

SENSIBILIDAD A ESPECTINOMICINA EN CALLOS DE CEMPAXÚCHIL

Verónica Ramos-Viveros; Octavio Paredes-López; Adrián G. Quintero-Gutiérrez, Alma A. Del Villar-Martínez; Pablo E. Vanegas-Espinoza. Laboratorio de Biología Molecular. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, IPN. Carretera Yautepec-Jojutla Km. 8.5, Col. San Isidro, 62731 Yautepec, Morelos. México. Tel: (735) 394 2020 Fax: (735) 394 1896 email: pvanegas@ipn.mx

Palabras clave: *cempaxúchil*, *espectinomicina*, *resistencia*.

Introducción. El cempaxúchil (*Tagetes erecta*) es una fuente importante de pigmentos, carotenoides que se acumulan en las flores, a los cuales se les han atribuido posibles efectos como agentes nutraceuticos. En callos de cempaxúchil se han identificado las estructuras donde se acumulan los pigmentos (1) por lo que se ha sugerido la posibilidad de manipular la ruta biosintética mediante la sobre-expresión del gen β -licopeno ciclasa (2) utilizando construcciones con el gen homólogo. La construcción para llevar a cabo la modificación contiene el gen *aadA* como marcador de selección, el cual confiere resistencia al antibiótico espectinomicina. Sin embargo para establecer un método de transformación genética se requiere conocer la sensibilidad natural del tejido para la selección de posibles transformantes (3).

El objetivo de este trabajo fue determinar la sensibilidad del callo de cempaxúchil al antibiótico que será utilizado como marcador de selección en eventos de transformación genética.

Metodología. Se utilizó callo de *T. erecta* producido y mantenido en un medio MS suplementado con 2 mg/L de bencilaminopurina y 2 mg/L de ácido 2,4-diclorofenoxiacético, al que se le adicionaron diferentes concentraciones de espectinomicina (50, 100, 200 y 500 mg/L), en los que se evaluó la sensibilidad de los explantes al antibiótico mediante el índice de crecimiento.

Resultados y discusión. Una vez establecido el sistema de producción de callo bajo condiciones controladas y con la meta de establecer un sistema de transformación en callos de cempaxúchil, es necesario determinar la sensibilidad del callo al antibiótico de selección (3). Los resultados se presentan en la figura 1, de acuerdo a nuestros tratamientos el índice de crecimiento celular es menor en los tratamientos en comparación con el control, siendo más claro el efecto en las concentraciones de 200 y 500 mg/L. Se observa que el efecto del antibiótico fue evidente en los callos a los 15 días presentando una coloración café, se observó que el tejido es tolerante a 50 y 100 mg/L de espectinomicina, debido a que los callos sobrevivieron a esta concentración, y al aumentar la concentración a 200 y 500 mg/L, se observó necrosis del callo; como se puede observar, existe una relación inversa entre la concentración del antibiótico en el medio y la supervivencia de los callos.

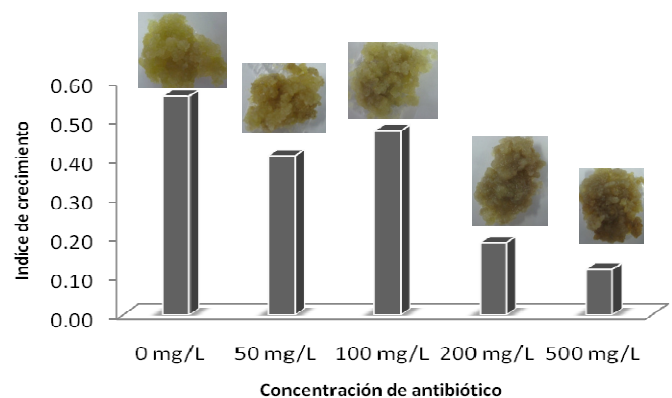


Fig. 1. Efecto de la espectinomicina en callos de *Tagetes erecta* a los 15 días de siembra.

Tomando en cuenta lo anterior, se seleccionó la concentración de 200 mg/L de espectinomicina para llevar a cabo la selección de los callos posiblemente transformados ya que fue la dosis más confiable que permitió la recuperación de los callos. Por otro lado, 500 mg/L en el medio de cultivo, podría resultar una dosis tóxica para el callo en la primera etapa de selección.

Conclusiones. Se determinó la concentración adecuada de espectinomicina para la selección de transformantes en callo de cempaxúchil.

Agradecimiento. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas (COFAA) por los apoyos recibidos durante la elaboración de este trabajo.

Bibliografía.

- Ramos-Viveros V. 2007. Análisis Ultraestructural en Células Desdiferenciadas de Cempaxúchil (*Tagetes erecta*). Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Del Villar-Martínez, A. A., García-Saucedo, P. A., Cárbez-Trejo, A., Cruz-Hernández, A. y Paredes-López, O. 2005. Carotenogenic gene expression and ultrastructural changes during marigold flowering. *J. Plant Phys.* 162:1046-1056
- Siemens J. y Schieder O. 1996. Transgenic plants: Genetic transformation recent developments and state of the art. *Plant Tiss. Cult. Biot.* 2:66-75.