

# 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. PROBLEMATICA Y ALTERNATIVAS PARA LA PRODUCCION DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN ESPECIES DEL GENERO <i>Tagetes</i>	9
2.4. EL CULTIVO DE PROTOPLASTOS Y SU EMPLEO EN EL 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 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. Vialidad 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 farmaceútica, 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.