



CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENES QUE MODULAN LA TRANSCRIPCIÓN DE AUXINAS Y SU POSIBLE PAPEL EN LA RIZOGÉNESIS EN VITROPLANTAS DE PAPAYA

(*Carica papaya* L.)

Humberto Estrella Maldonado, Carlos Talavera May, Francisco Espadas Gil y Jorge Santamaría Fernández
Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Unidad de Biotecnología, Mérida, Yucatán 97200

humberto.estrella@cicy.mx

Palabras clave: *Carica papaya*, rizogénesis, auxina.

Introducción. Las plantas de algunas especies incluyendo papaya, cuando son cultivadas *in vitro* presentan una eficiencia intermedia de enraizamiento. La señalización de las auxinas es controlada por genes de tipo ARFs (factores de respuesta a auxina) y AUX/IAA (represores de la transcripción en respuesta a auxina), estos factores transcripcionales (FTs) activan o reprimen los procesos de formación de raíces laterales.

El objetivo del trabajo es comprender mecanismos moleculares de la rizogénesis mediante los cambios de expresión de FTs de auxinas (ARFs-AUX/IAA) en vitroplantas de *C. papaya* expuestas a diferentes tratamientos rizogénicos.

Metodología. Se diseñaron tratamientos rizogénicos en vitroplantas de *C. papaya* expuestas en medio Murashige and Skoog (MS) a temperaturas de 25 y 37°C, con (2 mg/L) y sin Ácido-Indol-Butírico (IBA). Como tratamiento control (C1) se usaron plantas de semilla (Tabla1). Fueron evaluados porcentajes de enraizamiento y sobrevivencia, además, se realizaron extracciones de RNA según lo establecido por Kieffer et al. (1) en tejidos de base de tallo (BT) y raíz (R). El análisis de expresión por RT-qPCR fue realizado con el método $\Delta\Delta Ct$ según Livak y Schmittgen (2). Para los cambios de expresión génica se utilizaron nuestros genes diana (*CpARFs* y *CpAUX-IAA*) previamente identificados *in silico* y un gen control endógeno (*CpEF1a*).

Resultados. En T1 se observó que sin la adición de IBA exógena las vitroplantas no fueron capaces de formar raíces adventicias. En el T2 las vitroplantas formaron raíces, sin embargo, estas fueron frágiles y no funcionales. En T3 las vitroplantas sin IBA fueron capaces de formar raíces adventicias. El mejor tratamiento fue el T4, las vitroplantas formaron raíces parecidas a plantas provenientes de semilla, de igual manera, presentaron altos porcentajes de enraizamiento y de sobrevivencia bajo condiciones *ex vitro* (Fig. 1).

Tabla 1. Tratamientos rizogénicos en vitroplantas de *C. papaya*.

	Tratamientos	°C	IBA	Enraizamiento	Sobrevivencia <i>ex vitro</i>
Control	C1	37	-	100 %	100 %
	T1	25	-	0 %	0 %
Vitroplantas	T2	25	+	67 %	47 %
	T3	37	-	82 %	58 %
	T4	37	+	92 %	100 %



Fig. 1. Vitroplantas de *Carica papaya* L.

En relación a los patrones de expresión mediante RT-qPCR (Fig. 2) se observó que las vitroplantas expuestas a tratamientos T1 y T2 presentaron alta expresión de genes que reprimen la transcripción (*CpAUX-IAA*), lo que puede explicar la nula formación de raíces en estos tratamientos. Por el contrario, vitroplantas expuestas a tratamientos T3 y T4 presentaron los mejores eventos rizogénicos acompañados de baja expresión de genes represores (*CpAUX-IAA*) pero alta expresión de genes reguladores de la transcripción (*CpARFs*) en BT y R.

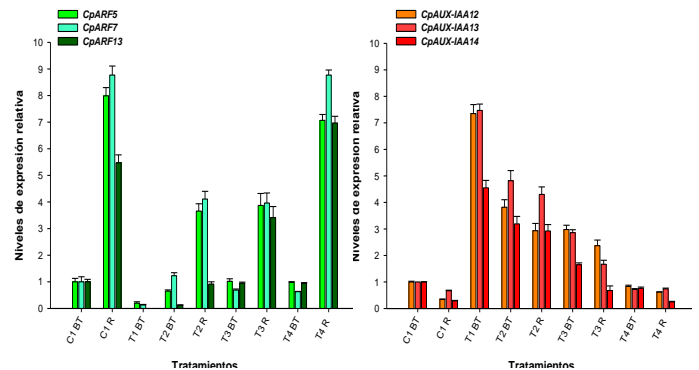


Fig. 2. Análisis de expresión por RT-qPCR de los genes *CpARFs* y *CpAUX/IAA* en los diferentes tratamientos rizogénicos en tejidos de base de tallo y raíces. Se usó la marca fluorescente SYBER® Green.

Conclusiones. En los mejores tratamientos rizogénicos, factores como altas temperaturas y la adición de IBA exógena en los medios de cultivo, probablemente estimula la síntesis de IAA endógeno, induciendo la expresión de los FTs de *CpARFs* y posiblemente la ubiquitinación de los *CpAUX-IAA*, lo que resulta en la generación de raíces adventicias.

Agradecimiento. Al CONACYT por la beca No. 254647 otorgada a Humberto Estrella.

Bibliografía.

1. Kieffer et al (2000). *Plant Molecular Biology Reporter*. vol (18): 33-39.
2. Livak Kenneth and Schmittgen Thomas (2001). *Methods*. vol (25): 402-408.