

PROTEÍNAS RELACIONADAS CON LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA TEMPRANA EN ALFALFA (*Medicago sativa* L.)

Margarita Ivonne Garrido Gutiérrez y Thelma Lilia Villegas Garrido

Lab. de Cultivo de tejidos vegetales, Depto. de Biofísica, ENCB, IPN, Prol. de Carpio y Plan de Ayala, Col. Casco de Santo Tomás, 11340, Fax: 5396-3503 migarrido@hotmail.com

Palabras clave: Embriogénesis somática, marcadores moleculares de embriogénesis, alfalfa

Introducción. En la embriogénesis somática las células somáticas de algunas especies vegetales son cultivadas e inducidas a formar embriones capaces de desarrollar plantas maduras. Se sabe que proteínas específicas se expresan durante el proceso de embriogénesis somática. Éstas, se consideran marcadores moleculares y se han identificado en plantas mono y dicotiledóneas; pueden ser utilizadas para caracterizar cultivos embriogénicos, así como para elucidar los mecanismos moleculares de la diferenciación celular. Actualmente, se están realizando estudios con anticuerpos para la determinación de marcadores moleculares pues se ha podido discernir su regulación y su participación en etapas tempranas de la embriogénesis somática (1). Por ello, este trabajo tuvo la finalidad de identificar proteínas relacionadas con la embriogénesis somática temprana en alfalfa haciendo uso de técnicas inmunológicas.

Metodología. Se realizó un análisis comparativo de los perfiles electroforéticos obtenidos con geles de poliacrilamida (en condiciones desnaturalizantes) y por western blot de las proteínas solubles de callos obtenidos de clones embriogénicos y no embriogénicos de la variedad *Reagelander* de alfalfa. Los callos se derivaron de cultivo *in vitro* bajo condiciones de inducción para la respuesta embriogénica. Asimismo, se analizaron proteínas del explante (peciolo) y de los embriones somáticos desarrollados. El antisuero se elaboró contra proteínas solubles de callos embriogénicos. Además, se hizo un análisis inmunocitoquímico de las células cultivadas en suspensión de ambas clones.

Resultados y Discusión. Se encontraron proteínas específicas de callos embriogénicos (1, tabla 1) que no se encontraron en callos no embriogénicos (2) y tampoco en el explante (5) que le da origen, así como en los embriones somáticos (3) que se desarrollaron. Durante el proceso de inducción en la embriogénesis somática en alfalfa, fue evidente que existen proteínas que se expresan *de novo* pues no se presentan en el explante (4). Asimismo, se observó que proteínas de callos no embriogénicos no se expresan en los callos embriogénicos. Esta aparente pérdida de especies proteicas posiblemente esté asociada con el potencial de regeneración en los callos embriogénicos.

En el estudio inmunocitoquímico se encontró que el

Tabla 1. Proteínas identificadas durante la embriogénesis somática en alfalfa.

Peso molecular (kDa)						
1*		2*		3*	4*	5*
230	153	234	72.1	270	84.8	227
205	144	187	27.3	237	70.1	211
73.2	140	172	12.1	202	35.6	83.1
193	114	142	10.9	87.3	26.1	81.2
182	73.2	115		62.3		33.8
169	63.2	92.6		47.7		

* ver texto.

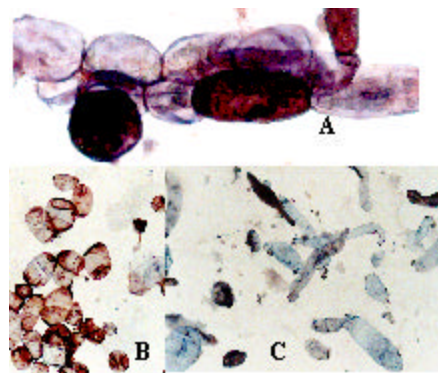


Figura 1. Células que reaccionaron con el antisuero producido (color rojo). A: células al inicio de la inducción, 32x. B: células embriogénicas en cultivo en suspensión, 36x. C: células no embriogénicas, 17x.

antisuero producido contra proteínas de callos embriogénicos reacciona sólo con las células de la clona embriogénica (figura 1). El y/o los antígenos que reconoce el antisuero están por determinarse ya que este es un trabajo preliminar para la generación de reactivos específicos de marcadores moleculares de la embriogénesis somática.

Conclusión. Se logró identificar proteínas relacionadas con el proceso de embriogénesis somática en alfalfa con el antisuero producido; alguna o algunas de estas proteínas se encuentran localizadas en la superficie celular de la clona embriogénica.

Agradecimiento. Esta investigación fue sustentada por una beca otorgada por el CONACyT a Garrido Gutiérrez.

Bibliografía.

1. Knox, J.P. (1997). The use of antibodies to study the architecture and developmental regulation of plant cell wall. *Inter. Rev. Cytol.* 17:79-120.