

Índice General

Agradecimientos.....	i
Índice General	iii
Índice de Figuras.....	v
Índice de Tablas	v
Listado de Abreviaturas	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
1. Introducción.....	1
1.1 Las plantas y su entorno	1
1.2 Los metales pesados en las plantas	1
1.2.1 Toxicidad en las plantas ocasionada por los metales pesados	2
1.2.2 Respuesta al estrés ocasionado por metales pesados	4
2. Antecedentes	6
3. Justificación.....	9
4. Objetivo general	12
4.1 Objetivos particulares	12
5. Materiales y métodos	13
5.1 Condiciones de crecimiento y germinación.....	13
5.2 Evaluaciones fisiológicas de <i>Lupinus campestris</i> frente a MPs.....	13
5.2.1 Análisis de crecimiento y desarrollo.	13
5.2.2 Determinación del factor de bioacumulación y el factor de translocación de As, Hg y Pb en <i>Lupinus campestris</i>	14
5.2.3 Localización tisular de MPs en <i>Lupinus campestris</i>	15
5.2.4 Evaluación de la tasa de fotosíntesis	16

5.3 Evaluaciones bioquímicas de <i>Lupinus campestris</i> frente a MPs	17
5.3.1 Cuantificación de clorofila	17
5.4 Micropropagación de <i>Lupinus campestris</i>	17
5.5 Transformación genética de <i>Lupinus campestris</i>	18
5.6 Análisis estadístico	18
6. Resultados	19
6.1 Condiciones de crecimiento	19
6.2. Los MPs modifian el desarrollo postembrionario de <i>Lupinus campestris</i> ..	20
6.2.1 Cuantificación de clorofila	29
6.2.2 Evaluación de la toma de MPs en <i>Lupinus campestris</i>	31
6.3 Transformación genética de <i>Lupinus campestris</i>	40
6.3.1 Organogénesis.....	40
6.3.2. Co-cultivo de <i>Lupinus campestris</i> y <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	42
7. Discusión	45
7.1 Cambios fisiológicos y bioquímicos en respuesta a MPs en <i>Lupinus campestris</i>	45
7.1.1 Respuesta frente a arsénico.....	45
7.1.2 Respuesta frente a mercurio	50
7.1.3 Respuesta frente a plomo.....	55
7.2 Transformación genética de <i>Lupinus campestris</i>	61
8. Conclusiones	67
9. Perspectivas	68
10. Bibliografía	71
Anexo I: Preparación de medio MS	86
Anexo II: Datos semicuantitativos del EDX.....	88

Anexo III: Toxicidad del Mercurio en <i>Lupinus campestris</i>	89
Anexo IV Productos generados.	90

Índice de Figuras

Figura 1. Cambios en el crecimiento de <i>Lupinus campestris</i> en respuesta a la disponibilidad de nutrientes.....	20
Figura 2. Desarrollo de <i>Lupinus campestris</i> en medio adicionado con As.....	21
Figura 3. Biomasa de <i>Lupinus campestris</i> en medio suplementado con As.....	22
Figura 4. Desarrollo de <i>Lupinus campestris</i> en medio suplementado con Hg.....	23
Figura 5. Biomasa de <i>Lupinus campestris</i> en medio suplementado con Hg.....	24
Figura 6. Desarrollo de <i>Lupinus campestris</i> en medio suplementado con Pb.....	25
Figura 7. Biomasa de <i>L. campestris</i> en medio suplementado con Pb.....	27
Figura 8. Contenido relativo de agua.....	28
Figura 9. Concentración de clorofila y tasa de fotosíntesis.....	30
Figura 10. Cuantificación de MPs en <i>Lupinus campestris</i>	33
Figura 11. Factor de bioacumulación y factor de translocación de MPs.....	34
Figura 12. Localización de MPs en la raíz de <i>Lupinus campestris</i>	38
Figura 13. Localización de MPs en el tallo de <i>Lupinus campestris</i>	39
Figura 14. Generación de brotes de <i>Lupinus campestris</i>	42
Figura 15. Células transgénicas de <i>Lupinus campestris</i>	44

Índice de Tablas

Tabla 1. Efecto de BAP y NAA en meristemos de <i>L. campestris</i>	41
--	----

Resumen

Lupinus campestris es una planta de la familia Fabaceae y que crece en lugares contaminados con desechos de mina (jales) ricos en metales pesados (MPs), por lo anterior inferimos que esta especie tiene alguna cualidad que le permite hacer frente a la toxicidad generada por los metales pesados. Es de gran importancia contar con una especie que resista el estrés por metales pesados para utilizarla como planta modelo frente a este tipo de estrés que nos permita establecer los mecanismos por los cuales se producen los cambios en la regulación genética, bioquímica y fisiológica para hacer frente a la toxicidad por los metales pesados (MPs).

En este trabajo se evaluaron parámetros fisiológicos y bioquímicos para conocer la respuesta que presenta *L. campestris* frente a arsénico (As), mercurio (Hg) y plomo (Pb); encontramos que el fenotipo presentado por sistema radical (SR) es plástico, pues la disminución de la longitud de la raíz primaria y el número de raíces laterales depende de cada metal y la concentración presente en el medio de cultivo. El contenido relativo de agua en las plantas fue disminuyendo conforme aumentó la concentración de MPs, lo cual nos indica que éstos MPs están involucrados con el transporte de agua. Además se observó que el Hg genera una disminución en la concentración de clorofila y que los tres MPs evaluados impactan negativamente en la tasa de fotosíntesis de *L. campestris*.

Una vez que se encontraron las concentraciones tóxicas de los MPs y algunos de sus efectos en *L. campestris* fue necesario evaluar la acumulación de éstos en la planta. Encontrando que *L. campestris* es hiperacumuladora de los tres MPs con un factor de bioacumulación de 3.2, 4.4 y 1.3 para As, Hg y Pb, respectivamente y una tasa de traslocación 0.37, 424, 0.14 en As, Hg y Pb, respectivamente. Además se desarrolló un método para generar brotes a partir de meristemos de la parte aérea y transformar este tejido mediante *Agrobacterium tumefaciens*.

Con éste trabajo determinamos qué fenotipo muestra *L. campestris* a diferentes concentraciones de MPs y que es hiperacumuladora de los tres MPs, por lo que es una especie útil para investigación de estrés frente a MPs. Ahora se cuenta con una técnica de transformación genética de tejido establecida que nos permitirá sobreexpresar, silenciar y regular genes de interés para conocer los papeles que éstos tienen en las respuestas moleculares, bioquímicas y fisiológicas frente a MPs en *L. campestris*.