

# CONTENIDO

|   |    |
|---|----|
| I. INTRODUCCION   | 1  |
| II. ANTECEDENTES  | 3  |
| 2.1. SISTEMATICA  | 3  |
| 2.2. IMPORTANCIA  | 4  |
| 2.2.1. Tiofenos   | 6  |
| 2.2.2. Piretrinas   | 7  |
| 2.2.3. Pigmentos carotenoides   | 7  |
| 2.2.4. Aceites esenciales y otros compuestos  | 7  |
| 2.3. PROBLEMÁTICA Y ALTERNATIVAS PARA LA PRODUCCION DE<br>METABOLITOS SECUNDARIOS EN ESPECIES DEL GENERO <i>Tagetes</i> | 9  |
| 2.4. EL CULTIVO DE PROTOPLASTOS Y SU EMPLEO EN EL<br>MEJORAMIENTO GENETICO  | 12 |
| 2.4.1. Aislamiento y purificación de protoplastos   | 13 |
| 2.4.2. Cultivo de protoplastos  | 15 |
| 2.4.3. Empleo de protoplastos en el mejoramiento genético   | 17 |
| 2.5. CULTIVO DE PROTOPLASTOS EN LA FAMILIA COMPOSITAE   | 18 |
| III. OBJETIVOS  | 20 |
| IV. MATERIALES Y METODOS  | 21 |
| 4.1. MATERIAL BIOLOGICO   | 21 |
| 4.2. EFECTO DE FITORREGULADORES SOBRE LA MORFOGENESIS<br>A PARTIR DE EXPLANTES FOLIARES                                 | 21 |
| 4.3. AISLAMIENTO Y PURIFICACION DE PROTOPLASTOS   | 23 |
| 4.4. CULTIVO DE PROTOPLASTOS  | 25 |
| 4.4.1. Cambios de medio de cultivo  | 25 |
| 4.5. DETERMINACION DE LA VIABILIDAD DE PROTOPLASTOS   | 26 |
| 4.6. DETERMINACION DE LA REGENERACION DE LA PARED CELULAR   | 26 |
| 4.7. DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE CELULAS DIVIDIDAS  | 27 |
| 4.8. INDUCCION DE MORFOGENESIS A PARTIR DE PROTOPLASTOS   | 27 |
| 4.8.1. Formación de microcolonias y microcallos   | 27 |

|   |    |
|---|----|
| V. RESULTADOS Y DISCUSION                   | 29 |
| 5.1. EVALUACION DE LA CAPACIDAD MORFOGENICA | 29 |
| 5.2. AISLAMIENTO DE PROTOPLASTOS            | 33 |
| 5.3. CULTIVO DE PROTOPLASTOS                | 36 |
| 5.3.1. Viabilidad de protoplastos           | 36 |
| 5.3.2. Regeneración de la pared celular     | 38 |
| 5.3.3. División celular                     | 42 |
| 5.3.4. Desarrollo de microcolonias          | 42 |
| 5.3.5. Desarrollo de microcallos            | 45 |
| VI. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS             | 52 |
| VII. APENDICE A.                            | 54 |
| VIII. BIBLIOGRAFIA                          | 58 |

## RESUMEN

---

El género *Tagetes* incluye tres especies importantes para la obtención de metabolitos secundarios, entre los que se encuentran tiofenos, piretrinas, pigmentos y aceites esenciales; estos compuestos son actualmente utilizados o de uso potencial por la industria farmacéutica, alimenticia y agroquímica. En el presente trabajo se definieron los procedimientos y condiciones ambientales necesarias para el cultivo y morfogénesis a partir de protoplastos provenientes de tres importantes especies: *T. erecta*, *T. minuta* y *T. patula*.

En este sentido se aislaron y purificaron protoplastos a partir del mesófilo de las tres especies, estableciendo las condiciones más adecuadas para ello, particularmente en el caso de *T. patula*, que requirió de una mayor concentración celulasa. Por primera vez se describe el cultivo de protoplastos, analizando la viabilidad y regeneración de la pared celular durante los primeros días después de su iniciación.

El protocolo establecido permite alcanzar una eficiencia de plaqueo inicial con niveles semejantes a los alcanzados en otras especies de importancia económica; al igual que un mínimo nivel de eficiencia de plaqueo intermedia, dada la frecuencia con que se desarrollaron las microcolonias en los cultivos. Por último se determinó y contrastó la eficiencia de plaqueo final, a partir del número de microcallos formados, entre las tres especies y ocasionalmente se observó la formación de estructuras globulares en *T. patula* y *T. erecta* que podrían ser un indicio de la capacidad de estos cultivos para originar plantas completas, aunque no se logró comprobarlo.

Los resultados obtenidos constituyen un importante avance en relación a las respuestas reportadas por otros autores sobre especies relacionadas; aunque aún es necesario optimizar el protocolo desarrollado en el presente trabajo, para lograr la regeneración de plantas completas que posibiliten el empleo de los protoplastos como una herramienta en el mejoramiento genético de estas especies.