



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



UTILIZACIÓN DE VECTORES PARA LA TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE CLOROPLASTOS DE MAÍZ (*Zea mays*).

Carlos A. Domínguez-Solís., Hugo Varela-Rodríguez., Gerardo A. Aguado-Santacruz., Tania S. Siqueiros-Cendon., Sigifredo Arévalo-Gallegos., Quintín Rascón-Cruz*.

*Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Circuito No. 1 Nuevo Campus Universitario s/n, CP 31125, Apartado Postal 669 y 1542-C. Chihuahua, Chih., México. (614) 236-6000 grascon@uach.mx

Palabras clave: Transformación cloroplastídica, maíz, GM.

Introducción. Debido a la creciente preocupación de que los cultivos modificados genéticamente (GM) puedan transferir genes a través del polen a plantas relacionadas (silvestres), es necesario proponer estrategias para la contención de estos. El uso de la ingeniería genética del cloroplasto para promover la herencia materna de los transgenes es altamente deseable para aquellas instancias que involucran un potencial riesgo de flujo de genes entre cultivos GM o entre plantas tipo silvestre y cultivos GM. La transformación genética del genoma de cloroplasto puede disminuir la transferencia de genes no deseados debido a que los genes del cloroplasto son heredados por vía materna en la mayoría de las plantas.⁽¹⁾

El objetivo de este proyecto, fue evaluar la capacidad de recombinación homóloga de vectores para la transformación genética del cloroplasto de maíz (*Zea mays*).

Metodología. Los vectores pTBg5kaadA y el pTBg5kP2-aadA-nptII con regiones de recombinación homóloga de pasto (*Bouteloua gracilis*) flanquean el transgen aadA y aadA-nptII respectivamente y, el vector pLPC135kP12-aadA-nptII que tiene secuencias de recombinación homóloga de maíz, flanquean el transgen aadA-nptII. Se utilizó como método de transformación la biobalística.⁽²⁾ El material transformado fue seleccionado en presencia de estreptomycin y analizado por Southern Blot.⁽³⁾

Resultados. El análisis por Southern Blot de muestras bombardeadas con el vector pTBg5kaadA indicó la presencia del transgen aadA en el genoma de cloroplasto de dos muestras. La búsqueda del transgen aadA-nptII utilizando los vectores pTBg5kP2-aadA-nptII y pLPC135kP12-aadA-nptII no fueron concluyentes, aun así, indican la posible presencia del transgen.

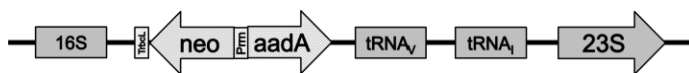


Fig. 1. Mapa del vector pTBg5kP2-aadA-nptII con genes de recombinación homóloga para *Bouteloua gracilis*.



Fig. 2. Mapa del vector pTBg5kaadA con genes de recombinación homóloga para *Bouteloua gracilis*.

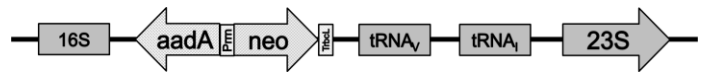


Fig. 3. Mapa del vector pLPC135kP12-aadA-nptII con genes de recombinación homóloga para *Zea mays*.

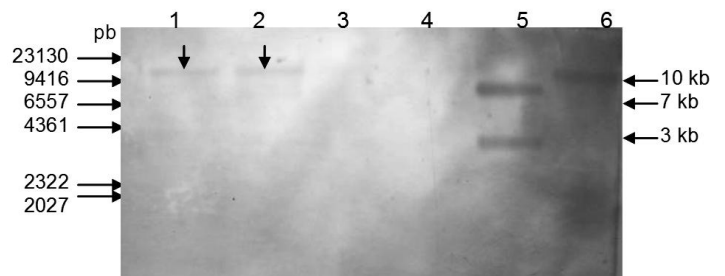


Fig. 4. Southern Blot de ADN de muestras de maíz hibridadas con la sonda aadA-Dig. Carril 1, línea L20; carril 2, línea L43; carril 3, línea L49; carril 4, ADN nativo de maíz, control (-), carril 5, vector de Bg; carril 6, vector de Zm.

Conclusiones. La presencia del transgen aadA en el genoma de cloroplasto de dos muestras, evidencia la capacidad de recombinación homóloga del vector pTBg5kaadA. Es necesario realizar más análisis moleculares para confirmar la capacidad de recombinación homóloga de los vectores pTBg5kP2-aadA-nptII y pLPC135kP12-aadA-nptII.

Agradecimientos. A la FCQ-UACH y CONACYT por el apoyo otorgado para la realización del proyecto.

Bibliografía.

1. Nixon, P., Maliga, P., Dougan, G. y Treoning, J. (2004) New advances in the production of edible plants vaccines: chloroplast expression of a tetanus vaccine antigen, TetC. *Phytochemistry*. 65:989-994.
2. Morrish, F., Songstad, D., Armstrong, L., Fromm, m. (1993) Microprojectile bombardment: A method for the production of transgenic cereal crop plants and the functional analysis of genes. *Transgenic Plants: Fundamentals and Applications*. pp. 133-171.
3. Rascón-Cruz, Q., Sinagawa-García S., Osuna-Castro J., Bohorova N. y Paredes-López O. (2004) Assembly, accumulation and digestibility of amarantin expressed in endosperm of transgenic tropical maize. *Theor. Appl. Genet.* 108:335-342.