



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



Un ex GENES EXPRESADOS DURANTE LA PATOGÉNESIS DE *MACROPHOMINA PHASEOLINA* (TASSI) GOID.

Edgar Saul Rodríguez-López¹; Lucila Méndez-Morán², Juan Manuel González-Prieto³

¹Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada unidad-Altamira. IPN, km 14.5 Carr. Tampico-Pto. Industrial Altamira, Altamira, Tams. C.P. 89600. ²Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, División de Ciencias Biológicas y Ambientales, Departamento de Ecología, km 15.5 Carr. Guadalajara-Nogales, Las Agujas, Zapopan, Jal. C.P. 45110. ³Centro de Biotecnología Genómica IPN. Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Blvd. del Maestro esq. Elías Piña s/n, Col. Narciso Mendoza, Reynosa, Tams. C.P. 88710. E-mail: esrodriguezl@ipn.mx

Palabras clave: Expresión diferencial, Hongo necrófito, Hibridación sustractiva.

Introducción.

La patogénesis en los hongos se ha abordado desde dos aspectos principales: a nivel celular, involucrando el reconocimiento del hospedante, la fijación, la penetración e invasión en el hospedante y la formación de estructuras de reproducción. El nivel molecular comprende la recepción de estímulos o señales, la transducción de estas al núcleo y finalmente el cambio de la expresión génica para la adaptación del patógeno a las condiciones proporcionadas por el hospedante. La expresión génica durante el proceso patogénico guarda relación con la etapa de infección, en la cual los genes se pueden inducir, mantener o reprimir. *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. es un hongo patógeno, necrófito, capaz de resistir a condiciones ambientales adversas y es causante de la enfermedad denominada 'pudrición carbonosa' que afecta a más de 500 especies de plantas. En este trabajo se realizó el estudio de los genes expresados diferencialmente de *M. phaseolina* por medio de la técnica hibridación sustractiva (HS) en la interacción con frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) var. pinto UI114.

Metodología.

Las interacciones realizadas entre la plántula de frijol-*M. phaseolina* HMP05, se realizaron en medio MS dentro de una cámara bioclimática a una temperatura de 25 °C con un fotoperiodo de 16 h luz durante 7 días; se obtuvieron muestras de RNA después de 12, 24, 48, 72 y 96 h, de raíz control (no infectada) y de raíz problema (infectada) para la extracción de RNA total; cada muestra se almacena a -70 °C. Se utilizó la técnica de Hibridación sustractiva⁽¹⁾ para obtener un banco diferencial con el material obtenido en la interacción a las 48 h. Para el análisis por macroarreglos las membranas fueron hibridadas⁽²⁾ por quimioluminiscencia (Roche™), usando 2 sondas de cDNA control y 2 sondas problema correspondientes a los tiempos de 48 y 72 h

Resultados. A las 48 h de interacción entre frijol y *M. phaseolina* se observó en microscopio la adhesión de las hifas y microesclerocios a la superficie de la raíz (Fig. 1). Por HS se obtuvo un total de 254 clonas positivas, que

mostraron expresión diferencial, las cuales fueron hibridadas en un macroarreglo. La hibridación por macroarreglos permitió confirmar la expresión diferencial de algunos insertos de estos plásmidos (Fig. 2).

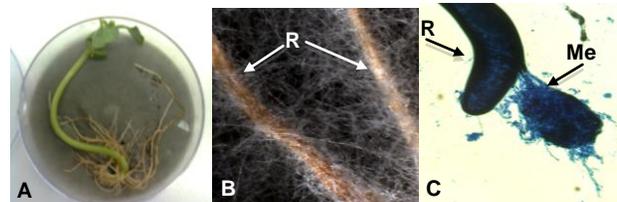


Fig. 1. Interacción de *M. phaseolina* - *P. vulgaris* a las 48 h. -A. Interacción en caja petri, previo a la extracción de RNA. -B. Raíces (R) invadidas por *M. phaseolina*, vista de estereoscopia. -C. Microesclerocio (Me) adherido a raíz de *P. vulgaris* vista en microscopio óptico con aumento de 10X.

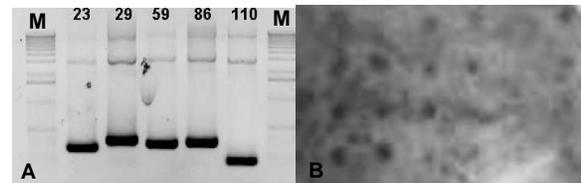


Fig. 2. -A. Amplificación de clonas al azar provenientes de la HS. -B. Hibridación de plásmidos por macroarreglo.

Conclusiones. Se logró obtener un banco diferencial por HS y confirmada la expresión diferencial de algunos genes por macroarreglo.

Agradecimiento. Proyecto CONACyT Ciencia Básica 84557 y Beca de movilidad Santander-ECOES. Beca PIFI-IPN. Dra. Lucila Méndez Morán del CUCBA-U.de G.

Bibliografía.

1. Diatchenko L., Lau Y-F.C., Campbell A.P., Chenchik A., Moqadam F., Huang B. Lukyanov S., Gurskaya N., Sverdlov E.D., Siebert P.D. (1996). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93 (12):6025-6030.
2. Höltke H.J., Ankenbauer W., Mühlegger K., Rein R., Sagner G., Seibl R., Walker T. (1995). *Cell. Mol. Biol.* 41(7):883-905.