

**ESTUDIO DE LA SÍNTESIS Y DEPOSICIÓN DE PROTEÍNAS DE RESERVA  
EN EMBRIONES SOMÁTICOS DE ALFALFA (*Medicago sativa*) EN DESARROLLO  
POR INMUNODETECCIÓN.**

Nayeli B. Hernández Mejía\* y Thelma L. Villegas Garrido

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del I.P.N. Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales  
Departamento de Biofísica. Carpio y Plan de Ayala, Col Casco de Sto. Tomás, México D.F., c.p. 11340

Fax 53412345, E-mail:

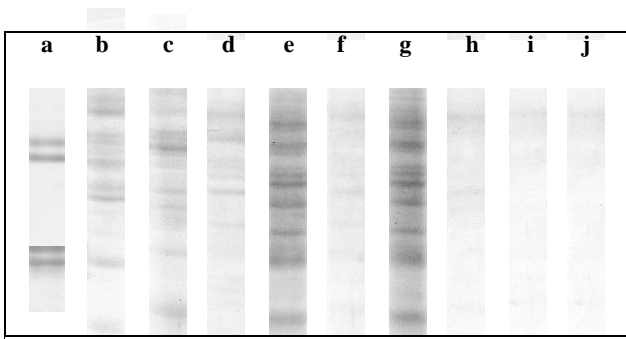
\* [smart\\_qbp@hotmail.com](mailto:smart_qbp@hotmail.com) , [thelmav@prodigy.net.mx](mailto:thelmav@prodigy.net.mx)

**Palabras clave:** Embrión somático, Proteínas de reserva, Inmunodetección

**Introducción.** Desde el punto de vista Biotecnológico, la capacidad de síntesis y acumulación de proteínas de reserva es un criterio que debe ser tomado en cuenta para mejorar la calidad de los embriones somáticos producidos en el laboratorio. Las proteínas de reserva juegan un papel muy importante en el desarrollo de la planta debido a que son fuente de aminoácidos que serán utilizados durante la germinación y crecimiento(1). Hasta el momento la única forma de poner de manifiesto la deposición de las proteínas de reserva en los embriones somáticos en desarrollo es mediante sus patrones electroforéticos. En este trabajo se propone un método altamente específico para este fin.

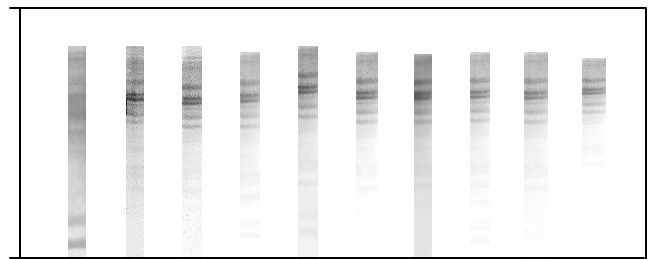
**Metodología.** Para la extracción de proteínas de cada uno de los estados de desarrollo del embrión somático se siguió la marcha de Osborne. Se cuantificaron por el Método de Bradford y se corrieron en geles de poliacrilamida al 12.5 % para determinar su pureza. Se obtuvieron anticuerpos contra globulinas utilizando conejos de la cepa Nueva Zelanda Blancos siguiendo un esquema de inmunización de 40 días. Los geles fueron transferidos a membranas de nitrocelulosa a 100 V por 4 hrs ya en un regulador de Tris 25 nM, Glicina 192 mM pH de 8.3, se hizo la inmunodetección.

**Resultados y Discusión.** Los patrones electroforéticos de las proteínas de reserva se muestran en la Figura 1, donde se aprecia claramente que la proteína que predomina en el embrión somático tal y como se menciona en la literatura es la 7S (2). Por otro lado si observamos los patrones electroforéticos de los estados de torpedo maduro y cotiledonar en su fracción de albúminas (A) y globulinas (G), notamos que a simple vista parece que



**Fig. 1** Patrón electroforético de proteínas de reserva de semilla de embriones somáticos: a) 11S, b) 7S, c, d) Globular (A y G); e, f) Torpedo joven (A,G); g, h) Torpedo maduro (A y G); i, j) Cotiledonar (A y G).

la cantidad de proteína de reserva es casi nula, por lo que se pensaría que en los últimos estados de desarrollo del embrión hay muy poca proteína de reserva almacenada, esto nos llevó a utilizar un método que fuera sensible y útil para detectar específicamente a la proteína de reserva depositada, y confirmar los resultados obtenidos en la electroforésis, la inmunodetección fue el método ideal para este fin. Después de poner en contacto los anticuerpos anti-globulinas y la membrana con las proteínas inmovilizadas se encontraron los patrones de la Figura 2, con ellos se confirma que efectivamente la proteína 7S predomina sobre la 11S, sin embargo si se observan los carriles h, i, j notamos que existe una deposición de proteína en los últimos estados de desarrollo del embrión somático lo que nos indica que el embrión es capaz de almacenar proteína de reserva. De aquí deriva la continuación de este trabajo: cuantificar las proteínas de reserva en embriones somáticos con un método altamente específico como la ELISA y comparar los resultados obtenidos con la cuantificación por Bradford.



**Fig. 2** Inmunoblots de Proteínas de reserva de semilla y de embriones somáticos: a) 11S, b) 7S, c, d) Globular (A,G), e, f) Torpedo joven (A,G); g, h) Torpedo maduro (A,G); i, j) Cotiledonar (A, G).

**Conclusiones.** La inmunodetección es un método altamente específico y útil en la identificación del tipo de proteína depositada en el embrión en desarrollo. Los resultados obtenidos revelaron que el embrión somático es capaz de almacenar proteínas de reserva en su etapa cotiledonar.

**Bibliografía.**

1. Shewry, P.R. (1995). Seed Storage Proteins: Structures and Biosynthesis. *The Plant Cell*. 7: 945-956.
2. Krochko, J.E. et al. (1992). Contrasting Storage Protein Synthesis and Messenger RNA Accumulation during Development of Zygotic and Somatic Embryos of Alfalfa. *Plant Physiol.* 99: 46-53.