

CONTENIDO

Introducción.....	1
Fundamento teórico	3
1.1 <i>Tagetes erecta</i> L.....	3
1.1.1 Clasificación botánica.....	4
1.1.2 Descripción taxonómica	5
1.1.3 Distribución geográfica del <i>Tagetes erecta</i> L	7
1.1.4 Importancia económica	8
1.2 Isoprenoides	10
1.2.1 Biosíntesis de los isoprenoides a través de la ruta del ácido mevalónico (MVA) y 2C-metil-D-eritritol 4-fosfato (MEP)	11
1.2.2 Clasificación de los isoprenoides	14
1.2.3 Carotenoides	17
1.2.4 Biosíntesis de los carotenoides	17
1.2.5 Xantófilas	19
1.2.6 Luteína	20
1.3 Ingeniería genética de las plantas	21
1.4 Transformación genética de las plantas	23
1.4.2 Biobalística	24
1.4.3 Transferencia de genes mediada por <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ..	25
1.5 Vectores.....	26
1.6 Plásmidos	26
1.6.1 Vectores usados en <i>Agrobacterium</i>	27
1.6.2 Vectores co-integrados	28
1.6.3 Vectores binarios.....	28
1.6.4 Promotores.....	29
1.6.5 Marcadores de selección	30

1.6.6 Genes reporteros	31
1.6.7 β - glucuronidasa (GUS).....	32
1.7 <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	32
1.8 Transformación genética vía <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	34
1.8.1 Reconocimiento y adherencia de <i>Agrobacterium</i> a la superficie de la planta.....	35
1.8.2 Activación de los genes Vir	36
1.8.3 Generación del ADN-T	37
1.8.4 Exportación del ADN-T.....	38
1.8.5 Importación nuclear del ADN-T	39
1.8.6 Integración del ADN-T.....	40
1.9 Factores que afectan la transformación mediada por <i>Agrobacterium</i> <i>tumefaciens</i>	40
2. Objetivos	42
2.1 Objetivo general.....	42
2.2 Objetivos particulares	42
3. Diseño experimental.....	43
4. Materiales y métodos	44
4.1 Material vegetal	44
4.2 Cepas bacterianas y vectores.....	44
4.4 Transformación de la cepa LBA4404 con el plásmido pFGC1008::ISPH y pCAMBIA22301	46
4.5 Aislamiento y purificación del ADN plasmídico (minipreparaciones)	49
4.6 Asepsia y germinación.....	51
4.7 Inducción de callos	52
4.8 Determinación de la sensibilidad del callo a higromicina	52
4.9 Experimentos de transformación	53

4.9.1 Crecimiento y preparación del inóculo bacteriano para la transformación.....	54
4.9.2 Proceso de transformación	55
4.10 Análisis histoquímico de β -glucuronidasa (GUS).....	57
5. Resultados y discusión.....	58
5.1 Transformación de la cepa LBA4404 con el pFGC1008::ISPH	58
5.2 Determinación de la sensibilidad del callo a higromicina	59
5.3 Transformación de callos de ápices meristemáticos de <i>Tagetes erecta</i> con el pFGC1008::ISPH y pCAMBIA2301	62
5.3.1 Densidad óptica (D.O) del cultivo de <i>A. tumefaciens</i>	63
5.3.2 Tiempo de infección	66
5.3.3 Tiempo de cocultivo	70
5.4 Transformación de callos de ápices meristemáticos de <i>Tagetes erecta</i> con el pFGC1008::ISPH	73
6. Conclusiones.....	74
7. Perspectivas	75
8. Anexos.....	76
9. Referencias.....	78