



## TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE *Capsicum chinense* Jacq. VÍA *Agrobacterium tumefaciens*

Alma Citlalli Del Angel Castillo<sup>1</sup>; Enrique Castaño de la Serna<sup>2</sup>; Ángela Ku González<sup>2</sup>; Luis Latournerie Moreno<sup>1</sup>; Carlos Francisco de Jesús Fuentes Cerda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico Agropecuario No. 2, km 16.3 carretera antigua a Motul, Conkal, Yucatán. C.P. 97345. Tel. y Fax: 01 (999) 9124130, 01 (999) 9124135 . [www.itaconkal.edu.mx](http://www.itaconkal.edu.mx); [citla1980@hotmail.com](mailto:citla1980@hotmail.com)

<sup>2</sup>Centro de Investigación Científica de Yucatán. Calle 43 No. 130, Colonia Chuburná de Hidalgo, Mérida Yucatán. C.P. 97200. Tel. y Fax: [www.cicy.mx](http://www.cicy.mx); [enriquec@cicy.mx](mailto:enriquec@cicy.mx)

*Palabras clave: chile habanero, in vitro, fitomejoramiento.*

**Introducción.** El cultivo de *Capsicum chinense* es importante tanto para la alimentación como para la industria (1). La transformación genética presenta ventajas en comparación al fitomejoramiento tradicional, sin embargo no se dispone aún de un sistema de regeneración eficiente para esta especie limitando el potencial de esta alternativa biotecnológica. El cocultivo con *Agrobacterium tumefaciens*, es uno de los métodos para realizar la transferencia de genes en dicotiledóneas. El primer reporte de transformación para *Capsicum* indica a la cepa C58 como la más apropiada para lograr esta meta (1). Investigaciones recientes indican la obtención de transformantes en porcentajes bajos (2,3) sin embargo, se reporta que las especies de éste género presentan dificultades para realizar la transformación genética y en el establecimiento de un sistema de regeneración eficiente a nivel *in vitro* (1,2,3).

En este trabajo se presentan los resultados de aplicar la técnica de *A. tumefaciens* con el objetivo de realizar la transformación genética en *Capsicum chinense*.

**Metodología.** Se emplearon plántulas germinadas *in vitro* en el medio MS adicionado con 1.15 mM de AG<sub>3</sub>. Se cultivó la cepa C58C1 de *Agrobacterium tumefaciens* transformada con el vector pLH60 con la región del gen de la proteína roja fluorescente, y el vector per10-W con el gen *Wushel*. Los cultivos de *Agrobacterium* se centrifugaron a 1380 x g durante 30 min a 4°C. Las bacterias se resuspendieron en un medio MS líquido, se inocularon las plántulas y se cocultivaron por 30 min, en oscuridad. Posteriormente se sometieron a infiltración a 440 mm Hg por 10 min y se dejaron en cocultivo en oscuridad por 2 h. Las plántulas se lavaron con una solución de NaCl (0.9%) y el antibiótico Timentin (400 mg mL<sup>-1</sup>). La transformación se comprobará mediante microscopía fluorescente e hibridación Southern. Se siguieron los siguientes tratamientos: a) sin bacterias (control), b) con bacterias sin transformar, c) con bacterias con el vector pLH60, y d) con bacterias conteniendo el vector per10-W.

**Resultados y discusión.** Al realizar los lavados continuos con NaCl (0.9%) y el antibiótico Timentin se observó que se propicia el daño mecánico del tejido induciendo la fenolización de éste, disminuyendo gradualmente la

posibilidad de establecer un sistema de regeneración de plántulas y se comprobó la transformación mediante una amplificación por PCR del fragmento correspondiente al gen *Wushel* a partir del vector per10-W. Verificándose en una electroforesis en un gel de agarosa (1%) la obtención de la amplificación del gen mencionado a partir del ADN de las plantas transformadas con la cepa C58C1 conteniendo el plásmido per10-W siendo éste un indicio de la transformación de plantas de chile habanero (Figura 1).

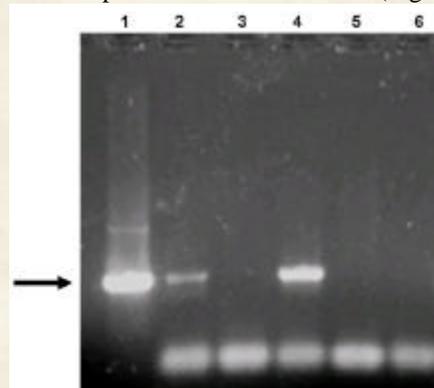


Figura 1. Amplificación del gen *Wushel*. Carril 1: Vector per10-W; Carriles 2, 3, 4 y 5: ADN de plantas transformadas, sin bacteria, con C58C1, C58C1+per10-W y C58C1+pLH60, respectivamente; Carril 6: Oligos 5 y 6 del gen *Wushel*.

**Conclusiones.** El análisis de amplificación por PCR del gen *Wushel* sugiere la posible transformación de plantas de chile habanero mediante el cocultivo con *Agrobacterium tumefaciens*. El tratamiento empleado para eliminar *Agrobacterium* no ha resultado eficiente, por lo que otros métodos de transformación se encuentran en prueba.

### Bibliografía.

- Ochoa-Alejo, N. and Ramírez-Malagón, R. (2001). *In vitro* chili pepper biotechnology. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 37 (6): 701-729.
- Lee, H.Y. et al. (2004). A new selection method for pepper transformation: callus-mediated shoot formation. *Plant Cell Reports*. 23(1-2):50-58.
- Li, D. et al. (2003). Establishment of a highly efficient transformation system for pepper (*Capsicum annum* L.). *Plant Cell Reports*. 21(8):785-788.