

EVALUACION DE DOS MÉTODOS DE DESINFESTACIÓN DE *Beta vulgaris* L. var. Crosby Egyptian PARA LA OBTENCIÓN DE BROTES.

Guadalupe Salcedo Morales¹, Ibeth Beatriz Robles Ramírez, Gabriela Sepúlveda Jiménez¹

¹Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional. Apartado Postal 24. Yautepec, Morelos. México. C.P. 62731. (735)3941896. Fax: (735) 3942020. gsepulvedaj@ipn.mx.

Palabras clave: *Beta vulgaris* L, brotes, betabel.

Introducción. El proceso de regeneración es uno de los procesos clave en estudios de la transformación genética que es usada para conocer los eventos bioquímicos, los genes y las enzimas que están involucrados en la síntesis de metabolitos secundarios. Tal es el caso de las betalainas de betabel (*Beta vulgaris* L) que se inducen bajo condiciones de estrés y que pudieran funcionar como antioxidantes (1). Algunos estudios de transformación en esta especie reportan el empleo de tejido caloso y raíces transformadas con resultados no favorables (2). Otra estrategia de transformación es mediante la inserción de T-DNA vía *Agrobacterium* usando brotes (3). Sin embargo, el éxito de ésta metodología como otras que se usan en la transformación y en la regeneración de plantas, depende de la especie y de la variedad. Por lo anterior y como un estudio preliminar, este trabajo tuvo como objetivo probar dos métodos de desinfectación de semillas de frutos de *Beta vulgaris* L. var. Crosby Egyptian para la obtención de brotes.

Metodología. La desinfectación se realizó usando dos métodos que consistieron en sumergir los frutos en hipoclorito de sodio (1 %), tween, seguido de un lavado con agua estéril. Posterior a este paso, en el método 1 (M1) los frutos se sumergieron en el fungicida comercialmente conocido como benlate (2 %) y finalmente se adicionó al medio de cultivo el antibiótico Cefatoxima. En el segundo método (M2) después del tratamiento con hipoclorito (1%), los frutos fueron sumergidos con el antibiótico Vancomicina al 2 % (v/v) en lugar de Cefatoxima. Por último, los frutos desinfectados con ambos tratamientos fueron sembradas en medio MS suplementado con Sacarosa (30g/L) y Bacto agar (2 %). En el medio de cultivo para la inducción de brotes (MC-B) se usaron los reguladores de crecimiento IBA (0.1 m/l) y BAP (0.25 m/l).

Resultados y discusión. La germinación de las semillas de los frutos desinfectados con los métodos 1 y 2 inició a las 3 y 1 semanas, respectivamente. El % de germinación fue del 28% con el M1 y del 100 % con el M2. Estas diferencias en los % de germinación quizás son debidas al tipo de antibiótico empleado en cada uno de los métodos de desinfectación. Posteriormente, el siguiente paso fue la transferencia de las plántulas germinadas a un medio de cultivo para la inducción de brotes (MC-B). Para desarrollar este paso se utilizaron los cotiledones como explantes (Fig. 1A). Los resultados fueron la inducción de 7 brotes/plántula usando el método 1 y de 8 brotes/plántula

con el método 2. Aunque a este nivel no se encontraron diferencias en la inducción de brotes, se encontró que los brotes obtenidos con M1 y M2, fueron diferentes en cuanto a su consistencia y pigmentación, Los brotes del M1 presentaron una coloración roja con una consistencia gruesa (fig. 1B). Mientras que los brotes obtenidos usando el M2, presentaron una pigmentación verde y una consistencia delgada en las hojas (fig. 1C).



Figura 1. La generación de brotes de betabel (*Beta vulgaris* L) se realizó a partir de cotiledones (A). Los brotes que se obtuvieron de semillas desinfectadas usando el método 1 (B) y el método 2 (C) fueron diferentes en coloración y consistencia de las hojas.

Conclusiones. Mediante el empleo de un procedimiento de desinfectación de las semillas de los frutos de betabel (*Beta vulgaris* L), que incluyó el uso del antibiótico vancomicina y la combinación de reguladores de crecimiento, se logró la obtención de brotes de esta especie.

Agradecimientos. El trabajo fue financiado por la Secretaría de Investigación y Posgrado del IPN (Proyecto SIP 20070748) y CONACyT (49950-Z).

Bibliografía.

- Sepúlveda, J. G., Rueda, B. P., Porta, H. And Rocha, S. M. (2004). Betacyanin synthesis in red beet (*Beta vulgaris*) leaves induced by wounding and bacterial infiltration is preceded by an oxidative burst. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 64(3): 125-133.
- Lindsey, K. and Galloids, P. (1990). Transformation of sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) by *Agrobacterium tumefaciens*. *J. Exp. Bot.* 41:529-536.
- Hisano, H., Kimoto, Y., Hayakawa, H., Takeichi, J., Domae, T., Hashimoto, R., Abe, J., Asano, S., Kanazawa, A. and Shimamoto, Y. (2004). High frequency *Agrobacterium*-mediated transformation and plant regeneration via direct shoot formation from leaf explants in *Beta vulgaris* and *Beta maritima*. *Plant Cell Report.* 22:910-918.