



ANÁLISIS FUNCIONAL DEL GEN *CaLEA73* DE *CAPSICUM ANNUUM* CV CABALLERO EN PLANTAS DE *ARABIDOPSIS THALIANA* SOMETIDAS A ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO

Angela María Chapa Oliver¹, Gerardo Acosta García¹, Irineo Torres-Pacheco², Lorenzo Guevara Olvera¹, Juan Gabriel Ramírez Pimentel³, Ramón Gerardo Guevara-González²

1 Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Ave. Tecnológico y A. García-Cubas, S/N, Col. Fovissste. C.P. 38010, Celaya, Gto, México (angelox2040@hotmail.com). 2 Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería, Cerro de las Campanas s/n. Querétaro, México (ramon.guevara@uaq.mx). 3 Instituto Tecnológico de Roque, Carretera Celaya-J. Rosas, Km 8. C.P. 38110. Celaya, Gto. México.

Palabras clave: Proteínas LEA, estrés abiótico, estrés hídrico.

Introducción Últimamente se ha prestado una especial atención a las proteínas LEA debido a que se ha encontrado que están asociadas con la tolerancia al estrés abiótico (Tunnacliffe, 2007). El gen *CaLEA73*, el cual codifica para una proteína LEA (*Late Embryogenesis Abundant*) se obtuvo de semillas de *Capsicum annuum* cv. Caballero cuando estas se sometieron a un proceso de osmocondicionamiento (Cortéz-Baheza, 2007). Este gen fue inducido en plantas de *C. annuum* cv. Caballero y se encontró que era expresado en varios tejidos de la planta cuando éstas fueron sometidas a estrés hídrico y a bajas temperaturas.

Por lo anterior se pretende analizar el papel del gen *CaLEA73* de *C. annuum*, en la tolerancia al estrés hídrico y salino en plantas de *A. thaliana*.

Metodología Por medio de Ingeniería Genética y PCR se generaron sitios de restricción para las enzimas *Xba* I y *Sac* I en los extremos 5' y 3' respectivamente, del gen *CaLEA73*. Se utilizó el plásmido pBI121 digerido con las mismas enzimas y se ligó con el inserto *CaLEA73*. Se transformaron mediante la técnica de electroporación células de *A. tumefaciens* cepa pGV2260. Se llevó a cabo la transformación de plantas de *A. thaliana* mediante el método de infiltración floral (Clough, 1998). Las líneas transgénicas se seleccionaron en medio MS adicionado con Kanamicina (60mg/l). La presencia del gen se verificó por medio de PCR y su expresión por RT-PCR.

Resultados y discusión En la figura 1 se muestra el RT-PCR de la línea 1, observándose la banda correspondiente al gen *CaLEA73* (368pb) lo que indica que la planta está expresando el gen en un nivel similar al gen de actina utilizado como control.

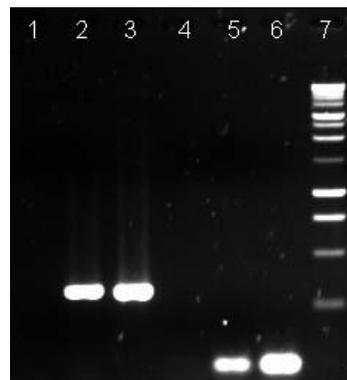


Fig. 1 RT-PCR línea 1. Carril 1 Control (-); carril 2, línea 1; carril 3, control +; carril 4, control (-); carril 5, Act2 línea 1; carril 6, Act2 WT

Conclusiones Hasta el momento se cuenta con una línea de expresión del gen *CaLEA73*, y se está en espera de otras 2 líneas más para llevar a cabo las pruebas de tolerancia a estrés hídrico y salino.

Agradecimientos Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por hacer posible este trabajo.

Bibliografía

1. Tunnacliffe, A., Wise, M.J. (2007). The continuing conundrum of the LEA proteins. *Naturwissenschaften*, 10:791-812.
2. Cortez-Baheza, E., Cruz-Fernandez, F., Hernández-Álvarez, M., Peraza-Luna, F., Aguado-Santacruz, G., González-Chavira, M., Torres-Pacheco, I., Guevara-Olvera, L., Guevara-González, R. (2007). A new lea gene is induced during osmopriming of *Capsicum annuum* L seeds. *Ame. J. of P. Physiol.* 2:99-106.
3. Clough S., Bent A. (1998). Floral dip: a simplified method for the *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*. 16: 735-743.

