

A-14

## TRANSFORMACIÓN MEDIADA POR *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* DE EMBRIONES SOMÁTICOS DE AGUACATE: UN PROTOCOLO

C.L. Encina<sup>1</sup>, N. Westendorp<sup>1</sup>, P. Gil<sup>1</sup>, I.M.G. Padilla<sup>1</sup> y J.R. Botella<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Plant Tissue Culture & Biotechnology Lab. Estación Experimental La Mayora (C.S.I.C.) s/n. 29750 Algarrobo-Costa. Malaga. España. E-mail: clencina@eelm.csic.es

<sup>2</sup> Plant Genetic Engineering Lab. Dpt. of Botany. Univ. of Queensland. Brisbane. Qld 4072. Australia.

Se transformaron callos embriogénicos de aguacate mediante *Agrobacterium tumefaciens*. Se utilizaron las cepas AGL1, AGL0, EHA105 y GV310, portadoras del plásmido pBI121 como vectores de la transformación. Este plásmido contiene los genes marcadores para detección y selección NPT11 (neomicinofototransferasa II) y GUS (b-glucuronidasa). Después de infectados, los explantes se cocultivaron durante 24 h en un medio embriogénico (ME) (Pliego-Alfaro y Murashige, 1988), conteniendo 100 mM de acetosiringona y posteriormente se transfirieron a un ME sin acetosiringona y con 500 mg/l de cefotaxime. Una semana después, los explantes se pasaron a un medio selectivo compuesto por un ME basal con 500 mg/l de cefotaxime y 25 mg/l de geneticina. Los explantes se transfirieron a un medio fresco cada dos semanas durante 4 meses. Se analizaron los posibles transformados, identificados por el crecimiento en el medio con geneticina, frente a la expresión de GUS, utilizando el método histoquímico X-glucuronido (Jefferson, 1987) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las cepas AGL0 y AGL1 no produjeron transformación. Los mejores resultados se obtuvieron con las cepas GV3101 y EHA105, con un 7% y un 6% de transformación, respectivamente. Debido al crecimiento excesivo incontrolable de la cepa hipervirulenta GV3101, se seleccionó finalmente la cepa EHA105 como la mejor, que produjo 11 líneas transformadas.