

Índice

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Clasificación botánica.....	3
1.3 Descripción de la planta	4
1.4 Usos y aplicaciones.....	6
1.5 Estudios recientes en <i>Tagetes erecta</i> L.	8
1.6 Carotenoides	12
1.6.1 Rutas biosintéticas de isoprenoides	13
1.6.2 Biosíntesis de los carotenoides	14
1.6.3 Xantófila.....	15
1.6.4 Luteína.....	16
1.7 Importancia económica de los carotenoides	18
1.8 Cultivo de tejidos	18
1.8.1 Principios básicos del cultivo de tejidos vegetales.....	19
1.8.1.1 Concepto de meristemo.....	20
1.8.1.2 Clasificación de meristemos	21
1.8.1.3 Meristemos apicales o primarios.....	21
1.9 Medio de cultivo	22

1.10 Reguladores de crecimiento vegetal	23
1.11 Asepsia.....	25
1.11.1 Asepsia del explante (semillas)	26
1.12 Ingeniería genética de las plantas.....	27
1.13 Transformación genética de las plantas.....	29
1.13.1 Transformación genética de cultivos vegetales mediante <i>Agrobacterium</i> <i>tumefaciens</i>	31
1.13.1.1 Factores que median la transformación.....	31
1.13.1.2 Temperatura	32
1.13.1.3 Luz.....	32
1.14 <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	33
1.14.1 Mecanismo de transferencia de ADN-T mediado por <i>Agrobacterium</i>	36
1.15 Transformación de cultivos de tejidos mediante <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .	38
1.15.1 Plásmidos.....	38
1.15.2 Vectores de transformación	39
1.15.2.1 El vector pBIN19::Cla1.....	39
1.15.2.2 El vector pCAMBIA 2301	41
1.15.3 Genes empleados en la transformación	42
1.15.3.1 El gen <i>cla1</i>	42
1.15.3.2 Genes reporteros	43

1.15.3.2.1 El gen reportero <i>gus</i>	44
1.15.3.2.1.1 Tipos de sustratos artificiales de la enzima β -glucuronidasa .	45
1.15.3.2.1.1.1 Ácido 5-bromo-4-cloro-3-indolil β -D-glucurónico (X-Gluc) .	45
1.15.3.3 Genes de selección	46
CAPÍTULO II	47
2.1 Justificación.....	47
2.2 Objetivos	47
2.2.1 Objetivo general	47
2.2.2 Objetivos específicos.....	47
2.3 Diseño experimental.....	49
CAPÍTULO III	50
3.1 Materiales y métodos	50
3.2 Colecta de material vegetal	50
3.3 Asepsia de las semillas de <i>Tagetes erecta</i> L.	50
3.4 Germinación de semillas de <i>Tagetes erecta</i> L.	51
3.5 Preparación de medios de cultivo	52
3.5.1 Medio MS (para germinar semillas)	53
3.5.2 Medio MS más fitoreguladores de crecimiento (para formar callos)	53
3.6 Obtención de meristemos.....	54
3.7 Transformación de meristemos mediante <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	55

3.7.1 Transformación de meristemas con el plásmido pCAMBIA2301	55
3.7.2 Transformación de meristemas con el plásmido pBin19::Cla1	57
CAPÍTULO IV	60
4.1 Resultados y discusión	60
4.2 Determinación de la sensibilidad a la kanamicina en meristemas de <i>Tagetes erecta</i> L.	60
4.3 Efecto de la concentración de acetosiringona sobre la transformación de los meristemas.....	63
4.4 Efecto de la temperatura sobre la transformación de los meristemas.....	66
4.5 Efecto de la luz y oscuridad sobre la transformación de los meristemas	69
4.6 Efecto de la concentración del ácido okadaico sobre la transformación de meristemas.....	72
4.7 Efecto de los antioxidantes (nitrato de plata, ácido ascórbico y cisteína) sobre la transformación de meristemas	75
4.8 Efecto de la plasmólisis sobre la transformación de meristemas	78
4.9 Transformación de meristemas de <i>Tagetes erecta</i> L., con el vector pBIN19::Cla1	84
CAPÍTULO V	85
5.1 Conclusiones.....	85
5.2 Recomendaciones.....	86
5.3 Perspectivas.....	86

5.4 Referencias	87
5.5 Anexos.....	98