



## Análisis Transcripcional de Genes Inducidos en *Capsicum chinense* BG-3821 Durante la Interacción con el Virus Huasteco de la Vena Amarilla del Chile (PHYVV)

Ahuitzolt de Jesús Joaquín-Ramos<sup>1</sup>, Irineo Torres-Pacheco<sup>2</sup>, Lorenzo Guevara-Olvera<sup>1</sup>, Mario González-Chavira<sup>2</sup>, Ramón Gerardo Guevara González<sup>1</sup>, Rafael River-Bustamante<sup>3</sup> correo-e: [ahuitzolt\\_jjr@yahoo.com.mx](mailto:ahuitzolt_jjr@yahoo.com.mx)

1. Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica Av. Tecnológico y Antonio García Cubas s/n, C. P. 38010, Tel. 014616117575; 2. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias del Bajío, Carr. Celaya-San Miguel de Allende Km 6.5, C.P. 38010, Tel 014616115323; 3. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV)-Irapuato, Departamento de Ingeniería Genética, Km 9.6 Libramiento Norte, Irapuato, Gto. 36500, México

*Palabras clave:* Fitohormonas, silenciamiento y geminivirus.

**Introducción.** En trabajos previos se lograron aislar EST's de *C. chinense* BG-3821 durante la interacción con el PHYVV, el análisis de las secuencias de algunos, mostró semejanza con genes involucrados en interacciones planta-patógeno y existen datos donde se relaciona su expresión con la presencia de las fitohormonas etileno (Et) y ácido jasmónico (AJ) [1].

Por otra parte el silenciamiento genético mediado por virus (VIGS) permite elucidar la función de genes *in vivo* dentro de organismos eucariontes, plantas en nuestro caso, en breves periodos de tiempo y sin necesidad de infraestructuras costosas. En este campo los geminivirus representan una herramienta biotecnológica factible y han sido usados en varios sistemas [2].

En el presente trabajo se indujeron plantas de *C. chinense* BG-3821 con precursores de ácido jasmónico y etileno para analizar el comportamiento de algunos EST's. Para el silenciamiento se utilizó el EST denominado R100 (similar a proteína germina), del cual se subclonaron 3 fragmentos (535, 103 y 93 pares de bases) en el vector derivado del PHYVV.

**Metodología.** Plantas BG-3821 fueron inducidas con soluciones acuosas de los precursores etefón (Et) y metil jasmonato (AJ), colectando tejido a las 0, 6, 12, 24 y 48 horas dpi y se extrajo el ARN para el análisis northern y se sintetizó ADN complementario de la muestra a las 24 horas para ser usado como sonda molecular en los arreglos.

Para la generación de los VIGS se sintetizaron 3 fragmentos de (535, 103 y 93 pb) a partir de la secuencia del EST R100 y fueron subclonados en el vector derivado del PHYVV bajo el promotor de la cápside. Una vez generadas las construcciones, se inocularon las plantas con el virus silvestre, con el vector y con las 3 construcciones. Una vez hecho esto, se aisló ADN genómico para probar la presencia y movilidad del virus y los vectores. Hecho esto ultimo, se extrajo ARN para sintetizar ADN que fue usado en el northern virtual.

**Resultados.** En la figura 1 se observa la grafica de niveles de expresión de algunos EST's en presencia de Et y AJ. Señalando aquí a la clona 105 cuya secuencia es similar a

otra proteína tipo germina pero esta solo respondió al estímulo del Et.

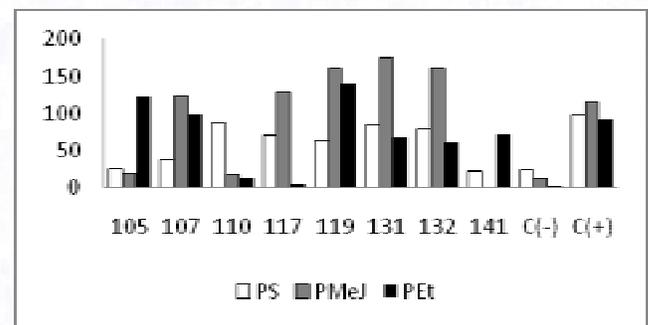


Figura 1. Grafica de expresion diferencial de arreglos hechos con metil jasmonato. Y = niveles de intensidad, X. numero de la clona. P. S. sonda molecular de planta sana, PMej., sonda molecular de planta inducida con MeJ y PEt, planta inducida con Etileno.

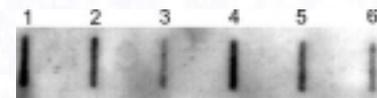


Figura 2. Northern virtual, usando como sonda la secuencia de R100, de plantas inoculadas con: 1. PHYVV silvestre, 2. Vector 3. Fragmento de 535 pb, 4. Fragmento de 103 pb, 5. Fragmento de 93 pb y 6. planta control (pBs SK+)

En la figura 2 se observa un decaimiento de la intensidad de la señal en la posición 3 con respecto a la posición 2, indicando degradación del transcrito que corresponde al gen R100.

**Conclusiones.** El Et regula positivamente al EST 105 cuya secuencia es similar a otra proteína tipo germina. El fragmento de 535 pb y que contenía un dominio conservado (cupinas) redujo en 65% los niveles de transcritos del gen R100 con respecto a los niveles de la planta inoculada con el vector derivado del PHYVV.

### Referencias.

- Pieterse, C., Van Loon J. y L. (2001). Cross-talk between plant defense signaling pathways: boost or burden? *AgroBioTechNet*. Vol. 3: 1-8.
- Carrillo, J., Shimada, H., Rivera, R. (2006). Use of geminiviral vectors for functional genomics. *Curr. Op. in Plant Biol.* Vol. 9: 209-215.