

EXPRESIÓN TRANSITORIA EN CALLO DE CEMPAXÚCHIL

Eneida Huicochea Salez, Araceli Solano Navarro, Pablo Emilio Vanegas Espinoza, Alma Angélica Del Villar Martínez, Andrés Cruz Hernández, Octavio Paredes López. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, IPN. Carretera Yautepec-Jojutla Km. 8.5, col San Isidro, Yautepec, Morelos adelvillarm@ipn.mx

Palabras clave: cempaxúchil, callo, transformación genética

Introducción. La transformación genética de plantas consiste en la introducción estable de genes al genoma vegetal, ésta permite la obtención de variedades mejoradas, por ejemplo, resistentes a un herbicida, producción de agentes tóxicos a algún insecto, mayor contenido de pigmentos, etc. (1). Para lograrlo, se necesitan, además de la caracterización molecular de los genes a introducir, vectores adecuados y métodos eficientes para transformar y seleccionar las células vegetales transformadas, así como para regenerar plantas completas a partir de ellas(2).

El objetivo principal de este trabajo fue el de establecer las presiones y distancias de bombardeo con pistola de alta presión para establecer el método de transformación por bialística de callo de cempaxúchil.

Metodología. Este trabajo se llevó a cabo con el vector PBI426 que contiene el gen *uidA* que codifica para la enzima β -glucuronidasa. Para lograr la introducción del plásmido se utilizó el método de biobalística evaluando distancias de 9 y 11 cm; y presiones de 3100.5 kpa y 6201 kpa en una pistola de alta presión de bombardeo trabajando con partículas de oro recubiertas con el DNA plasmídico.

Resultados y Discusión. Se analizaron cuatro diferentes combinaciones de distancias y presiones en la expresión transitoria de la β -glucuronidasa

Tabla 1. Niveles de expresión transitoria del gen uidA

Distancia (cm)	Presión (Kpa)	Expresión Transitoria
9	3100.5	-
9	6201	+
11	3100.5	-
11	6201	++

Esto se llevó a cabo 48 horas después de haber bombardeado los callos, mostrándose que solo existió reacción positiva de la β -glucuronidasa en las combinaciones de 6201 Kpa y 9 cm (Fig. 1A) y 6201 Kpa y 11 cm (Fig 1B) observando mayor acumulación del precipitado azul, típico de la reacción de GUS, en el bombardeo realizado a 11 cm y una presión de 6201 Kpa. En trabajos anteriores (3) se ha llevado a cabo el

análisis de presiones y distancias de bombardeo, en explantes de hoja de cempaxúchil utilizando una pistola de baja presión, con el vector PBI426, reportando la mejor expresión transitoria a una presión de 551.6 Kpa y distancia de 10.5 cm mismas condiciones que permitieron observar expresión estable del transgen.

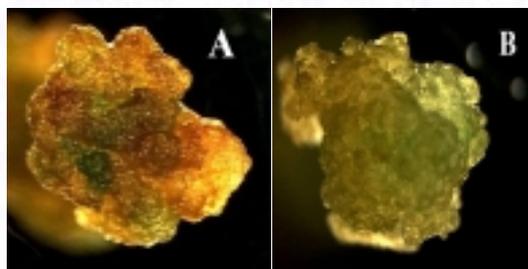


Figura 1. Imagen de callos bombardeados a una presión de 6201 Kpa, a una distancia 9 cm (A) y 11 cm (B)

Conclusiones. Se establecieron las condiciones adecuadas para lograr la expresión transitoria del gen *uidA* en callo de cempaxúchil. Esto permite continuar con trabajos tendientes a producir la expresión estable de genes de importancia en un sistema biológico como lo es el cempaxúchil.

Agradecimientos. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas (COFAA) y al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Irapuato (CINVESTAV-IPN) por el apoyo para llevar a cabo este proyecto.

Bibliografía.

- Levitus, G. Acuña, C. Frid, D. Elaboración de una planta transgénica: Técnica de Biobalística. www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/ec_28.
- Carbonero, P. (2004) Aspectos Tecnológicos de la Obtención de Plantas Transgénicas, pag: 1-3
- Vanegas, P. E., Valdez, M. Valverde, M. E., Cruz, A. y Paredes, O. (2005) Particle bombardment, a method for gene transfer in marigold *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 84: 360-361