

GENERACIÓN DE RAÍCES Y PLÁNTULAS TRANSGÉNICAS DE TORONJA Y LIMA DULCE MEDIANTE EL USO DE *Agrobacterium rhizogenes*

GENERATION OF GRAPEFRUIT AND SWEET LIME TRANSGENIC ROOTS AND PLANTLETS VIA *Agrobacterium rhizogenes*

Arturo Serna Pérez y Eugenio Pérez Molphe Balch*

Departamento de Química, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad 940. C.P. 20100 Aguascalientes, Ags. México. Tel: 01 (449)910-8420, Fax: 01(449)910-8401. Correo electrónico: eperezmb@correo.uaa.mx

* Autor para correspondencia

RESUMEN

La transformación genética es una técnica atractiva para el mejoramiento de los cítricos ya que evita los largos periodos juveniles y permite introducir nuevas características a un cultivar sin alterar los rasgos existentes. Un paso indispensable para aplicar esta tecnología de mejoramiento de los cítricos, es el desarrollo de sistemas eficientes de transformación genética que confieran ventajas agronómicas. En este reporte se presenta el desarrollo de sistemas de transformación genética basados en *Agrobacterium rhizogenes* para la toronja (*Citrus paradisi* cvs. Duncan y Rio Red) y la lima dulce (*Citrus limmettioides*). Primero se generaron raíces transformadas por medio del cocultivo de segmentos de tallo obtenidos de plántulas germinadas *in vitro* con *A. rhizogenes* cepa A4, que contenía el plásmido tipo silvestre pRiA4 y el vector binario pESC4 con los genes *nos-nptII* y *cab-gus*. La mayor eficiencia de transformación, medida como el porcentaje de explantes que formaron raíces, se obtuvo en la toronja Duncan (78 %), seguida por la toronja Rio Red (68 %) y la lima dulce (60 %). Se detectó actividad de GUS en 89, 92 y 76 % de las raíces generadas en toronja Duncan, toronja Rio Red y lima dulce, respectivamente. Luego se regeneraron brotes adventicios a través de organogénesis en segmentos de raíz transformada cultivados en medios con citocininas o con citocininas y auxinas; tales brotes adventicios se generaron en 24 % de los casos en toronja Duncan, en 14 % de los de toronja Rio Red y en 8 % de los de lima dulce. Los análisis GUS confirmaron que las plantas regeneradas conservaron la actividad de este gen introducido a las raíces transformadas. Los resultados mostraron que el sistema de transformación establecido introdujo exitosamente ADN foráneo a la toronja y a la lima dulce, y que puede ser útil para la generación de plantas que expresen genes de interés agronómico.

Palabras clave: *Citrus paradisi*, *Citrus limmettioides*, raíces transformadas, transformación genética.

SUMMARY

Genetic transformation is an attractive technique for citrus improvement because it avoids long juvenile periods and it offers the ability to introduce single new characteristics into a cultivar without altering existing traits. Development of efficient genetic transformation systems that confer agronomic advantages is an indispensable step to apply this technology to citrus breeding. In this report we present the development of genetic transformation systems for grapefruit (*Citrus paradisi* cvs. Duncan and Rio Red) and sweet lime (*C. limmettioides*) using *Agrobacterium rhizogenes*. First, transformed roots were generated by coculturing stem segments obtained from *in vitro* germinated seedlings with *A. rhizogenes* strain A4 containing the wild-type plasmid pRiA4 and the binary vector pESC4 with *nos-nptII* and *cab-gus* genes. The highest transformation efficiency, measured as the percentage of root forming explants, was obtained in Duncan grapefruit (78 %), followed by Rio Red grapefruit (68 %) and sweet lime (60 %). GUS activity was observed in 89, 92 and 76 % of Duncan and Rio Red grapefruits, and sweet lime roots, respectively. Second, adventitious buds were regenerated through organogenesis on transformed root segments cultivated in media with either cytokinins and auxins or only cytokinins. Adventitious buds were generated in 24, 14 and 8 % of the segments of Duncan and Rio Red grapefruits, and sweet lime transformed roots, respectively. Regenerated buds were transferred to medium without growth regulators to elongate and produce adventitious roots. GUS analyses confirmed that generated plants conserved its activity. Our results show that the established transformation system successfully delivered foreign DNA to grapefruit and sweet lime, and it might be useful in generation of plants expressing genes of agronomic interest.

Index words: *Citrus paradisi*, *Citrus limmettioides*, genetic transformation, transformed roots.