M. 1997. Intronmediated improvement of a selectable marker gene for plant transformation using *Agrobacterium tumefaciens*. J. Genetics and Breed 51: 325-334.