

## Determinación del efecto de los Promotores 35S (constitutivo) y CDC2 (inducible) en la expresión de CAX1 y acumulación de Ca<sup>2+</sup> en *Rosa hybrida* L.

Pablo Godínez Pérez, Nutan Prasad Rout. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C. Av. Normalistas No. 800 Colinas de la Normal. Guadalajara, Jalisco. C.P. 44270. México. Tel. (33) 33455200. Ext. 1702.  
[pablo\\_godinez@hotmail.com](mailto:pablo_godinez@hotmail.com), [nutan@ciatej.net.mx](mailto:nutan@ciatej.net.mx).

### Resúmen:

La Rosa es una de las principales especies ornamentales en el Mundo por su gran importancia económica como flor de corte. El calcio (Ca<sup>2+</sup>) juega un papel muy importante y fundamental en rosa. Se ha demostrado que las flores tratadas con Ca<sup>2+</sup> permanecen turgentes y viables durante más tiempo. El nivel de Ca<sup>2+</sup> en las plantas puede ser dirigido mediante la expresión ectópica del gen **CAX1** (**CA**tion e**X**changer 1), transportador de Ca<sup>2+</sup> en *A. thaliana*; elevando los niveles de Ca<sup>2+</sup> celular; como fue el caso de cultivos como Tabaco, Papa y Tomate. La secuencia de CAX1 de *A. thaliana* de PUBMED fue analizada para encontrar su ORF. CAX1 se aisló a partir de cDNA de *A. thaliana* y fue clonado en los plásmidos pBIN121 (Promotor *CaMV35S*) y CDC2A (Promotor CDC2). Los plásmidos fueron transformados en *A. tumefaciens* cepa LBA4404. Se preparó el inoculo (CAX1::35S y CAX1::CDC2) para infectar embriones de *Rosa hybrida* L., micropropagados con anterioridad para realizar la transformación. En la etapa de selección de embriones putativamente transformados, se utilizó Kanamicina como primer filtro. Una vez regeneradas se hará la verificación de transformantes mediante PCR y análisis de acumulación de calcio. Mediante ORF FINDER (NCBI) fue encontrado el ORF para CAX1 y resultó de 1392nts de largo. El cDNA de la planta fue usado para amplificar CAX1 por PCR. El producto de PCR de CAX1 fue clonado en el plásmido pBI121 (BD Bioscience CLONTECH, Palo Alto, CA), en los sitios *Xba*I y *Sac*I, reemplazando el gen GUS. El mismo producto de PCR fue clonado en los sitios *Xba*I y *Sac*I del plásmido CDC2A. Los plásmidos recombinantes fueron verificados y secuenciados; en PUBMED BLAST, los resultados fueron 99% idénticos para CAX1 de *A. thaliana*. La transformación con *A. tumefaciens* fue un éxito. Solo el 5% de los embriones fueron seleccionados por Kanamicina, se encuentran en la etapa de regeneración y análisis de calcio.