

REGENERACIÓN Y TRANSFORMACIÓN DE CALLOS EMBRIOGÉNICOS DE AGUACATE HASS (*Persea americana* Mill.) CON EL GEN REPORTERO *GUS*

Juan Luis Godoy¹, Eduardo Cofradía², Moisés Sánchez¹, María de la Cruz Espíndola³, Juan Carlos Raya², Gabriel Iturriaga², Anareli Quintero¹.

¹ Universidad de Guanajuato Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Programa de Ingeniería en Biotecnología, Av. Mutualismo Esq. Prolongación Río Lerma S/N, Celaya, Gto. C.P. 38060.

² Tecnológico Nacional de México/I.T. Roque, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Celaya, Gto. C.P. 38110.

³ Fundación Salvador Sánchez Colín, CICTAMEX, S.C. Ignacio Zaragoza núm. 6, Coatepec Harinas, Edo. Mex. C.P. 51700.

quintero.a@ugto.mx

Palabras clave: Aguacate, *Agrobacterium tumefaciens*, Transformación

Introducción. El aguacate Hass (*Persea americana* Mill.) es importante en la dieta diaria por su alto contenido nutricional. Sin embargo, es una especie susceptible a factores bióticos y abióticos que merman su productividad. La transformación genética, se presenta como oportunidad para solucionar estas limitantes y así mejorar características de interés. Para identificar las condiciones óptimas de transformación se utilizan genes reporteros tales como el de β -glucuronidasa (*GUS*). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo es obtener un sistema de regeneración y transformación de aguacate Hass con el gen *GUS*.

Metodología. Frutos de aguacate Hass de 0.6 a 1.0 cm se colectaron del banco de germoplasma de CICTAMEX. Embriones cigóticos (EC) en etapa globular se usaron como explante. El sistema de regeneración vía embriogénesis somática es de acuerdo con las condiciones reportadas por Quintero-Jiménez *et al.*, (1). Se realizaron ensayos de transformación con dos cepas de *A. tumefaciens* (EHA105 y LBA4404), a diferentes concentraciones de acetosiringona (50, 100 y 200 μ M), tres densidades ópticas (0.4, 0.6 y 0.8) y dos tiempos en cocultivo (24 y 48 h). Posteriormente se transfirieron a medio de eliminación y selección con Timentina y Kanamicina. Después, se realizó la histoquímica de *GUS*.

Resultados. De los EC cultivados en medio con 0.1 mg/L de picloram se desarrollaron callos embriogénicos a los 30 días después de su incubación. Trascurrido este tiempo comenzaron a diferenciarse y madurarse los embriones somáticos. Estos germinaron a los 30 días después de su maduración. Las plantas completas se adaptaron adecuadamente en invernadero (Fig. 1.) Las mejores condiciones para la transformación genética fueron utilizando la cepa LBA4404, a una DO₆₀₀ de 0.6 con 100 μ M de acetosiringona y 24 h en cocultivo, ya que se observó mayor actividad de *GUS* (Fig. 2.)

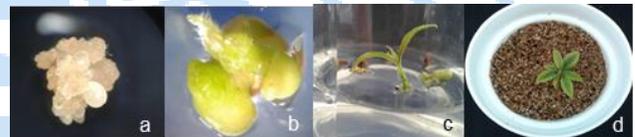


Fig. 1. Regeneración de aguacate Hass vía embriogénesis somática. a) Callos embriogénicos, b) germinación de embriones somáticos maduros, c) enraizamiento, d) aclimatación.

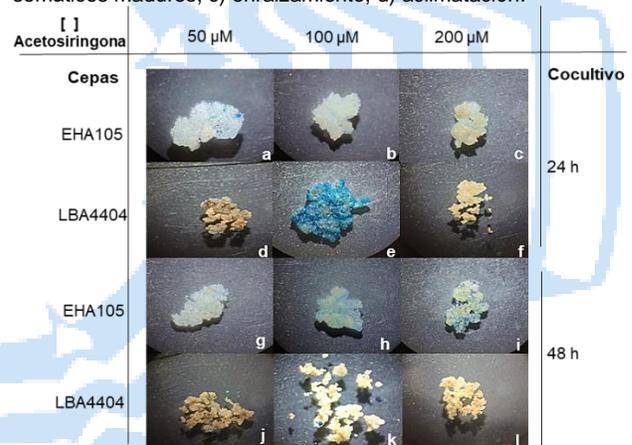


Fig. 2. Expresión del gen *GUS* en callos embriogénicos de aguacate Hass transformados con *A. tumefaciens* (DO₆₀₀ 0.6) en diferentes condiciones de transformación.

Conclusiones. Se estableció un protocolo para la regeneración *in vitro* de plantas de aguacate Hass y se identificaron las mejores condiciones de transformación genética. Estos resultados muestran las bases de un sistema de transformación de callos embriogénicos el cual facilitará estudios futuros en el mejoramiento genético por transformación y mutaciones sitio dirigidas con CRISPR/Cas9

Agradecimiento. Este trabajo lo financió el Tecnológico Nacional de México, proyecto 14566.22-P.

Bibliografía.

1. Quintero-Jiménez, A., Heredia-García, E., Aguirre-Mancilla, C. L., Raya-Pérez, J. C., Ramírez-Pimentel, J. G., e Iturriaga, G. (2020). REMEXCA. 11(7), 1525-1536.