



CLONACIÓN Y CLASIFICACIÓN DE GENES DE *Bouteloua gracilis* EXPRESADOS EN CONDICIONES DE ESTRÉS HÍDRICO

Perla L. Ordóñez-Baquera., Gerardo A. Aguado-Santacruz., Sigifredo Arévalo-Gallegos., Blanca E. Rivera-Chavira., Armando Segovia-Lerma., Carlos Calderón-Ligné., Pablo Delgado-Sánchez., Quintín Rascón-Cruz.*

*Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Cd. Universitaria s/n, CP 31070, Apartado Postal 1542-C. Chihuahua, México. (614) 414-4492 grascon@uach.mx

Palabras clave: *Bouteloua*, EST's, estrés hídrico.

Introducción. La escasa precipitación que se presenta sobre la mayor parte de nuestro país, limita grandemente la producción agrícola en zonas de temporal. En consecuencia, la obtención de variedades de plantas con una mayor tolerancia al estrés hídrico ha sido uno de los objetivos fundamentales en el mejoramiento genético de plantas. En este sentido se identificó una especie de pasto con alto grado de resistencia a la sequía *Bouteloua gracilis*, lo que la convierte en un candidato ideal para el estudio del estrés hídrico, principalmente para la identificación de los genes que le confieren esta característica. En nuestro grupo de trabajo se ha desarrollado una línea celular de pasto (a partir de células clorofílicas) que podría ser un excelente modelo para el análisis de los mecanismos celulares que capacitan a *B. gracilis* para enfrentar las condiciones limitantes de agua⁽¹⁾. Algunos genes, que normalmente no se expresan en ausencia de estrés hídrico podrían empezar a expresarse bajo esta condición. Para la identificación de estos genes en *B. gracilis* es necesario emplear una metodología que nos permita diferenciarlos de los genes que se expresan de manera constitutiva. Las bibliotecas sustractivas de cDNA son una herramienta con un gran potencial ya que ofrecen la ventaja de comparar dos poblaciones de mRNA y aislar los cDNA's de genes que son tanto sobre expresados o exclusivamente expresados en una de las dos poblaciones comparadas⁽²⁾.

El objetivo del presente trabajo consiste en la realización de bibliotecas sustractivas de *B. gracilis* y la clasificación en clusters de acuerdo a su función para una posterior identificación de los genes responsables de la resistencia a estrés hídrico.

Metodología. La extracción de mRNA total realizada con Concent (Invitrogen, USA). Se purificó mRNA utilizando Dynabeads (DynaL, OSLO) en dos diferentes condiciones de cultivo. 0% de Polietilenglicol (PEG) y 14% de PEG. Se utilizó el kit para bibliotecas sustractivas Clontech PCR-Select (Clontech, USA), y la condición de 14% de PEG como tester. La secuenciación se llevó a cabo en laboratorio de Genómica del CINVESTAV-U. Irapuato, las secuencias resultantes filtradas, sin secuencias del vector, se compararon en la base de datos://ira.cinvestav/mazorka.html

Resultados y discusión. La biblioteca sustractiva generada en condiciones de estrés osmótico produjo 261 clonas con secuencias filtradas de alta calidad. Los resultados de homología con la base de datos indican que de los 261 genes secuenciados; un alto porcentaje codifican para proteínas de

función desconocida (44%), en las cuales probablemente encontremos los genes responsables de resistencia a estrés, el resto (56%) se clasificaron en 10 diferentes categorías, de acuerdo a su función (Figura 1). 184 genes (71%) se encontraron en uno de los 41 clusters que se formaron y 77 (29%) se encontraron de forma individual (Cuadro 1), lo que sugiere que los genes en clusters tienen un alto nivel de expresión debido probablemente a la carencia de agua.

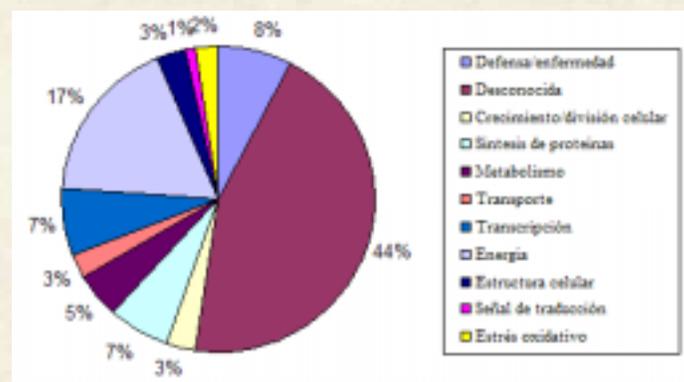


Figura 1. Clasificación de genes de B.g. de acuerdo a su función

Cuadro 1. Porcentaje de formación de clusters* de los genes de *B. gracilis* expresados bajo condiciones de estrés hídrico.

Genes	Número	%
Cluster	184	70.49
Individuales	77	29.51
Total	261	100

*<http://ncbi/blastnr>

Conclusiones. Se clonaron y secuenciaron genes específicos de células clorofílicas de *B. gracilis* en condiciones de estrés hídrico. Debido al enorme porcentaje de genes a los que no se les asigna una función definida derivada de la comparación con las bases de datos actuales, estos representan un gran potencial de aplicación biotecnológica.

Agradecimientos. Los autores agradecen el apoyo otorgado por FCQ-UACH y CONCyTEG.

Bibliografía.

⁽¹⁾Aguado G., Cabrera J., Ramírez E., León, C., Rascón, Q., Herrera L. y Olalde, V. (2001). Establishment, characterization and plant regeneration from highly chlorophyllous embryogenic cell cultures of blue grama grass, *Bouteloua gracilis* (H.B.K) Lag. Ex Steud. Plant Cell Reports. (20):131-136.

⁽²⁾Yamamoto K. y Sasak T. (1997). Large-scale EST sequencing in rice. Plant Mol. Bio., (35):135-144.