

OPTIMIZACIÓN DE CONDICIONES DE DISPARO EN EXPERIMENTOS DE BIOBALÍSTICA PARA LA TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE CEDRO ROJO (*Cedrela odorata* L.)

Gabriela de Jesús Tadeo–Lagunes, Max Mizraim Apolinar–Hernández, Víctor Manuel Baeza–Mireles, Luís Iván Razgado–Orozco, Elizabetha Hernández–Domínguez, José Antonio González–Rodríguez, Alejandro Gregorio Nila–Méndez, Yuri Jorge J. Peña–Ramírez*. Unidad de Investigación en Biotecnología Vegetal. Instituto Tecnológico Superior de Acayucan. Carretera Costera del Golfo Km. 216.4. Acayucan, Veracruz. C.P. 96100 Tel. / Fax +52 924 2457410 e-mail: unibve@itsacayucan.edu.mx

Palabras claves: gfp, embriones somáticos, mejoramiento genético.

Introducción. *Cedrela odorata* L. es una especie de la familia de las Meliáceas. Es la segunda de mayor importancia comercial debido a la calidad de su madera (dureza y aroma). El mejoramiento genético de esta especie es prioritario para el establecimiento de plantaciones comerciales resistentes al ataque de *Hypsipyla grandella*. La Tecnología del DNA recombinante, han demostrado tener la facultad de impactar con particular importancia a las especies forestales, permitiendo la introducción de uno o varios genes proveniente de otros organismos en corto plazo. La introducción de estos genes se logran mediante el método directo llamado biobalística; el objetivo del trabajo es establecer las condiciones óptimas de disparo utilizando genes reporteros como el de la proteína verde fluorescente (GFP).

Metodología. Se realizaron experimentos de transformación empleando el cañón PDS-1000/He® Con la finalidad de transformar genéticamente *Cedrela odorata* mediante biobalística. Se bombardearon embriones somáticos a los 14 días de inducción. Estos embriones somáticos fueron bombardeados con el plásmido pCAMBIA 1302 que contiene los genes reporteros *uidA* y *gfp* (Los experimentos contienen al menos 10 µg de DNA) recubiertos con partículas de oro 0.5 µM, probando diferentes tipos de presiones y de distancia para encontrar la condición óptima (Tabla 1).

Resultados y discusión. Se obtuvieron resultados expresión transitoria de *gfp* (Figura 1) en embriones de *C. odorata* bombardeados a una distancia de 3 cm y 1350 psi de presión de disparo. Dichas masas se crecieron en medios conteniendo el agente de selectivo en medio de germinación de embriones. Las plantas regeneradas fueron analizadas. Cabe mencionar de manera muy importante que son los primeros reportes que se tienen sobre la transformación de *C. odorata*. Sin embargo, hace falta evaluar otros parámetros de bombardeo.

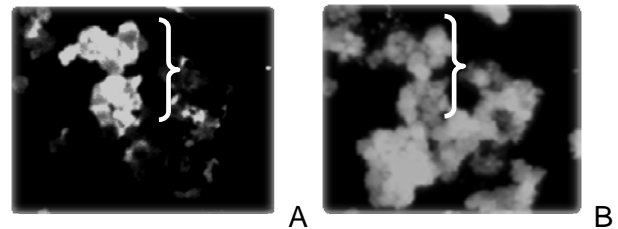


Figura.1. A. Embriones somáticos de cedro rojo con expresión de *gfp* la fotografía fue tomada bajo campo de fluorescencia a 365 nm. Bombardeados a una presión de disparo de 1350 PSI, 3 cm de distancia y 25 mmHg de presión de vacío, utilizando el pCAMBIA 1302). B. mismos embriones tomando la fotografía en campo claro.

Distancia (cm)	Presión (psi)
3	650
	900
	1100
	1350
6	650
	900
	1100
	1350
9	650
	900
	1100
	1350

Tabla 1. Condiciones experimentales de distancia de disparo y presión.

Conclusiones.

Es posible la introducción de un gen foráneo al genoma de *Cedrela odorata* mediante la técnica de biobalística.

Agradecimiento. Proyecto Ciencia Básica SEP CONACYT 53851.

Bibliografía.

1. Ueki S, Lacroix B, Krichevsky A, Lazarowitz S and Citovsky V. 2009. Functional Transient Genetic Transformation of *Arabidopsis leaves* by Biobalistic Bombardment. *Nature protocols*. Vol. 4 No. 1: 71-77
2. Escobar M. A., Park J., Polito V. S., Charles A. L., Uratsu S. L., McGranaha Gale H. and Dandekar A. M. 2000. Using GFP as Scorable Marker in walnut Somatic Embryo Transformation. *Annals of Botany*. Vol 85: 831-835.