

OBTENCION DE RAÍCES TRANSFORMADAS DE *Solanum lycopersicum*

Isabel Méndez Ponce¹, Ada Ríos Cortés¹, Octavio Gómez Guzmán², Graciano Calva Calva², Víctor Eric López y López¹. ¹CIBA-Instituto Politécnico Nacional, Carretera Estatal km 1.5, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, C.P. 90700, ²CINVESTAV-IPN, Av. IPN 2508, GAM, Cd. De México, C.P. 07360, vlopezyl@ipn.mx, mantiz22@hotmail.com

Palabras clave: Transformación de raíces, *Agrobacterium rhizogenes*, *Solanum lycopersicum*

Introducción. La transformación genética mediada por *A. rhizogenes* ha sido utilizada para la formación y el incremento de pelos radicales que han sido apropiados para la producción de metabolitos secundarios por su estabilidad y alta producción como una fuente de potencial farmacéutico (1). *A. rhizogenes* posee un plásmido inductor de la formación de raíces, llamado Ri (root-inducing), que trasfiere un fragmento de ADN, llamado T-DNA, a las células vegetales que infecta (2). En este T-DNA se encuentra los genes que, una vez integrados y expresados en la planta huésped, dan lugar a la formación de gran cantidad de raíces. La transformación de raíces en la cual se busca la producción de tejido radicular, ha tenido un gran impacto en la biotecnología vegetal, por lo tanto esto nos lleva a la búsqueda de nuevas especies vegetales que sean viables para la transformación en donde es importante que los hospederos tengan la características de un ciclo de vida de corto tiempo además de que sean manipulables para la transformación. Por esta razón las plantas de jitomate poseen dichas características además de que su crecimiento es rápido. Por lo que el objetivo de este trabajo fue realizar la transformación de raíces en *Solanum lycopersicum* (jitomate), evaluando cualitativamente el desarrollo de una gran masa de tejido radicular en un corto tiempo. Esto nos permitirá generar nuevas plataformas biotecnológicas para varios fines como la producción de metabolitos o la producción de organismos asociados a raíces.

Metodología. Las semillas de jitomate, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio, fueron germinadas *in vitro* en medio MS semisólido al 50% en frascos magenta, a 23°C en total oscuridad. Después de 15 a 20 días de crecimiento de las plántulas, se procedió a la transformación de raíces por el método modificado de K. Labour and M. St-Arnaud (2003), a partir de una suspensión de *A. rhizogenes* LBA9402. Posteriormente fueron incubadas a 23°C con un fotoperiodo de 16/8 (luz/oscuridad en h) hasta que se observó el crecimiento de las raíces en el área del tallo de la plántula donde fue pinchada para la inoculación. Los fragmentos de los tallos donde aparecieron los brotes de tejido radicular de cada una de las plántulas, fue fragmentado (explante) y colocados en un nuevo matraz con medio MS líquido al 50% adicionado con cefotaxima para la eliminación de *A. rhizogenes*, posterior a este, se realizaron dos subcultivos más, uno con antibiótico y segundo sin antibiótico.

Resultados. En la **fig. 1a** se muestra el crecimiento de la plántula de entre 10 y 15 días de después de la inoculación, en la **fig. 1b** se observa el desarrollo de las raíces en el hipocótilo de las plántulas donde se realizó el inóculo. Cada fragmento desarrolló el crecimiento de tejido radicular en medio de cultivo líquido después del explante (**fig. 2a**) y dos subcultivos más (**fig. 2b y 2c**). Estas raíces desarrolladas muestran la característica de crecimiento y desarrollo de raíces secundarias, lo cual es

característico del gen Ri de *A. rhizogenes*. Por otro lado, se puede observar en el experimento control cuando se inoculó agua que no hubo una transformación (**fig. 3a y 3b**), ya que el explante desarrolló tejido vegetal aéreo en lugar de tejido radicular.



Figura 1. Plántulas para transformación de raíces. 1a). Se muestra el desarrollo de plántulas de jitomate de 15 a 20 días después de la germinación, mientras que en la figura 1b se muestra la técnica de inoculación con *A. rhizogenes*.



Figura 2. Desarrollo de raíces 2a) Explante, 2b) desarrollo del 1er subcultivo y 2c) desarrollo del 3er subcultivo.

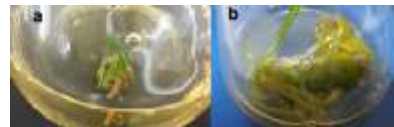


Figura 3. Raíces no transformadas. 3a) Desarrollo de tejido vegetal y 3b) Tejido vegetal aéreo bien diferenciado.

Conclusiones. Mediante esta técnica se logró establecer la transformación de raíces en jitomate, donde se puede observar un buen desarrollo del tejido radicular desde el explante y los subcultivos en medio de cultivo líquido a comparación del método convencional donde el explante y los dos pases posteriores son desarrollados en medios semisólidos. De esta manera se pueden obtener raíces transformadas de jitomate de una manera rápida que nos puede permitir establecer plataformas biotecnológicas para distintas aplicaciones.

Agradecimientos. Al Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV y Programa de Beca de Estímulo Institucional de Formación de Investigadores (BEIFI).

Bibliografía.

- Sevon, N. and Oksman K. M., (2002). *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation: root culture as a source of alkaloids. *Plant Medica*. Vol. 10, pag. 859-868.
- Valderrama F, A. M., Arango I, R. y Afanador Kafuri, L. (2005) Transformación de plantas mediada por *Agrobacterium*: "Ingeniería Genética Natural Aplicada". *Rev. Fac. Nal. Agro. Medellín*. Vol. 59, 1, p. 2569-2585.