



SECRETARIA DE EDUCACION PUBLICA
DIRECCION GENERAL DE INSTITUTOS TECNOLOGICOS
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MERIDA

ITM

SELECCION DE LINEAS CELULARES DE
Lycopersicon esculentum Mill.
RESISTENTES A *Phytophthora infestans*.

OPCION 1
T E S I S



QUE PARA OPTAR POR EL TITULO DE:

INGENIERO BIOQUIMICO

PRESENTA

RAMON GUILLERMO RODRIGUEZ MARTINEZ

MERIDA, YUCATAN, MEXICO.

1 9 9 8

INDICE

INTRODUCCION	1
CAPITULO 1: ANTECEDENTES	
1.1 Descripción de la planta	
1.1.1 Taxonomía	2
1.1.2 Sinonímias	3
1.1.3 Descripción	3
1.1.4 Distribución	4
1.1.5 Limitaciones	4
1.2 El cultivo de tejidos vegetales	
1.2.1 Antecedentes históricos	5
1.2.2 Importancia del cultivo de tejidos	6
1.2.3 Factores que afectan al cultivo de tejidos vegetales	7
1.2.4 Medios de cultivo	8
1.2.5 Tipos de cultivos	
1.2.5.1 Cultivo de callos	13
1.2.5.1.1 Iniciación del cultivo	13
1.2.5.2 Cultivo de células en suspensión	14
1.2.5.2.1 Establecimiento y desarrollo del cultivo	15
1.2.5.2.2 Evaluación del crecimiento de células en suspensión	16
1.2.5.2.3 Morfología de las células en suspensión	16
1.3 El patógeno	
1.3.1 <i>Phytophthora infestans</i>	17
1.4 Selección	
1.4.1 Avances	19
1.4.2 Selección <i>in vitro</i>	21
1.4.3 Selección por resistencia a patógenos	22
CAPITULO 2: OBJETIVOS	24
CAPITULO 3: MATERIALES Y METODOS	
3.1 Materiales	
3.1.1 Material biológico	25
3.1.2 Reactivos	26
3.1.3 Material de vidrio	26
3.2 Diagrama del diseño experimental	
3.3 Métodos	
3.3.1 Desinfestación de semillas	28
3.3.2 Germinación de semillas	28
3.3.3 Inducción de callos empleando diferentes tiempos de exposición a auxina	
3.3.4 Inducción de callos de las variedades Río	29

	Grande y Peto	29
3.3.5	Curva de crecimiento de los callos	32
3.3.6	Cultivo de células en suspensión	32
3.3.7	Curva de crecimiento de células en suspensión	33
3.3.8	Cultivo y mantenimiento del hongo <i>Phytophthora infestans</i>	34
3.3.9	Preparación del agente de selección	35
3.3.10	Determinación de proteínas en el filtrado fitotóxico	36
3.3.11	Cuantificación de azúcares totales en el filtrado fitotóxico	38
3.3.12	Pruebas de fitotoxicidad sobre cultivos <i>in vitro</i>	
3.3.12.1	Crecimiento y viabilidad de cultivos en suspensión	38
CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSION		
4.1	Inducción de callos empleando diferentes tiempos de exposición a auxina	
4.1.1	Variedad Peto	41
4.1.2	Variedad Río Grande	43
4.2	Inducción de callos de las variedades Río Grande y Peto	45
4.3	Caracterización del crecimiento de los callos	49
4.4	Inducción y caracterización de crecimiento de las líneas en suspensión de las variedades Peto y Río Grande	52
4.5	Pruebas de fitotoxicidad sobre cultivos <i>in vitro</i>	
4.5.1	Sobre el crecimiento de los cultivos en suspensión	60
CAPITULO 5: CONCLUSIONES		
ANEXO		63
BIBLIOGRAFIA		68

RESUMEN

Lycopersicon esculentum es una solanácea cuyo fruto es un producto de gran importancia en la industria de alimentos a nivel mundial. Su aprovechamiento se ve limitado dada su alta susceptibilidad al ataque de hongos y otros patógenos.

Los esfuerzos para la selección de variedades tolerantes a estos ataques en plantas de tomate, han sido abordados utilizando diferentes metodologías, entre las cuales se encuentra el cultivo de tejidos vegetales, puesto que esta tecnología permite seleccionar líneas con una determinada característica favorable y que además, posean la capacidad de regenerarse en plantas completas.

En este trabajo se describen las condiciones para el establecimiento de líneas de células en suspensión de *Lycopersicon esculentum*, tolerantes a las toxinas producidas por *Phytophthora infestans*. Las condiciones óptimas para el mantenimiento de las células en suspensión utilizadas en los experimentos de selección *in vitro* fueron: medio MS adicionado con 0.5 mg/l de 2,4-D y 0.01 mg/l de cinetina. La dosis letal 50 (LD_{50}) del filtrado fitotóxico en células en suspensión de la variedad Peto fue 33.08 % v/v; por lo tanto, será la concentración que se utilizará para la resiembra periódica de las células, con el fin de poder seleccionar células tolerantes a *Phytophthora infestans*.