



RESUMEN

El cempaxúchil (*Tagetes erecta* L.) es una planta ornamental que acumula carotenoides en inflorescencias de color amarillo o naranja, aunque también existen variedades blancas. Estos metabolitos tienen propiedades nutracéuticas y se utilizan para la prevención de algunas enfermedades. En esta investigación se evaluaron los daños causados en la pared y membrana celular por el bombardeo de partículas de oro en células desdiferenciadas de *T. erecta* L. de la variedad French Vanilla (FV). La caracterización de la cinética de crecimiento de callos se realizó utilizando peso seco (PS) diariamente durante 14 días. Se seleccionaron los puntos en la cinética de crecimiento celular (0, 4, 6, 11, 13 y 14 días) con el fin de bombardear micropartículas de oro con el plásmido pBI426, mediante la técnica de biobalística, a una distancia de 11.5 cm y una presión de 60 psi evaluando la expresión transitoria del gen *uidA*. Por otro lado, el uso de dos fluorocromos diferentes: diacetato de fluoresceína (DAF) y yoduro de propidio (PI) permitieron cuantificar la viabilidad de los callos bombardeados. Con el DAF se detectaron células vivas y con IP se identificaron células muertas. Finalmente, se evaluaron los cambios en la morfología de las células de callos bombardeados de cuatro tratamientos, bombardeados con medio osmótico (B/OS), bombardeados sin medio osmótico (B/sinOS), sin bombardear con medio osmótico (sinB/OS), y sin bombardear sin medio osmótico (sinB/sinOS). Las imágenes obtenidas se procesaron mediante tratamiento digital de imágenes (TDI), se observó plasmólisis en células bombardeadas, tratados previamente con medio osmótico de 0.2 M D-manitol. Los resultados mostraron que el día 4, en el tratamiento B/OS, es el mejor momento para bombardear ya que la expresión del gen *uidA* presentó un promedio de 44.6 foci y una viabilidad de 49.7%, por encima de los dos tratamientos restantes B/sinOS y sinB/OS, que no mostraron la expresión del gen *uidA*. En el análisis de imágenes de los tratamientos B/OS, B/sinOS, sinB/OS y sinB/SinOS, se pudieron observar cambios en los parámetros morfométricos como área, perímetro, circularidad y longitud máxima; en el área se observó un aumento después del 4 día y en cuanto a la circularidad, los callos presentaron una pérdida de su morfología esférica a través del tiempo, recuperándose después de 14 días, sugiriendo cambios morfoestructurales evidentes, en los cuales los valores de circularidad, van de 0.71 a un valor más irregular o alargado de 0.65 en pared



celular y, valores alrededor de 0.53 en la membrana celular en los tratamientos con medio osmótico lo que indica que está ocurriendo un cambio por efecto del tratamiento.

ABSTRACT

Marigold (*Tagetes erecta* L.) is an ornamental plant which accumulate carotenoids has yellow or orange inflorescences, even there are white varieties. These metabolites have nutraceutical properties and are used for the prevention of some diseases. In this research assessed the damage caused to the wall and cell membrane by gold particles bombardment in undifferentiated cells of *T. erecta* of marigold French Vanilla variety (FV). Callus growth kinetic characterization was performed in dry weight (DW) daily for 14 days. Points were selected on the kinetics of cell growth (0, 4, 6, 11, 13 and 14 days) in order to bombard gold microparticles with plasmid pBI426, by biolistic technique, at distance of 11.5 cm and a pressure of 60 psi, evaluating transient expression of *uidA* gene. On the other hand, use of two different fluorochromes: fluorescein diacetate (DAF) and propidium iodide (PI) allowed quantify viability of bombarded calluses. DAF was detected with living cells and dead cells were identified IP. Finally, were evaluated changes in cell morphology of bombarded calli of the four treatments were evaluated, bombarded with osmotic medium (B/OS), bombarded without osmotic medium (B/sinOS) not bombarded with osmotic medium (sinB/OS), and not bombarded without osmotic medium (sinB/sinOS). Obtained images were processed using digital image treatment (TDI), plasmolysis was observed in bombarded cells, pretreated with osmotic medium of 0.2 M D-mannitol. Results showed that day 4 is the best moment to bombard because *uidA* gene expression showed a mean of 44.6 foci and viability of 49.7%, above the two remaining treatments B/sinOS and sinB/OS, which showed no *uidA* gene expression. From the captured and processed images analysis of treatments B/OS, B/sinOS, sinB/OS and sinB/sinOS, were observed changes in the shape descriptors such as area, perimeter, circularity and maximum length, observing area increased after day 4 and, circularity of calli was losing their balance or spherical morphology over time and not recovered after 14 days, suggesting evident morphostructural changes in which the values of circularity, ranging from 0.71 to a more irregular or elongated value of 0.65 in cell wall and, values around 0.53 in the cell membrane with osmotic treatments medium indicating that it is happening a change by treatment effect.