



TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE TEJIDO MERISTEMÁTICO (SCALPS) DE BANANO CV “ENANO GIGANTE” Y “MANZANO” CON EL GEN *WUSCHEL* DE *Arabidopsis thaliana*

Suemy T. Echeverría Echeverría, Burgeff Caroline, Castaño Enrique, Escobedo GM Rosa María, Luis C. Rodríguez Zapata*, calle 43 # 130 Col. Chuburná de Hidalgo, 97200, Mérida Yucatán México, Fax. 99 81 39 00, *lcrz@cicy.mx

Introducción. La embriogénesis somática *in vitro* es una excelente vía para la clonación rápida de plantas y es de particular interés para el mejoramiento genético en especies como es el banano que tienen comprometida y reducida su reproducción sexual. En el caso del Banano dicho proceso *in vitro* se ha logrado utilizando explantes de meristemo floral masculino o yemas en proliferación (scalps), no obstante, tan solo un 5% de los explantes que responden a la formación de callos embriogénicos es capaz de originar suspensiones celulares morfogénicas. Una posible alternativa para este problema, es introducir genes involucrados directamente en el proceso de la embriogénesis. Se ha visto que el gen *WUSCHEL* (*WUS*) está involucrado en la determinación de la identidad de las células madre en el meristemo apical de la planta (Mayer *et al.*, 1998); es por esto que el gen *WUS* sería un buen candidato para ser introducido en tejido meristemático de banano y así estudiar su efecto en la respuesta embriogénica que tiene el banano.

Metodología. Se empleó la cepa C58C1 de *A. tumefaciens*, la cuál porta el plásmido pER10FQ-*WUS* utilizado para transformar scalps de banano Enano Gigante (EG) y Manzano (Mzn). El plásmido pER10FQ-*WUS* contiene en el T-ADN como gen reportero la proteína roja fluorescente (*PRF*) y como gen de selección el gen *NPTII* el cual confiere resistencia a Kanamicina. El gen *WUSCHEL* está bajo el control de un promotor inducible por el estrógeno 17 β -estradiol. La cepa de *A. tumefaciens* se cultivó de acuerdo a Acereto Escoffie *et al.*, (2003) usando espectinomicina como antibiótico de selección de la bacteria (100 mg.l⁻¹). La transformación de los scalps se realizó mediante infiltración al vacío (Acereto Escoffie., 2002). También se empleó la cepa C58C1 portadora del plásmido pER8-*GPF* y como control la cepa desarmada.

Resultados y discusión. Se verificó la transformación de los scalps de cv Enano Gigante y Manzano mediante amplificación por PCR de un fragmento del gen *NPTII* en el cual se obtuvo una banda de 675pb (Fig. 1), así como la amplificación de un fragmento del gen *WUS* en el cual se obtuvo una banda de 375 pb (Fig. 2). Estos datos sugieren que el T-ADN del plásmido se ha integrado al genoma del material de banano EG y Mzn.

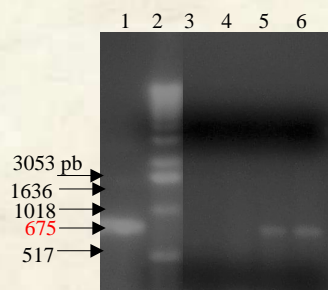


Figura 1: Amplificación del fragmento *NPTII*. 1: control positivo (Vector pCambia 2301). 2: MWM de 0.07 a 12.2 kb; 3: banano EG no transformados; 4: explantes transformados con la cepa C58C1 desarmada; 5: explantes transformados con la cepa C58C1-pER8; 6: explantes transformados con la cepa C58C1-pER10-WUS.

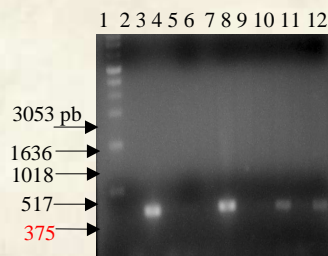


Figura 2. Amplificación del fragmento *WUS*. 1: MWM de 0.07 a 12.2 kb; 2: Control H₂O; 3: Control Positivo(C58C1-pER10FQ-WUS); 4: Explantes no transformados EG; 5: Explantes transformados de EG con la cepa C58C1 desarmada;

6: explantes transformados de EG con la cepa C58C1-pER8; 7: explantes transformados de EG con la cepa C58C1-pER10FQ-WUS; 8: Explantes no transformados Mzn; 9: Explantes transformados de Mzn con la cepa C58C1 desarmada; 10: explantes transformados de Mzn con la cepa C58C1-pER10FQ-WUS. 11: explantes transformados de Mzn con la cepa C58C1-pER8; 12: explantes transformados de Mzn con la cepa C58C1-pER10FQ-WUS

Conclusiones. La amplificación positiva del fragmento *NPTII* y del fragmento *WUS* indica que se logró la integración del gen heterólogo *wuschel* en los explantes de banano de los cv EG y Mzn. El siguiente paso (en proceso) es inducir la embriogénesis en los explantes positivos a *wuschel* con el 17 β -estradiol.

Agradecimientos. Se agradece al CONACYT por la beca # 183377 proporcionada a S.T.E.E. y a SAGARPA por el apoyo económico (2002-C01-1714). Se agradece el apoyo técnico del MC B. Chi Manzanero y la MC Adriana Quiroz.

Bibliografía.

1. Mayer, K.F., Schoofs, H., Haecker, A., Lenhard, M., Jurgens, G. and Laux, T. 1998. Role of *WUSCHEL* in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem. Cell 95: 805-8153.