



## “REGENERACIÓN *IN VITRO* DE SORGO Y ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES PARA SU TRANSFORMACIÓN GENÉTICA VIA BIOBALISTICA”

Innan Godínez García<sup>1</sup>, Ma. de Jesús Jiménez V., Ma. Teresa de Jesús Olivera F., Elizabeth Loza R., Miguel Ángel Gómez L. Ave. Institutos, conjunto E, Facultad de Química, UNAM., C.P.04510  
innangg@yahoo.com.mx 54-29-82-95 ó 56-22-53-26

*Palabras clave: sorgo, transgénico, biobalística.*

**Introducción.** El sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) es una planta originaria de África Central (1) que ocupa el quinto lugar como grano cultivado en el mundo y en México, es el segundo cultivo cíclico más importante, después del maíz (2). Es usado para la alimentación de más de 300 millones de personas en el mundo y en la elaboración de alimentos balanceados para consumo animal, debido a su tolerancia a la sequía, suelos alcalinos y salinos y temperaturas extremas, en comparación con otros cereales (3). Sin embargo es catalogado como el más recalcitrante de todos los cereales y por ende una de las plantas más difíciles de trabajar en cultivo de tejidos vegetales y transformar (4). Por ello surge el interés de establecer un protocolo óptimo su regeneración y su mejoramiento genético a través del uso de la biobalística, posibilitando con ello una gran gama de beneficios y aplicaciones.

El Objetivo general del trabajo fue determinar un protocolo para la regeneración *in vitro* de sorgo y establecer los parámetros físicos para su transformación genética por biobalística.

**Metodología.** Con la finalidad de encontrar el explante y el medio óptimo para la regeneración de sorgo, se probaron diversos explantes (coleóptilo (Fig.1a), embrión maduro y embrión inmaduro) los cuales fueron sembrados en diferentes medios; probándose tipos y concentraciones distintas de componentes inorgánicos y orgánicos, antioxidantes, auxinas y citocininas. (Fig.1b). Así mismo se determinó la concentración de selección al herbicida Basta® dado que la construcciones contienen el gen de resistencia Bar; se probaron diferentes concentraciones de dicho agente selectivo. Una vez logrado esto, se procedió a realizar los experimentos concernientes a la transformación mediante la técnica de biobalística (con una cámara de baja presión) en los cuales se probaron factores físicos como el tamaño de bala de tungsteno y la distancia a la cual se debía encontrar el tejido vegetal. Dos días después de los bombardeos, se tomaron algunos explantes para la realización de la expresión transitoria lograda gracias al gen reportero GUS (Fig. 1c). El resto se sometió a selección en presencia de Basta® durante 8 meses para evitar escapes. Posteriormente se procedió al enraizamiento *in vitro* y etapa de pre-aclimatización, para que, finalmente se llevara a cabo la su aclimatización en el invernadero.

**Resultados y discusión.** El explante que dio mejor resultado fue el coleóptilo en el medio MS suplementado con  $4\text{mgL}^{-1}$  BAP,  $0.5\text{mgL}^{-1}$  ANA, así como  $100\text{mgL}^{-1}$  tanto de ácido cítrico como de ácido ascórbico, 3% azúcar y  $3\text{gL}^{-1}$  Gellan®. Se regeneraron a partir de cada explantes un promedio de 21 individuos de *novo* en un lapso de 4 meses. La concentración de Basta® de  $1.5\text{mgL}^{-1}$  resultó eficiente para la selección, y los parámetros físicos de bombardeo en donde se obtuvieron los mejores resultados fueron: 13 cm de distancia entre el explante y la salida de las balas con balas del tamaño M5.

**Conclusiones:** Es factible obtener plantas transgénica de sorgo a partir de coleóptilo bombardeados a una distancia de 13 cm, con balas M5 y sometándolo a un estricta selección con  $1.5\text{mgL}^{-1}$  de BASTA después del bombardeo para evitar posibles escapes y con ellos plantas no transformadas.

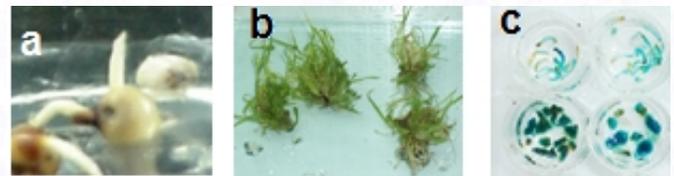


Fig. 1 a) Coleóptilo b) Regeneración de novo a partir de un coleóptilo. c) Expresión transitoria de GUS

**Agradecimientos.** Al Laboratorio de Cultivos Vegetales del Conjunto E, Facultad de Química, UNAM, por el soporte logístico y técnico y SAGARPA-2004-CO1-24 por el financiamiento.

### Bibliografía.

1. Lenand R. House, 1982. La planta de sorgo. En: *El sorgo. Guía para su mejoramiento genético*. UAC México 25-47.
2. SAGARPA. Sistema Nacional de Consulta SIACÓN. 2002. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola.
3. Able J., Rathus C., Godwin I. (2001) The investigation of optimal bombardment parameters for transient and stable transgene expression in sorghum. *In Vitro Cell. Dev. Biol.- Plant* Vol. 37: 341-348.
4. Zhao Z, Cai T., Tagliani L., Miller M. (2000) *Agrobacterium*-mediated sorghum transformation *Plant Molecular Biology* Vol.44: 789-798, 2000.