
ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	7
CAPÍTULO I.....	9
MARCO TEÓRICO.....	9
1.1. CEMPASÚCHIL (<i>TARGETES ERECTA</i> L.).....	9
1.1.1. CLASIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA.....	9
1.1.2. DISTRIBUCIÓN.....	11
1.1.3. USOS E IMPORTANCIA.....	11
1.2. ISOPRENOIDES.....	12
1.2.1. BIOSÍNTESIS DE ISOPRENOIDES.....	15
1.2.2. CAROTENOIDES.....	24
1.2.2.1. BIOSÍNTESIS DE CAROTENOIDES.....	26
1.3. TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE PLANTAS.....	27
1.3.1. MARCADORES DE SELECCIÓN.....	28
1.3.2. GENES REPORTEROS.....	29
1.3.2.1. GEN REPORTERO GUS.....	30
1.3.3. MÉTODOS DE TRANSFORMACIÓN EN PLANTAS.....	31
1.3.3.1. MÉTODOS DE TRANSFORMACIÓN FÍSICOQUÍMICOS (DIRECTOS).....	32
1.3.3.1.1. BIOBALÍSTICA (ACELERACIÓN DE MICROPARTÍCULAS).....	32
1.3.3.1.2. ELECTROPORACIÓN.....	32
1.3.3.1.3. POLIETILENGLICOL (PEG).....	32

1.3.3.1.4. FIBRAS DE SILICIO	33
1.3.3.2. MÉTODOS DE TRANSFORMACIÓN BIOLÓGICOS (INDIRECTOS)	33
1.3.3.2.1. <i>AGROBACTERIUM TUMEFACIENS</i>	33
1.3.3.2.1.1. MECANISMO DE TRANSFERENCIA DEL ADN-T	36
1.3.4. VECTORES BINARIOS Y CONINTEGRADOS	38
1.3.4.1. VECTOR pCAMBIA 2301	40
1.3.5. FACTORES QUE AFECTAN LA TRANSFORMACIÓN MEDIADA POR <i>AGROBACTERIUM TUMEFACIENS</i>	43
1.4. ANTECEDENTES EN <i>TARGETES ERECTA</i> L.	45
1.4.1. REGENERACIÓN <i>IN VITRO</i> DE <i>TARGETES ERECTA</i> L.	45
1.4.2. TRANSFORMACIÓN DE <i>TARGETES ERECTA</i> L. VÍA <i>AGROBACTERIUM TUMEFACIENS</i>	46
JUSTIFICACIÓN	48
OBJETIVO GENERAL	48
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	48
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	49
BIBLIOGRAFÍA	50
CAPÍTULO II	63
TRANSFORMACIÓN DE <i>TARGETES ERECTA</i> L. CON EL VECTOR pCAMBIA 2301 VÍA <i>AGROBACTERIUM TUMEFACIENS</i>	63
2.1. INTRODUCCIÓN	63
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS	64
2.2.1. MATERIAL VEGETAL	64

2.2.2. MEDIOS DE CULTIVO	66
2.2.3. ASEPSIA Y GERMINACIÓN DE SEMILLAS.....	66
2.2.4. PROTOCOLO DE TRANSFORMACIÓN	67
2.2.4.1. PRUEBA HISTOQUÍMICA DE GUS	68
2.2.5. ANÁLISIS MOLECULAR.....	68
2.2.5.1. EXTRACCIÓN DE ADN	68
2.3. RESULTADOS	70
2.3.1 TRANSFORMACIÓN DE <i>T. ERECTA</i> L. CON EL VECTOR pCAMBIA 2301 VÍA A. <i>TUMEFACIENS</i>	70
2.3.1.1 TRANSFORMACIÓN TRANSITORIA.....	70
2.3.1.2. TRANSFORMACIÓN ESTABLE.....	72
2.3.2 EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO Y ANÁLISIS DE PCR.....	74
2.4. DISCUSIÓN	76
2.5 CONCLUSIÓN	78
2.6 BIBLIOGRAFÍA	79
CAPÍTULO III	81
REGENERACIÓN DE <i>T. ERECTA</i> L. USANDO TDZ COMO UN REGULADOR DE CRECIMIENTO	81
3.1. INTRODUCCIÓN	81
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	81
3.2.1. MEDIOS DE CULTIVO.....	81
3.2.2. DESINFESTACIÓN Y SIEMBRA DE SEMILLAS	82

3.2.3. MICROPROPAGACIÓN	82
3.3. RESULTADOS	82
3.3.1. GERMINACIÓN DE <i>T. ERECTA</i> L. EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO	82
3.3.2. MICROPROPAGACIÓN	84
3.4. DISCUSIÓN	88
3.5. BIBLIOGRAFÍA	92
CAPÍTULO IV	95
TRANSFORMACIÓN DE <i>Tagetes erecta</i> L. CON EL <i>DXS</i> DE <i>A. thaliana</i> VÍA <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	95
4.1 INTRODUCCIÓN	95
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS	96
4.2.1. MINIPREPARACIONES DEL PLÁSMIDO <i>pBIN19::DXS</i>	96
4.2.2. TRANSFORMACIÓN DE <i>T. erecta</i> L. (MARVEL ORANGE Y LADY GOLD) CON EL VECTOR <i>pBIN19::DXS</i> VÍA <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	97
4.2.3. EXTRACCIÓN DE ADN Y REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA	98
4.2.4. ADAPTACIÓN DE PLANTAS <i>EX VITRO</i>	99
4.2.5. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CAROTENOIDES Y CLOROFILAS TOTALES	100
4.3. RESULTADOS	101
4.3.1 TRANSFORMACIÓN DE LA CEPA LBA44 DE <i>Agrobacterium tumefaciens</i> CON EL VECTOR <i>pBIN19::DXS</i>	101
4.3.2. TRANSFORMACIÓN DE <i>T. erecta</i> L.	102
4.3.3. DEMOSTRACIÓN POR PCR DE LA TRASNGÉNESIS DE LOS BROTES	

TRANSFORMADOS CON EL GEN <i>DXS</i>	105
4.3.4. ADAPTACIÓN <i>EX VITRO</i> DE PLANTAS	112
4.3.5. ANÁLISIS DE CAROTENOIDES Y CLOROFILAS TOTALES	115
4.4. DISCUSIÓN	118
4.5. BIBLIOGRAFÍA	121
CAPITULO V	123
CONCLUSIONES	123
PERSPECTIVAS.....	124
