



KUKULKAB'

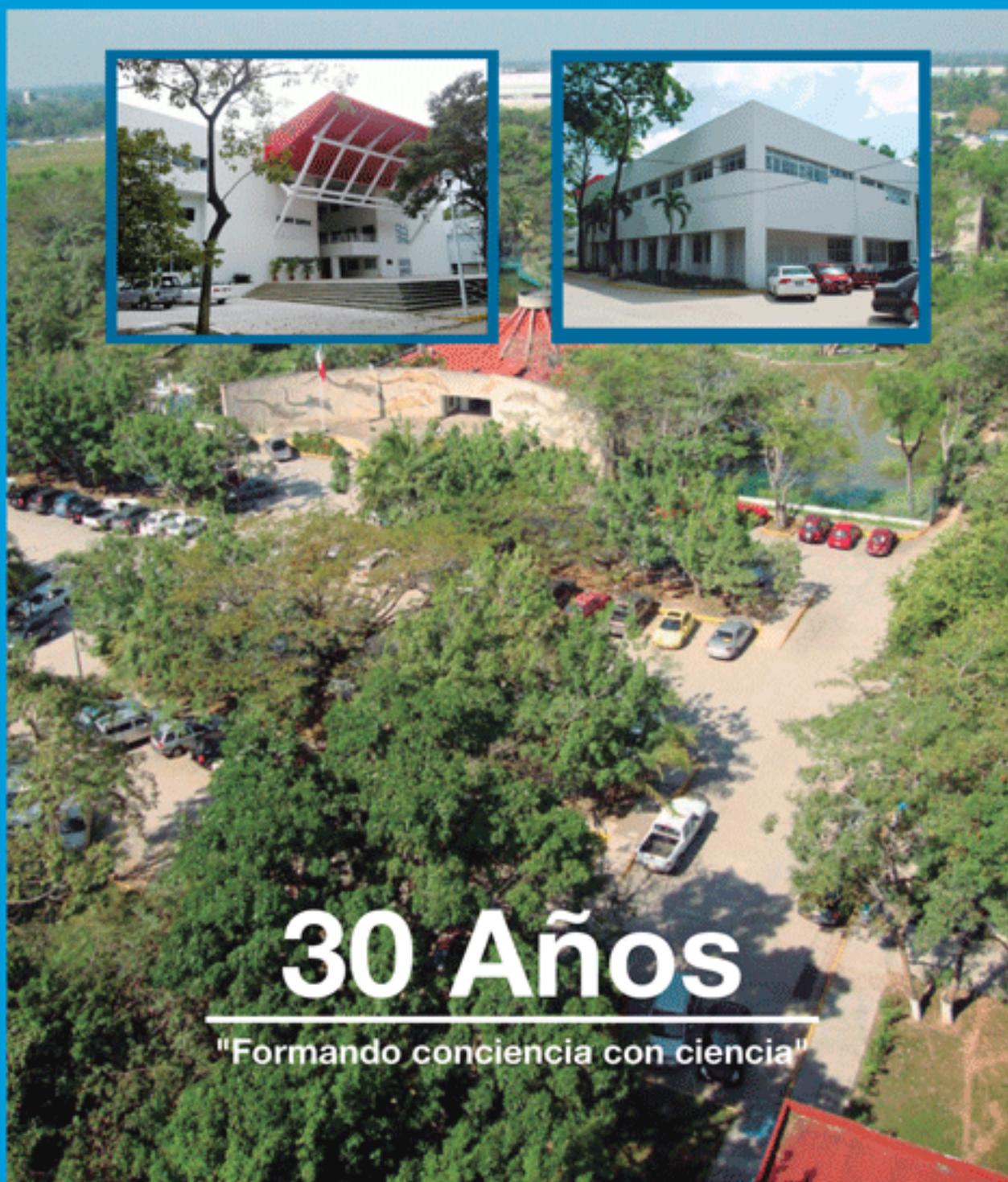
REVISTA DE
DIVULGACIÓN

ISSN 1665-0514

División Académica de Ciencias Biológicas

• Volumen XVIII • Número 35 • Julio - Diciembre 2012 •

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco



30 Años

"Formando conciencia con ciencia"

REVISTA DE DIVULGACIÓN

División Académica de Ciencias Biológicas
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Kuxulkab' Voz chontal - tierra viva, naturaleza

CONSEJO EDITORIAL

Dra. Lilia Ma. Gama Campillo
Editor en jefe

Dr. Randy Howard Adams Schroeder
Dr. José Luis Martínez Sánchez
Editores Adjuntos

Biól. Fernando Rodríguez Quevedo
Editor Asistente

COMITÉ EDITORIAL EXTERNO

Dra. Silvia del Amo
Universidad Veracruzana

Dr. Bernardo Urbani
Universidad de Illinois

Dr. Guillermo R. Giannico
Fisheries and Wildlife Department,
Oregon State University

Dr. Joel Zavala Cruz
Colegio de Posgraduados, Campus Tabasco

Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez
División Académica de Ciencias Biológicas
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Publicación citada en:

- El índice bibliográfico PERIÓDICA, índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias.
Disponible en <http://www.dgbiblio.unam.mx>
<http://www.publicaciones.ujat.mx/publicaciones/kuxulkab>

KUXULKAB' Revista de Divulgación de la División Académica de Ciencias Biológicas, publicación semestral de junio 2001. Número de Certificado de Reserva otorgado por Derechos: 04-2003-031911280100-102. Número de Certificado de Licitud de Título: (11843). Número de Certificado de Licitud de Contenido: (8443). Domicilio de la publicación: Km. 0.5 Carretera Villahermosa-Cárdenas, entronque a Bosques de Saloya. Villahermosa, Tabasco. C.P. 86039 Teléfono Conmutador: 3581500 ext.6400 Teléfono Divisional: 3544308, 3379611. Dirección electrónica: <http://www.publicaciones.ujat.mx/publicaciones/kuxulkab> Imprenta: M.A. Impresores, S.A. de C.V. Av. Hierro No. 1 Mza. 3 Ciudad Industrial C. P. 86010 Villahermosa, Tabasco. Distribuidor: División Académica de Ciencias Biológicas Km. 0.5 Carretera Villahermosa-Cárdenas, entronque a Bosques de Saloya. C.P. 86039 Villahermosa, Tabasco.

Nuestra Portada

Edificios emblemáticos de la DACBiol-UJAT; el Centro de Investigación para la Conservación de Especies Amenazadas (CICEA), el Centro de Investigación para la Conservación y Aprovechamiento de Recursos Tropicales (CICART) y el Herbario UJAT.

Diseño de:

Lilianna López Gama

Fotografías:

Lilia María Gama Campillo, Rafael Sánchez Gutiérrez y Juan Pablo Quiñonez Rodríguez.

Personal docente de la DACBiol - UJAT.

Estimados lectores:

Este año se llevó a cabo un importante número de eventos para festejar el 30 aniversario de la enseñanza de las ciencias ambientales en la UJAT, tuvimos la oportunidad de conocer a investigadores que enriquecieron con sus participaciones los conocimientos de todos los que formamos la comunidad de la División Académica de Ciencias Biológicas.

La Universidad se encuentra en un proceso, que sin duda alguna, fortalecerá todos los medios de comunicación que forman parte de la misma, como lo es nuestra revista. El Área Editorial se encuentra ya funcionando como fortaleza no solo de Kuxulkab' sino de otros aspectos de divulgación y editoriales de la DACBIol. El programa de reorganización del sistema de manejo de Kuxulkab', permite hoy en día, brindar una respuesta mucho más rápida a todos aquellos artículos sometidos para publicar; igualmente nos encontramos participando en la implementación de un nuevo sistema propuesto por el Departamento de Publicaciones Periódicas de la Universidad, para la administración de manuscritos que permita agilizar el vínculo con la impresión como parte de la estrategia del plan de mejoras de dichas revistas.

Este número cuenta con un conjunto de cinco artículos y seis notas de temas de actualidad relacionados a las áreas de investigación que se llevan a cabo en la DACBIol y desarrollados por investigadores, estudiantes y colegas en la región. Como siempre agradecemos a todos los autores que nos enriquecen con sus contribuciones, así como a los revisores que amablemente se han tomado el tiempo de colaborar con nosotros y que cada día forman un grupo más nutrido, lo que nos fortalece en la revisión de una mayor diversidad de temas. Los invitamos a seguir considerando y usar esta opción de publicación como una ventana para compartir sus investigaciones, así como el desarrollo de temas de interés, tanto para nuestros colegas, alumnos y compañeros de la DACBIol y de la región.

Lilia Gama
Editor en Jefe

Rosa Martha Padrón López
Directora

División Académica de Ciencias Biológicas
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco



Transformación genética de eucariotas

Yazmín Hernández Díaz¹ & Alinne Audrei Martínez López²

¹Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C. (IPICYT)
Camino a la Presa San José 2055. Col. Lomas 4 sección, San Luis Potosí S.L.P

²División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
Km 0.5 Carretera Villahermosa-Cárdenas, entronque Bosques de Saloya. Villahermosa, Tabasco
¹yazmin.hernandez@ipicyt.edu.mx ²alinne_audrei@hotmail.com

Resumen

Hoy en día, se han desarrollado diferentes procedimientos de gran utilidad en los estudios de biología molecular y celular con la finalidad de poder introducir moléculas exógenas en el interior de la célula. La transformación genética de eucariotes por métodos como *Agrobacterium tumefaciens*, Biobalística, Electroporación, Protoplastos, Microinyección, Liposomas, entre otros; ha permitido un gran avance para estudios moleculares, sin embargo la elección de uno u otro método depende en gran medida del objetivo final del experimento y de la disponibilidad de los equipos pertinentes. En esta revisión se abordan los métodos de laboratorio empleados para la transformación genética de eucariotas.

Palabras claves: Métodos, Transformación genética, Biología molecular.

Introducción

Transformar genéticamente implica adicionar información genética a un genoma, lo cual puede modificar su fisiología original. Esto implica la introducción de genes en una célula o tejido con el uso de un vector (plásmido, cósmido, etc.), el cual lleva integrado el o los genes que se deseen transferir (Gutiérrez *et al.*, 2003).

Con el propósito de introducir moléculas en el interior de la célula, se han desarrollado diferentes procedimientos que permitan superar su barrera natural, la elección del método está en función del objetivo final del experimento y de la disponibilidad de equipamiento adecuado (González & Vega, 2007).

Cabe mencionar que la transformación genética también constituye una herramienta útil para estudios básicos que permiten conocer y/o profundizar acerca de la estructura y función de genes específicos, aspecto particularmente relevante en la era genómica. Para todas las técnicas de transformación desarrolladas hasta el momento, es necesario disponer del transgen (secuencias regulatorias y codificante clonadas en un vector de transformación) y de una metodología eficiente para la transferencia al genoma.

Transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*

Agrobacterium tumefaciens es una bacteria fitopatogena del suelo que provoca crecimientos neoplásicos que afectan a la mayoría de las plantas dicotiledóneas, el cual es manifestado por la división no controlada de células en el sitio de la infección, lo que provoca el desarrollo de tumores de la agalla de la corona como resultado de la infección bacteriana en la planta (Fig. 1) (Tagu & Moussard, 2003; Tzfira & Citovsky, 2003; Martínez *et al.*, 2004).

El mecanismo de transferencia de un fragmento de ADN de origen bacteriano a la célula vegetal está determinado por la interacción molecular entre la bacteria y la planta, especialmente por el intercambio de señales del tipo proteico. Aunque el proceso de transferencia del ADN de *A. tumefaciens* ha sido ampliamente estudiado, aún no han sido descifrados completamente los mecanismos moleculares por los cuales éste es transferido a la planta (Valderrama *et al.*, 2005).

Por otro parte, aunque las plantas representan los recursos naturales de *A. tumefaciens*, en los últimos años, también ha sido usado para

transformar genéticamente una amplia gama de especies eucariotas, tales como: levaduras, hongos filamentosos, así como células humanas (Tagu & Moussard, 2003; Tzfira & Citovsky, 2003).

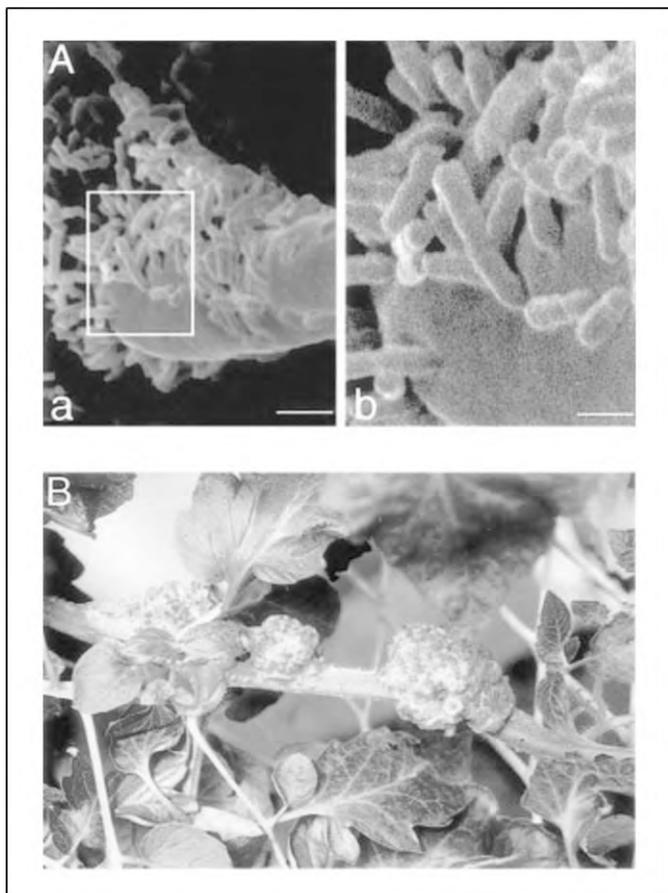


Figura 1. *Agrobacterium tumefaciens*, bacteria y enfermedad. A) Micrografía electrónica de barrido de *A. tumefaciens* del tipo silvestre, colonizando las raíces de álamo a dos aumentos: (a) bar = 250 µm; (b) bar = 80 µm. (B) Formación de agalla de la corona en un tallo de planta de tomate infectada con *A. tumefaciens* del tipo silvestre. (Fuente: Tzfira & Citovsky, 2000).

Descripción del proceso natural de infección por *A. tumefaciens*

En la naturaleza *A. tumefaciens* provoca la formación de tumores debido a la presencia de un plásmido inductor de tumores (Ti), el cual transporta una parte de la información necesaria para la transferencia del ADN bacteriano dentro de la planta huésped. La región T presente en el plásmido Ti, corresponde al ADN que será transferido dentro del genoma de la planta, denominado T-DNA (Transfer-DNA) y está delimitado por dos bordes, los cuales

son directos repetidos imperfectos de 25 pares de bases; los pasos siguientes son su integración en el genoma del huésped y la expresión de sus genes codificados (Martínez *et al.*, 2004). Entre los bordes se localizan: 1) genes que inducen el desarrollo del tumor (oncogenes), debido a un desequilibrio en el balance hormonal de la planta; 2) genes que dirigen la síntesis de opinas, los cuales son aminoácidos unidos a un azúcar, útiles solo para la bacteria (Tagu & Moussard, 2003).

A. tumefaciens reconoce y se adhiere a la célula huésped en un paso inicial y esencial en el proceso de infección. Después de su unión, la bacteria sintetiza filamentos de celulosa que se anclan a la superficie celular de la planta, varios genes cromosómicos han sido identificados como necesarios para este proceso de adhesión de la bacteria a la planta: *chvA*, *chvB*, *pscA*, *att* (Tzfira & Citovsky, 2000).

Ha sido mostrado que la secuencia de ADN localizada entre los dos bordes es transferida dentro de las células de la planta bajo la acción de proteínas codificadas por los genes de la región de virulencia (*vir.*). Se han identificado dos sensores proteicos, *VirA* y *VirG*, que reaccionan específicamente con la presencia de exudados de plantas heridas y que además promueven la activación transcripcional de los genes *vir.* Los genes *vir* constituyen un operón con 8 genes principales (*virA*, *virB*, *virC*, *virD*, *virE*, *virF*, *virG* y *virH*) regulados por una secuencia promotora que contiene 12 pares de bases conservadas a la que se une específicamente la proteína *VirG* fosforilada. La fosforilación de la proteína *VirG* es requerida para la activación de los genes *vir.* La producción del T-ADN se da por la acción de las proteínas *VirD2* y *VirD1*, que actúan como endonucleasas, uniéndose al plásmido Ti en los bordes del T-ADN relajándolo y haciendo cortes en la cadena del T-DNA sin sentido. Después de hacer el corte, la proteína *VirD2* se une covalentemente al extremo 5' del T-DNA hasta su transferencia a la planta (Tagu & Moussard, 2003; Valderrama *et al.*, 2005).

Sin embargo, aunque el entendimiento de la interacción entre *A. tumefaciens* y la planta ha avanzado rápidamente, los mecanismos moleculares implicados en la transferencia del T-DNA no han sido caracterizados completamente.

Usos biotecnológicos *A. tumefaciens*

Desde el año 1970 hasta nuestros días se ha estudiado en detalle el mecanismo por el cual *A. tumefaciens* induce la formación de tumores en plantas y el conocimiento adquirido ha sido fundamental para su uso como herramienta en la ingeniería genética de plantas. Un hallazgo crucial que permitió el diseño de vectores para la transformación genética de plantas mediante el uso de especies de *Agrobacterium*, es el hecho que sólo las secuencias de los bordes del T-DNA son requeridas para que la transferencia se lleve a cabo. Algunos o todos los genes bacterianos del T-DNA pueden ser removidos originando vectores desarmados, los cuales pueden transformar células vegetales sin los síntomas generales de la infección bacteriana (Valderrama *et al.*, 2005).

El descubrimiento de que los genes *vir* no tienen que estar en el mismo plásmido con la región del T-DNA para liderar su transferencia y su inserción en el genoma de la planta; llevó a la construcción de un sistema de transformación de plantas en donde la región del T-DNA y la región *vir* se encuentren en plásmidos separados. En el sistema vector binario, se utilizan dos plásmidos con

las siguientes características (Fig. 2):

1) Un plásmido “lanzadera” que cuenta con orígenes de replicación (Ori), que permite su mantenimiento en un amplio rango de bacterias, incluyendo *Escherichia coli* y *Agrobacterium*. Este plásmido típicamente contiene:

- El ADN de interés en lugar del T-DNA.
- Los bordes izquierdo y derecho.
- Marcador de selección para *E. coli* y *A. tumefaciens*.
- Marcador de selección para plantas.

2) Un plásmido “desarmado”, debido a que los genes que inducen el tumor en la planta localizados en el T-DNA han sido removidos. Este plásmido (ayudador), albergado en *A. tumefaciens*, carece de la región T-DNA, pero contiene una región *vir* intacta, la cual es necesaria para la transferencia.

El sistema *Agrobacterium* tiene varias ventajas sobre otros sistemas de transformación y es considerado la primera opción para la transformación de plantas (Fig. 3) (Tabla 1) (Martínez *et al.*, 2004).

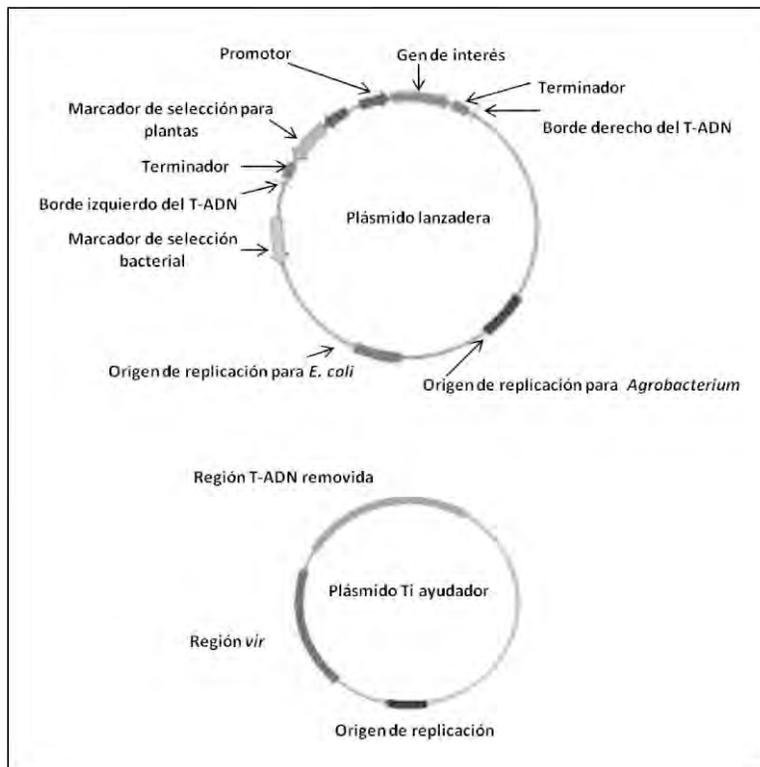


Figura 2. Plásmidos del sistema vector binario.

Fuente: <http://www.patentlens.net/daisy/AgroTran/g1/848.html>

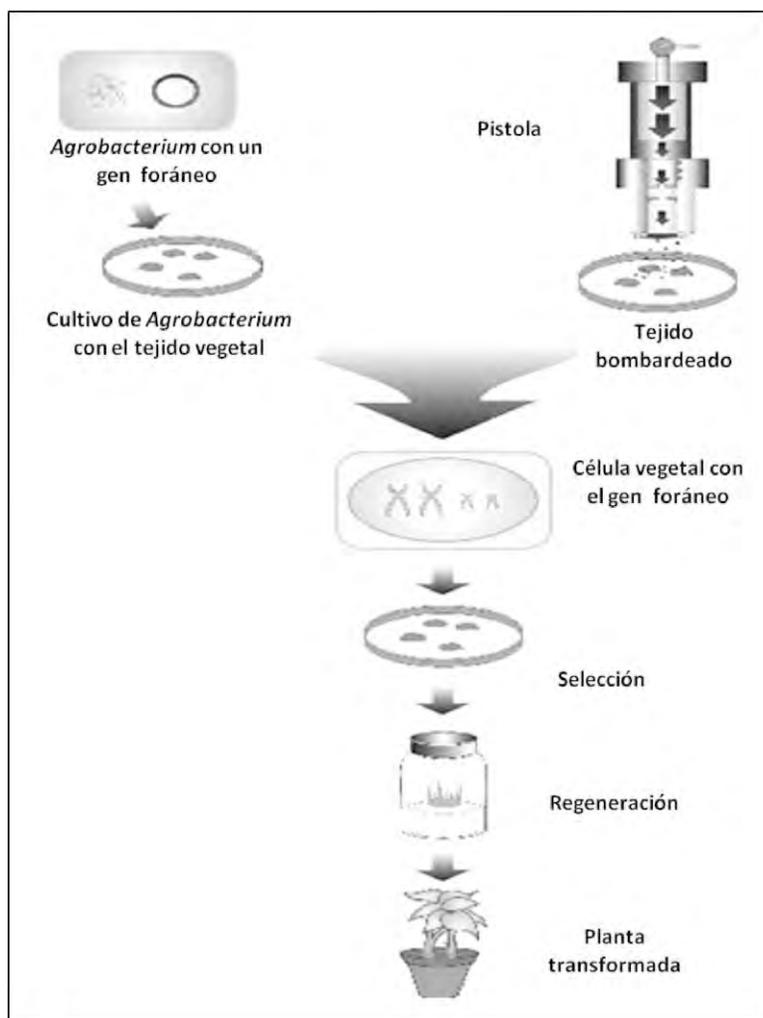


Figura 3. Transformación de plantas por los métodos de *Agrobacterium* y biobalística. (Fuente: Martínez *et al.*, 2004).

Nombre común	Nombre científico	Método de transformación
ANGIOSPERMAS		
MAÍZ	<i>Zea maíz</i>	<i>Agrobacterium</i> , Biobalística, Electroporación.
TRIGO	<i>Triticum aestivum</i>	Biobalística.
AJO	<i>Allium sativum</i>	<i>Agrobacterium</i> .
CEBOLLA	<i>Allium sepa</i>	<i>Agrobacterium</i> .
PAPA	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Agrobacterium</i> , Biobalística.
TOMATE	<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>Agrobacterium</i> , Biobalística.
PETUNIA	<i>Petunia hybrida</i>	<i>Agrobacterium</i> .
ÁRBOL DEL HULE	<i>Hevea brasiliensis</i>	Biobalística.
GIMNOSPERMAS		
ABETO NORUEGO	<i>Picea abies</i>	Biobalística.
ABETO BLANCO	<i>Picea glauca</i>	Biobalística.
PINO	<i>Pinus radiata</i>	Biobalística.

Tabla 1.- Especies vegetales transformadas y métodos de transformación (Fuente: Martínez *et al.*, 2004 modificado).

Transformación directa de genes en protoplastos de plantas

La incorporación y expresión de ADN mediante protoplastos fue uno de los primeros métodos de transferencia génica que también demostró su funcionamiento en plantas. La técnica se basa en el principio de que la pared celular es la principal barrera para la captación de ADN, así que esta puede ser temporalmente extraída; posteriormente distintos métodos simples pueden ser utilizados para la transferencia génica (Carranza, 2011).

A partir de la necesidad de desarrollar sistemas de transformación para plantas y el conocimiento de que los ácidos nucleicos virales podrían introducirse en protoplastos, el estudio de la introducción directa de construcciones génicas en protoplastos mostró que era posible obtener la integración estable sin vectores específicos (Walker & Gingold, 1997).

Los protoplastos se comportan como una célula animal. Es necesaria la presencia de un gen de selección bajo el control de un promotor de plantas potente -el 35S del virus del mosaico de la coliflor, por ejemplo- (Izquierdo, 1999). La mezcla de ADN puede contener lo siguiente: 1) Un plásmido que contenga un gen cuya expresión confiera resistencia a un agente de selección para células transformadas y 2) Un plásmido que contenga una construcción quimérica de interés; a esto se le llama co-transformación (Tagu & Moussard, 2003). Los protoplastos, una vez que han ingerido el ADN, se colocan en un medio nutricional adecuado donde regeneran la pared e inician la división celular (Izquierdo, 1999); posteriormente son colocados en un medio que contiene el agente de selección para eliminar las células de plantas no transformadas. Estas células sobrevivientes son sujetas al proceso de regeneración para obtener plantas resistentes (Tagu & Moussard, 2003).

Actualmente varios procedimientos se utilizan para introducir ADN directamente en protoplastos los cuales incluyen: Tratamientos químicos, Electroporación de protoplastos, Micro-inyección de ADN en núcleos de plantas, Micro-inyección de ADN en meristemos empapados, Procesos de "Polinización de ADN" y Biobalística (Walker & Gingold, 1997; Rivera-Domínguez, 2006).

En lo que se refiere al proceso de extracción de la pared celular (mediante enzimas de restricción),

este va a aislar las células de una en una a partir del tejido utilizado, por lo que las células diana para la transferencia son una gran población de unidades individuales, dichas células son obtenidas a partir de distintos tejidos, que dependen de la planta utilizada y del objetivo del estudio (Carranza, 2011).

Ejemplo de aplicaciones de la transferencia directa de genes, son el análisis de la expresión transitoria de construcciones moleculares (Walker & Gingold, 1997), para ello sólo se necesitan células capaces de sobrevivir 24-72 horas tras el tratamiento, pudiéndose aislar protoplastos de casi cualquier tejido. Para la transformación estable, se necesitan células en división por lo que el número de tejidos que van a servir como fuente de protoplastos es más restringido (Carranza, 2011). La técnica ha dado buenos resultados en petunias, maíz, trigo y arroz, pero en otras especies de cereales no se han podido obtener plantas transgénicas fértiles a partir de ellos (Izquierdo, 1999).

Biobalística o bombardeo con microproyectiles

En el proceso de biobalística, microproyectiles a alta velocidad son usados para incorporar ADN dentro de células intactas y tejidos. Ésta alta velocidad es usada para que ADN y otras sustancias atraviesen las paredes celulares y membranas, ya que el ADN es "disparado" dentro de las células, lo que representa un tipo de balística biológica de ahí su nombre (Sanford, 1990).

La técnica consiste en bañar partículas esféricas de oro o tungsteno (aproximadamente de 0.4-1.2 μm de diámetro, o del tamaño de algunas células bacterianas) con ADN precipitado previamente con CaCl_2 , espermidina o polietilén glicol -ésta parte del procedimiento tiene como objetivo aumentar la frecuencia de células transformadas aumentando la cantidad de plásmido de ADN-, posteriormente las partículas son aceleradas a velocidades de 300-600 m/s con un equipo especial llamado pistola de partículas (o pistola de genes) (Fig. 3), la cual utilizaba originalmente pólvora y que actualmente usa helio a altas presiones como fuente de propulsión. Los proyectiles acelerados penetran la pared celular y la membrana de la célula. El alcance de la penetración de las partículas en las células puede controlarse variando la intensidad del estallido, la distancia que las partículas han de atravesar para alcanzar la célula o con partículas de diferentes tamaños. Una

vez dentro de la célula, el ADN se separa de las partículas y en algunos casos es integrado dentro del genoma (Walker & Gingold, 1997).

Los análisis de los patrones de integración indican que el bombardeo con microproyectiles resulta en la integración del transgen completo y de transgenes rearrreglados los cuales son frecuentemente detectados en un variable número de copias. Los rearrreglos incluyen delección, ligación, concatenación y posiblemente recombinación. Las múltiples copias de transgenes y sus rearrreglos son heredados frecuentemente como una unidad única; mientras que los mecanismos de integración no han sido entendidos del todo, probablemente sistemas de síntesis y ruptura-reparación de ADN se encuentran involucrados en este proceso de integración (Pawlowsky & Somer, 1996).

Aproximadamente 10,000 células son transformadas con cada bombardeo. En ocasiones las células transformadas, que son detectadas por la expresión de un gen marcador, solo expresan el ADN transferido de forma transitoria. La configuración de los vectores utilizados en biobalística influye, tanto en la integración como en la expresión de dichos genes; la transformación resulta más eficaz cuando se usa ADN lineal en vez de circular. Además, los plásmidos de tamaños superiores a 10 Kb pueden ser fragmentados durante el bombardeo con microproyectiles produciendo una tasa menor de células transformadas.

Los principales logros con este método, incluyen especies de gran interés económico como son soya, maíz, arroz, sorgo, papaya, caña de azúcar, trigo y espárrago (Tabla 1) (Bower & Birch, 1992). También se ha utilizado la biobalística para la transformación de callos embriogénicos que expresen proteínas heterólogas (Gómez-Núñez *et al.*, 2011).

Dentro de las desventajas del método se encuentran, la necesidad de instrumentación especial, la oposición natural de ciertos tejidos a la penetración de las partículas, dada por cutículas endurecidas, paredes celulares lignificadas o superficies vellosas (Carranza, 2011). En algunos cultivos, se ha observado una variación considerable en el transgen introducido respecto a su estabilidad, a su integración en el individuo y a su

integración en el genoma (Degiovanni *et al.*, 2010). Sin embargo, los principales limitantes del método continúan siendo la baja relación entre el total de células sometidas al bombardeo y el número de células que logran incorporar de manera permanente la información genética transferida. Por último en algunos experimentos se ha comprobado la toxicidad de las partículas de tungsteno las cuales contribuyen a la lesión celular (Russell *et al.*, 1992).

Electroporación

El método consiste en la transferencia directa de ADN dentro de la célula huésped; poros temporales son creados en la membrana de la célula huésped cuando son sujetos a un impulso eléctrico, de esta manera el ADN pasa a la célula huésped (Tagu & Moussard, 2003). Éste método se usa en la actualidad de forma muy común y requiere la adquisición de un equipo especializado. La naturaleza y tipo del pulso eléctrico requerido para optimizar tales estructuras han sido evaluados por las compañías comerciales. La relación entre la cantidad de ADN a transferir y la concentración celular necesaria debe ser evidentemente muy elevada, aunque actualmente se ha optimizado esta proporción para diferentes líneas celulares (Walker & Gingold, 1997).

Una de las ventajas es que no requiere transporte de ADN y es mucho más rápida (se pueden seleccionar transformantes estables en 10 minutos después del pulso). Se ha observado que la técnica rinde una proporción mayor de transformantes estables conteniendo una copia única de ADN exógeno en sitios únicos de integración. La frecuencia de estos fenómenos permite la detección de sitios de integración homólogos (Walker & Gingold, 1997).

Transformación genética de células animales

La introducción de una secuencia de ADN en células de animales, permite analizar el papel de dicha secuencia *in vivo*; por lo que los investigadores deben de elegir la más apropiada línea celular para llevar a cabo sus objetivos, como también el vector más adecuado para la línea celular seleccionada. La transfección mediada por virus y por polímeros catiónicos son de los métodos más utilizados en los experimentos con células en cultivo. Los polímeros catiónicos se unen fácilmente a segmentos portadores de interés, no producen

respuesta citotóxica, ni son una amenaza de infección (Camacho *et al.*, 2006). Por otro lado la técnica de infección depende del tipo de virus y de las células huésped; los principales vectores virales son derivados de adenovirus y retrovirus (Tagu & Moussard, 2003).

Varios métodos de transfección de células de animales son presentados en esta sección, cabe mencionar que métodos señalados anteriormente también son empleados en células de animales (Biobalística y Electroporación). Entre las estrategias diseñadas se encuentran las siguientes:

Método de Fosfato de Calcio. Este procedimiento ha sido empleado por más de 20 años para la transferencia y expresión de información genética en células de mamíferos. Se basa en la obtención de un precipitado entre el cloruro de calcio y el ADN en una solución salina de fosfatos, formando unos agregados que son endocitados/fagocitados por las células. Aparentemente el agregado con calcio protege al ADN de la degradación por las nucleasas celulares. El tamaño y la calidad del precipitado es crítico para el éxito del proceso, que se ve afectado por factores como pequeños cambios en el pH de la solución (González & Vega, 2007).

Método con DEAE dextrano. DEAE (diethyl amino ethyl) dextrano es un polímero catiónico que facilita la penetración del ADN a la célula. Además protege el ADN contra los efectos de nucleasas y a si incrementa su tasa de expresión en la célula, también es usado para incrementar la eficiencia de infecciones virales. Sin embargo, DEAE dextrano puede ser tóxico para la célula (Tagu & Moussard, 2003). Tiene como ventajas su sencillez, reproducibilidad y bajo costo, además de que se requiere de pocas cantidades de ADN.

Método de Lipofección. Se basa en la formación de complejos entre lípidos catiónicos y ADN, llamados liposomas. Dicho complejo tiene afinidad por la membrana y permite la entrada del ADN en el citosol. La lipofección es una técnica muy efectiva aunque laboriosa. Es esencial optimizar las condiciones específicas de transfección para obtener buenos resultados, entre las desventajas del método se encuentra el elevado precio de los lípidos, además de que no todos los lípidos funcionan en todos los tipos celulares, habiendo que optimizar el ensayo para cada tipo celular

(Villuendas *et al.*, 2001; González & Vega, 2007).

Fusión de protoplastos. El método consiste en la fusión de células animales con bacterias que contienen el gen a ser introducido. Los protoplastos son preparados de antemano de la bacteria que contiene el plásmido recombinante. Protoplastos y células animales son puestas en contacto; la fusión de las membranas celulares por la adición del polietilenglicol, favorece la incorporación del plásmido dentro de la célula. Este método es raramente usado (Tagu & Moussard, 2003).

Microinyección. Es una técnica muy sensible, que requiere una gran especialización del personal que la realiza y un equipo delicado, sofisticado y costoso. La microinyección es una tecnología que permite la introducción mecánica de soluciones en el interior de la célula mediante una micropipeta que se controla con la ayuda de un micromanipulador, bajo un microscopio de alta resolución. Básicamente, se usa como un método para establecer líneas celulares que lleven copias integradas del ADN de interés.

Conclusión

La transformación genética en eucariotas incluye una amplia gama de métodos para incorporar ADN foráneo en los individuos; la utilización de los mismos dependerá en gran medida del objetivo de la transformación, así como de las características inherentes de los diferentes sistemas utilizados y en algunos casos de la solvencia económica de los laboratorios de investigación.

Literatura citada

Bower, R. & R. Birch. 1992. Transgenic sugarcane plants via microprojectile bombardment. *Theplantjournal*, 2(3): 409-416.

Camacho, F.; M. Capo; R. Toledo; J. de León; A. Talavera & E. M. Pérez. 2006. Transferencia de genes *in vitro* con polímeros catiónicos. *VacciMonitor*, 15(1): 17-21.

Carranza, D. 2011. Transformación de células vegetales: obtención de plantas transgénicas. Disponible en <http://ciencia-en-red.uncachodeciencia.org/biologia/Transformacion%20de%20celulas%20vegetales%20obtencion%2>

Ode%20plantas%20transgenicas.pdf

Degiovanni, B.; C. Martínez & F. Motta. 2010. *Producción Eco-Eficiente del Arroz en América Latina*. Tomo I. CIAT. 487 p.

Gómez-Núñez, L.; Olivera, M. T. J; Ruíz, L.; Gómez-Lim, M. A. & Loza-Rubio, E. 2011. Expresión de la proteína E del virus del Oeste del Nilo en callos embriogénicos de maíz, transformados mediante biobalística. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.*, 2(1): 01-14.

González, M. & A. Vega. 2007. ¿Cómo superar la membrana celular?. *Revista de Salud Animal*, 29:8-20.

Gutiérrez, M. A.; Santacruz, R. F.; Cabrera, P. J. & Rodríguez, G. B. 2003. Mejoramiento genético vegetal in vitro. *e-Gnosis*, (4): 1-19.

Izquierdo, M. 1999. *Ingeniería genética y transferencia génica*. Madrid, España. PIRAMIDE. 395 p.

Martínez, T. M.; Cabrera, P. J. L. & Herrera, E. L. 2004. Las plantas transgénicas: una visión integral. *e-Gnosis*, 2(2): 1-28.

Pawlowsky, W. & D. Somers. 1996. Transgene inheritance in plants genetically engineered by microprojectile bombardment. *Molecular Biotechnology*, 6:17-30.

Rivera-Domínguez, M. 2006. La biotecnología en plantas y aspectos biotecnológicos del mango. *INCI*, 31(2):95-100.

Russell, J.; M. K. Roy & J. C. Sanford. 1992. Physical trauma and tungsten toxicity reduce the efficiency of biolistic transformation. *Plant Physiol.*, 98: 1050-1056.

Sanford, J. 1990. Biobalistic plant transformation. *Physiologia Plantarum*, 79(1): 206-209.

Tagu, D. & C. Moussard. 2003. *Techniques for molecular biology*. INRA. Paris. 227 p.

Tzfira, T. & V. Citovzky. 2000. From host recognition to T-DNA integration: the function of bacterial and plant genes in the *Agrobacterium*-plant cell interaction. *Molecular Plant Pathology*, 1(4): 201-212.

Tzfira, T. & V. Citovsky. 2003. The *Agrobacterium*-Plant Cell Interaction. Taking Biology Lessons from a Bug. *Plant Physiology*, 133: 943-947.

Valderrama, F. A. M.; Arango, I. R. & Afanador, K. L. 2005. Transformación de plantas mediada por *Agrobacterium*: "Ingeniería genética natural aplicada". *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 59(2): 2569-2582.

Villuendas, G.; Gutiérrez-Adán, A.; Jiménez, A.; Roldán, E. & Pintado, E. 2001. Transformación de espermatogonias tipo A de ratón mediada por liposomas. *Investigación Agraria, Producción y Sanidad Animal*, 16(2): 291-299.

Walker, J. M. & E. B. Gingold. 1997. *Biología molecular y biotecnología*. Zaragoza, España. Editorial ACRIBIA, S.A. 475 p.

Fósforo disponible en dos fuentes orgánicas por acción de bacterias solubilizadoras de fósforo aisladas de un suelo cultivado con piña (<i>Ananas comosus</i>) YOLANDA CÓRDOVA BAUTISTA, MARCIA EUGENIA OJEDA MORALES, MIGUEL ÁNGEL HERNÁNDEZ RIVERA, GABRIEL MARTÍNEZ VÁZQUEZ & GABRIEL MARTÍNEZ PEREYRA.....	5
Digestores anaerobios: una alternativa para el tratamiento de residuos orgánicos y aprovechamiento del biogás JOSÉ AURELIO SOSA OLIVIER & JOSÉ RAMÓN LAINES CANEPA.....	11
Sorción de hidrocarburos en raíces de plantas fitorremediadoras MARTHA GABRIELA ZURITA CRUZ & ERIKA ESCALANTE ESPINOZA.....	17
Las colecciones del Jardín Botánico J. N. Rovirosa de la DACBiol y su importancia en la educación ambiental SILVIA CAPPELLO GARCÍA, LUISA DEL CARMEN CÁMARA CABRALES, MA. GUADALUPE RIVAS ACUÑA, ELÍAS JOSÉ GORDILLO CHÁVEZ, RODRIGO GARCÍA MORALES & MARÍA DEL ROSARIO BARRAGÁN VÁZQUEZ.....	23
Freshwater rotifer: (part II) a laboratory study of native freshwater rotifers <i>Brachionus angularis</i> and <i>B. quadridentatus</i> from Tabasco JEANE RIMBER INDY, SALOMÓN PARAMO DELGADILLO, LENIN ARIAS RODRÍGUEZ, GABRIEL MÁRQUEZ COUTURIER, HENDRIK SEGERS, CARLOS ALFONSO ÁLVAREZ GONZÁLEZ & WILFRIDO MIGUEL CONTRERAS SÁNCHEZ.....	31
Aplicación y beneficios de los inóculos bacterianos en la fitorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos SARA PÉREZ MONTERO, ILDEFONSO JESÚS DÍAZ RAMÍREZ & ERIKA ESCALANTE ESPINOSA.....	39
Transformación genética de eucariotas YAZMIN HERNÁNDEZ DÍAZ & ALINNE AUDREI MARTÍNEZ LÓPEZ.....	45
Áreas de oportunidad para mejorar el plan de monitoreo y gestión de la calidad de aire en Tabasco GABRIELA SASTRE DE DIOS, YESICA LÓPEZ RODRÍGUEZ, AIDA ARACELY RAMÍREZ ALEJANDRE, CLAUDIA CRISTELL AGUILAR CÓRDOVA, LUIS ALBERTO MARTÍNEZ GARCÍA & ELIZABETH MAGAÑA VILLEGAS.....	53
Códigos de Barras de ADN una nueva herramienta para la sistemática CARLOS MANUEL BURELO RAMOS, LIDIA IRENE CABRERA MARTÍNEZ, PATRICIA ROSAS ESCOBAR, MARÍA DE LOS ÁNGELES GUADARRAMA OLIVERA & NELLY DEL CARMEN JIMÉNEZ PÉREZ.....	61
Análisis y perspectivas del derecho ambiental en Tabasco OCTAVIO MIRANDA AGUADO.....	65
Casas VIETAB: construcción verde y azul CARLOS RODRÍGUEZ JIMÉNEZ, NOEMÍ MÉNDEZ DE LOS SANTOS, MERCEDES WADE ALEJO & JOSÉ RAMÓN LAINES CANEPA.....	71



ISSN - 1665 - 0514