



## IDENTIFICACIÓN DEL GEN QUE CODIFICA PARA LA PROTEÍNA HISTIDIN CINASA EN *Scleroderma texense*

Salvador Embarcadero J., Brenda M. Gijón G., Joselyne Granillo V., Rubén A. Hernández H., Thelma V. López F., Ma. de los Ángeles Martínez R., Nora B. Medina J., y Aída V. Rodríguez T. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Laboratorio de Micología Médica y Laboratorio de Fisiología Vegetal. Plan de Ayala y Carpio s/n Col. Sto. Tomás, 11340 México D.F. Fax: 57296207. e-mail: [avrodriguez@hotmail.com](mailto:avrodriguez@hotmail.com)

*Scleroderma texense*, señales de transducción, histidin cinasa

### Introducción:

La micorriza es una asociación simbiótica mutualista establecida entre las hifas de un hongo y las raíces de una planta. Los hongos micorrízicos juegan un papel fundamental en la absorción de minerales esenciales del suelo, los cuales se encuentran frecuentemente de forma no asimilable para la planta (1), además depende del simbionte fúngico la absorción de nutrientes del suelo y traslocar estos o sus metabolitos, a las raíces simbióticas a través del extenso micelio vegetativo (2). El intercambio de señales antes del establecimiento de la ECM (ectomicorriza) ha sido demostrado. Estudios han demostrado la presencia de moléculas quimiotácticas de la raíz capaces de atraer al micelio ectomicorrízico. El hongo también es un participante activo en el proceso de señalización, ya que algunos compuestos han sido purificados de hongos EM antes de la fase de contacto entre los dos simbiontes (3).

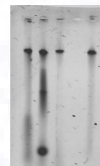
En los microorganismos, las vías de señales de transducción son el principal mecanismo de regulación mediante el cual responden a cambios o señales del medio. El sistema de dos componentes esta ampliamente distribuido en la mayoría de los organismos vivos, desde bacterias, arqueas, eucariontes unicelulares, hongos hasta plantas superiores (4). Este sistema esta formado por dos elementos principales, una proteína que detecta cambios en el medio llamada histidin-cinasa y una proteína reguladora de respuesta, que en la mayoría de los casos es un regulador transcripcional cuya actividad es controlada por la primera.

### Metodología

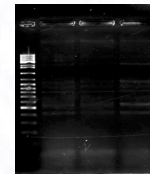
Nuestro grupo de trabajo esta interesado en el estudio del sistema de dos componentes, se decidió buscar si en el genoma del hongo EM *Scleroderma texense* existe el gen que codifica para la proteína histidin cinasa, para lo cual se llevo a cabo la siguiente metodología. Se cultivo el hongo EM en medio Litchfield y Arthur por dos semanas a 26°C. La biomasa obtenida fue usada para hacer extracción de DNA genómico por el método del CTAB modificado. Se diseñaron iniciadores degenerados usando las secuencias altamente conservadas de los genes reportados en el banco de genes. Se estandarizo la técnica de PCR con el objetivo de amplificar una banda de 400pb. Teniendo ya el producto de PCR purificado se clono en el vector comercial TOPO PCR4 y se secuenció con el objetivo de analizarlo con herramientas bioinformáticas y corroborar la presencia del gen en *S. texense*. Además se monto un ensayo de micorrización usando plántulas de *Pinus montezumae* para observar el efecto del hongo en el crecimiento de pino.

### Resultados

Se obtuvo DNA de *S. texense* de buena calidad con el cual se amplifico una banda de aproximadamente 400pb, debido a que los iniciadores son degenerados la reacción de PCR fue inespecifica y purifico la banda con un KIT de purificación. Posteriormente se llevo a cabo la clonación y extracción de DNA plasmídico.



DNA de *S. texense*



Gel de agarosa al 1.4% muestra los productos de amplificados

Se evaluó el efecto que tiene la interacción ectomicorrízica entre el hongo EM *S. texense* y *P. montezumae* observando que el pino sometido a micorrización presenta un mayor tamaño que la planta testigo que no fue inoculada.



Ensayo de micorrización con *S. texense* y *P. montezumae*



Efecto del hongo *S. texense* en *P. montezumae*

### Conclusiones

Se corroboró que el hongo *S. texense* presenta el gen que codifica para la proteína histidin-cinasa perteneciente al sistema de dos componentes, el cual puede ser el sistema responsable de iniciar la interacción micorrízica. También se observo el efecto positivo que ejerce el hongo EM en plantas de pino.

### Agradecimiento

Este trabajo se llevo a cabo con financiamiento otorgado por la SIP-IPN al proyecto Estudio Molecular del Sistema de dos componentes de *Scleroderma texense*. Clave SIP2006316.

### Bibliografía

1. Smith S.E., Read D.J. (1997) *Mycorrhizal symbiosis*. 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press. Nueva York, EEUU. 605 pp.
2. Barker S.J., Tagu D. and Delp G. (1998). Regulation of root and fungal morphogenesis in mycorrhizal symbiosis. *Plant. Physiol.* (116):1201-1207.
3. Horan D.P. and Chilvers G.A. (1990). Chemotropism; the key to ectomycorrhizal formation? *New Phytol.* (116):297-301.
4. Hoch J.A. (2000). Two-component and phosphorelay signal transduction. *Curr Opin Microbiol.* 3(2):165-70.