



TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE CALLOS EMBRIOGÉNICOS DE MAÍZ (*Zea mays* L) CON EL GEN DE LA GLICOPROTEÍNA G DEL VIRUS DE LA RABIA.

Ma. de Jesús Jiménez Villalobos, Ma. Teresa de Jesús Olivera F., Octavio Guerrero A., Miguel Ángel Gómez, L. Elizabeth. Paseo de la Investigación, Edificio "E", Fac. de Química, Ciudad Universitaria, 56225329, e-mail cladograma@yahoo.com.mx.

Palabras claves: maíz, biobalística, rabia.

Introducción. Gracias a que la biobalística ha permitido la transformación genética en maíz, éste ha sido empleado como una planta productora de proteínas heterólogas como la avidina; también ha fungido como una especie candidata en la producción de vacunas comestibles para prevenir enfermedades en animales, especialmente de interés económico. La rabia bovina parálitica, en México, es una enfermedad de interés tanto sanitario como económico, causando graves pérdidas económicas. La proteína G del virus de rabia interactúa con el sistema inmune provocando una respuesta inmune secundaria, siendo una proteína candidata para una vacuna comestible (1).

El presente trabajo tuvo como objetivo la transformación genética de callos embriogénicos de maíz mediada por biobalística con el gen de la glicoproteína G y los genes *gus* y *bar*.

Metodología. Se estableció el cultivo de callos embriogénicos de maíz y la transformación genética por biobalística. Se probaron diferentes concentraciones (0, 1, 2 y 3 mg/L) de Basta™ para determinar la concentración óptima con la que se seleccionaron los callos bombardeados hasta su regeneración a planta *in vitro*. Las plantas obtenidas, por selección, se dejaron crecer a etapa adulta *ex vitro* y se verificó la inserción del transgen de interés (a nivel DNA) en un grupo de 15 plantas juveniles por PCR, hibridación y análisis de secuencias por BLAST (2).

Resultados y discusión. La obtención de callo embriogénico en maíz fue del 100%. La selección de callos transformados se realizó durante 5 meses a una concentración de 3 mg/L de Basta™; durante dicho período, se observaron zonas necrosadas (de color café) y zonas verdosas (zonas viables) lo que indicó que en éstas últimas, las células integraron el gen *bar* (confiere resistencia) y, muy probablemente, el gen de interés. El Basta™ tiene como ingrediente activo el glufosinato de amonio que bloquea la función de la Glutamina sintetasa, provocando un aumento en la concentración de amonio en el interior de la célula y la muerte de ésta (3). La selección se mantuvo en la regeneración para evitar escapes regenerando 198 plantas de maíz fenotípicamente normales. El porcentaje de plantas analizadas, por PCR e hibridación de los productos, que expresaron el gen de la glicoproteína G del virus de rabia fue de 73.33% (fig. 1) mostrando una identidad del 98% de la

secuencia del producto PCR con la establecida en el GenBank. Estos resultados indican que el sistema de transformación en callo embriogénico de maíz es eficiente lo mismo que la selección, pues ofrece una capacidad de totipotencia lo mismo que morfogenética, condiciones indispensables para obtener un alto número de plantas; además, por estar en constante división mitótica, favorece la inserción del transgen de interés al genoma nuclear (4).

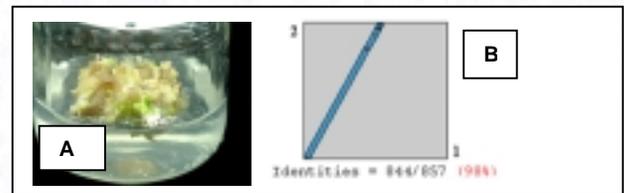


Fig. 1. A Callo en selecciones y B Gráfica de comparación de la secuencia del producto de PCR con la Vnukovo-32 (no. X71879)

Conclusiones. Se logró obtener plantas adultas fenotípicamente normales de maíz a partir de callos embriogénicos transformados por la técnica de biobalística. Se demostró la presencia del gen de la proteína G del virus de rabia en un 73.33% del grupo de plantas analizadas.

Agradecimiento. A CONACyT por el proyecto G34635B, Expresión de la proteína G del virus de rabia en plantas transgénicas de maíz y su evaluación como inmunógeno oral en bovinos.

Bibliografía.

1. Streatfield, S, Jeffrey, L y Christopher, A (2003). Corn as production systems for human and animal vaccine. *Vaccine*. 22 (1): 812-815.
2. Gordom-Kam, W, Spencer, M y Mangano, M (1990). Transformation of maize cells and regeneration of fertile transgenic plants. *The Plant Cell* 2: 603-618.
3. Lea, P (1991). The inhibition of ammonia assimilation: a mechanism of herbicide action. En: *Herbicides*. Baker, N. Elsevier Science, USA. 267-298.
4. Delano, J, Schmidt, AM y Wall, E (2003). Detection and identification of genetically modified maize, soybean and canola by multiplex PCR analysis. *J Agric Food Chem* 51: 5829-583.