



ANÁLISIS DEL GENOMA ÚNICO DE LA CEPA DE *Rhizobium etli* Ch24-10 RESPECTO A LA CEPA TIPO CFN42

Martha G. López-Guerrero, Mónica Rosenblueth, Esperanza Martínez-Romero.

Programa de Ecología Genómica, Centro de Ciencias Genómicas, UNAM, Av. Universidad s/n, Cuernavaca, Morelos 62210, México; 52-777-3175581. marsgl@ccg.unam.mx, biomar_gl@yahoo.com.mx

Palabras clave: *Rhizobium etli*, endófito, promoción del crecimiento.

Introducción. *Rhizobium etli* bv. phaseoli se asocia al frijol para formar nódulos fijadores de nitrógeno, es un endófito natural del maíz y promueve el crecimiento de éste cereal (1). La cepa Ch24-10 tiene una competitividad alta para colonizar la rizósfera y raíz del maíz, es resistente a una fitoalexina secretada por el maíz (2), es más competitiva que la cepa tipo CFN42 para nodular y fija mayor cantidad de nitrógeno que ésta y aparentemente es más competitiva que la cepa CFN42 para colonizar al maíz. Mediante hibridación DNA-DNA total entre las cepas CFN42 y Ch24-10 se determinó que comparten el 85% del genoma aproximadamente (Datos no publicados). Debido a las diferencias mencionadas entre estas dos cepas, que el genoma de la cepa CFN42 se estaba secuenciando al momento de conocerlas (3), y que la diferencia genómica entre cepas puede conferir características particulares, se realizó una hibridación sustractiva (4), para generar una librería que contuviera el genoma único de la cepa Ch24-10 respecto a la CFN42.

El genoma único de la cepa Ch24-10 pudiera contener los determinantes en su interacción con el maíz, por lo que se propuso obtener la secuencia de la librería y analizarla para identificar genes putativos, así como conocer la ubicación de algunas clonas en el genoma (cromosoma o plásmido y cercanía), y determinar la presencia de elementos comunes con otras cepas de *R. etli* de diferente origen geográfico.

Metodología. Se obtuvieron las secuencias de la librería genómica de *R. etli* Ch24-10 y se compararon con el genoma de la cepa CFN42 (3) mediante blastx para eliminar secuencias con identidad. Las secuencias sin identidad se analizaron utilizando blastx (para identificar su posible función y mediante blastp para identificar la presencia de dominios conservados (5)). Mediante hibridación tipo Southern se realizó la localización en el genoma de 23 clonas seleccionadas aleatoriamente. La comparación con el genoma parcial de las cepas de *R. etli* Kim5, Bra 5, 8C3 y CIAT894 se realizó mediante blastn (5)

Resultados y discusión. Se identificaron genes putativos que no se encuentran en la cepa CFN42 y que pudieran ser importantes en la competitividad, la colonización y promoción del crecimiento del maíz. Reguladores transcripcionales de 4 familias (GntR, LysR, RiorF y AraC), Regulación de respuesta (Histidina cinasa, proteínas con dominio EAL), Proteínas involucradas en el transporte y secuestro de hierro, Proteínas involucradas en la síntesis de pared celular, Proteínas relacionadas al quórum sensing

(LuxA, además del regulador RiorF), Proteína relacionada con la síntesis de ácido indolacético, Proteína capaz de mimetizar ubiquitina, (ubiquitin like protein 1).

Se encontró que el 30% del genoma analizado para su localización, se encuentra en plásmidos. No se identificaron elementos contiguos. Se identificaron 27 elementos comunes en una o más de las de *R. etli* entre los que destacan: LysR, ULP1 y lisina-ornitina monooxigenasa.

Conclusiones. La presencia de elementos comunes en las otras cepas de *R. etli* permitió saber que el genoma único de la cepa Ch24-10 respecto a la cepa CFN42 lo comparten algunas otras cepas del grupo, lo que abre la pauta para estudios de Genómica evolutiva en un futuro. Se han identificado mediante bioinformática genes candidatos que pudieran ser determinantes en las características que posee *R. etli* Ch24-10. Se generó la base para un estudio experimental posterior lo que permitirá en un futuro el aprovechamiento de esta cepa en Agricultura Sustentable, como Biofertilizante o como Control biológico.

Agradecimiento. A el M. en C. M.A. Rogel por la realización de la Hibridación Sustractiva, a la M. en C. R. I. Santamaría por la comparación de las secuencias con el genoma parcial de las cepas de *R. etli* Kim5, Bra 5, 8C3 y CIAT894, a J.L. Ocampo por el apoyo técnico durante la realización del proyecto.

Bibliografía.

1. Gutierrez-Zamora ML & E Martínez-Romero (2001) Natural endophytic association between *Rhizobium etli* and maize (*Zea mays* L.) *J Biotechnol* 91:117-126
2. Rosenblueth M & E. Martínez-Romero (2004) *Rhizobium etli* maize populations and their competitiveness for root colonization. *Arch Microbiol* 181:337-344
3. González V, RI Santamaría, P Bustos, I Hernández-González, A Medrano-Soto, G Moreno-Hagelsieb, S Chandra Janga, MA Ramírez, V Jiménez-Jacinto, J Collado-Vides & G Dávila (2006) The partitioned *Rhizobium etli* genome: Genetic and metabolic redundancy in seven interacting replicons. *PNAS* 103: 3834-3839.
4. Akopyants NS, A Fradkov, L Diatchenko, JE Hill, PD Siebert, SA Lukyanov, ED Sverdlov & DE Berg (1998) PCR-based subtractive hybridization and differences in gene content among strains of *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci* 95:13108-13113.
5. Altschul SF, TL Madden, AA Schäffer, J Zhang, Z Zhang, W Miller & DJ Lipman (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 25:3389-340