

## ESTUDIO DE LAS PROTEÍNAS DE RESERVA EN EMBRIONES SOMÁTICOS DE ALFALFA (*Medicago sativa L*) POR CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO.

**Irene Reza Juárez y Thelma L. Villegas Garrido, Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales Depto. de Biofísica E.N.C.B. del I.P.N., Plan de Ayala, Esquina Prolongación de Carpio s/n Col. Casco de Santo Tomás CP 11340, México D.F. fax 53412345, \* ireza\_74@hotmail.com, thelmav@prodigy.net.mx.**

**Palabras clave: embriogénesis, somática, calorimetría.**

**Introducción.** Bajo el nombre genérico de cultivo de tejidos vegetales (CTV), se agrupan un conjunto de metodologías que tienen el objetivo común de reproducir y crecer plantas completas, células, tejidos u órganos derivadas de las mismas en condiciones “*in vitro*”, empleando medios de cultivo y condiciones de incubación apropiados. Un campo de estudio muy importante del CTV lo constituye la embriogénesis somática, donde ocurre la formación de estructuras bipolares “*in vitro*” a partir de células somáticas que se determinan bajo condiciones de cultivo permisivas. La formación de embriones somáticos plantea posibilidades importantes de desarrollo tecnológico en la biotecnología vegetal moderna, que van desde la micropropagación de especies de importancia económica y/o social, hasta la formación de semillas somáticas ó artificiales. En el caso de semillas somáticas, se han definido a las proteínas como parámetros para evaluar la calidad de los embriones en cuanto a su viabilidad, por lo que en este trabajo se realizó un estudio de las proteínas por calorimetría diferencial de barrido para posteriormente realizar un estudio de su deposición..

**Metodología.** Para la obtención de los embriones somáticos de alfalfa *Medicago sativa L.* en etapa globular, torpedo joven, torpedo maduro y cotiledonar, se realizó la metodología optimizada por Ventura (1998) . Se realizó la extracción de las fracciones protéicas de albúminas y globulinas utilizando la marcha de Osborne (1924); después se determinó la cantidad de proteína contenida en las muestras por el método de Bradford (1976) y se realizó el estudio por calorimetría diferencial de barrido de las proteínas correspondientes a la fracción de globulinas debido a que poseen las proteínas 11S, 7S y 2S características de las proteínas de reserva en alfalfa (Villegas G., 1991).

**Resultados y Discusión.** En la figura 1 se muestra el diagrama de obtención de los embriones somáticos de alfalfa:

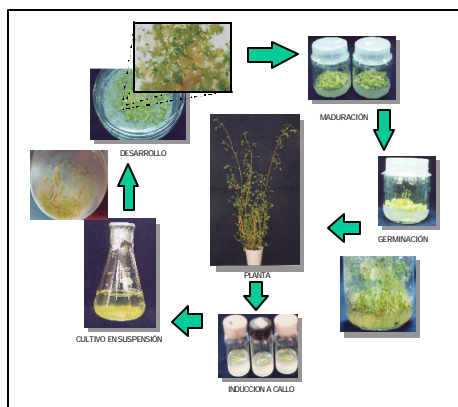


Figura 1. Embriogénesis somática en alfalfa

Se realizó la extracción de las fracciones protéicas y se cuantificaron con la curva tipo  $A_{595}=0.4996C+0.004$ , en donde  $A_{595}$  es la absorbancia a 595 nm y  $C$  la concentración en  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  con un coeficiente de correlación de 0.99. El estudio calorimétrico se realizó con una concentración de  $2\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , los resultados se muestran en el cuadro siguiente:

	Globular	T.joven	T.maduro	Cotiledonar
Proteína (mg)	0.6	0.6	0.6	0.6
Entalpía (J/g)	3534000	5568000	4441000	3897000
Ti (°C)	22.1	53.57	48.88	67.63
Tmax (°C)	51.03	99.31	99.58	99.48
Tpicos (°C)	103.18,105.92	106.1	106.27	106.79
Tfinal (°C)	71.23	117.86	105.8	105.8

El estudio realizado es denominado como del estándar puntual, en el cual se fija una concentración para realizar la identificación de una muestra.

Por otra parte, una vez que se identifica la muestra se procede a realizar la curva tipo a diferentes concentraciones de proteína para posteriormente realizar el estudio de la deposición de las mismas, pero esta información corresponde a otro bloque de resultados.

**Conclusiones.** Las características de las globulinas para las muestras de T. joven, T. Maduro, y Cotiledonar son sumamente semejantes; por lo que esto indica que corresponden a un mismo tipo de muestra.

**Agradecimiento.** Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (**inifap**), campo experimental Valle de México, al CONACyT y al Instituto Politécnico Nacional por el apoyo otorgado.

### Bibliografía.

- Bradford M. M. (1976) “ A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding”. *Analytical biochemistry*. 72: 248-254.
- Osborne, T. B. (1924) *The Vegetables Proteins* (London: Longmans Green), citado por Shewry, P. R. ; Johnathan, A Napier y Arthur S. Tatham 1995. *Seed Storage Proteins: Structures and Biosynthesis. The Plant Cell*. 7: 945-956.
- Ventura, Z.E. (1998) Estudio para la optimización de la cantidad, calidad y preservación de los embriones somáticos de alfalfa (*Medicago sativa L.* Var. A70-34) Tesis Doctoral, ENCB del IPN, México,D.F. pp 36
- Villegas, G.T.L. (1991) Embriogénesis somática en *Medicago sativa L.* y la Fisiología de su desarrollo. Tesis Doctoral, ENCB del IPN, México,D.F. pp193.