



CONSTRUCCIÓN DE UN BANCO SUBTRACTIVO DE FRAGMENTOS DE GENES REGULADOS POR POLIAMINAS E INVOLUCRADOS EN LA PATOGÉNESIS DE *Phytophthora capsici* Leonina EN CHILE (*Capsicum annuum* Linnaeus)

Diana Casique-Aguirre, Adán T. Morales-Vargas, Claudia I. Muñoz-Sánchez, Gerardo Acosta-García y Lorenzo Guevara-Olvera. Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Maestría en Ciencias de Ingeniería Bioquímica, Av. Tecnológico y Av. García Cubas S/N, C.P. 38010, Celaya, Guanajuato, México.
E-mail: dian_49@hotmail.com.

Palabras clave: *Phytophthora capsici*, Poliaminas, SSH.

Introducción.

La “marchitez” causada por *Phytophthora capsici* Leonian es un factor limitante para la producción de chile (*Capsicum annuum* Linnaeus), causando pérdidas entre el 10 y 100 % de la producción. Se han realizado trabajos enfocados a erradicar al principal agente causal de la marchitez del chile, los cuales no han podido frenar la enfermedad. Se ha demostrado en *P. capsici* mediante el empleo de un inhibidor competitivo 1,4-diamino-2-butanona (DAB) una correlación directa entre el fenómeno de diferenciación celular y patogénesis (1), donde la ornitina descarboxilasa (ODC), la enzima inicial en la síntesis de poliaminas juega un papel importante en ambos eventos (4,5).

Así, en el presente trabajo se identificarán y aislarán fragmentos de genes regulados por poliaminas y posiblemente involucrados en la patogénesis *P. capsici* sobre *C. annuum* L empleando la técnica de Hibridación Substractiva bajo condiciones de Supresión (SSH) para tratar de identificar potenciales blancos genéticos para el desarrollo de estrategias para el control de “marchitez del chile”.

Metodología. Se realizaron interacciones planta-patógeno (Condición Problema) donde se están expresando genes relacionados con diferenciación celular y patogénesis; por otra parte en el sistema planta-patógeno-DAB (Condición Control), estos mismos genes no se estarán expresando debido a la presencia del DAB. El micelio de *P. capsici* control y problema fue cosechado después de una 90 min de interacción para la síntesis de ADNc partiendo de ARN total. La SSH de los cDNAs control y problema descrita por Diatchenko (2) fue realizada empleando el método de substracción por PCR (Clontech). Los productos seleccionados fueron clonados se mandaron a obtener su secuencia para la construcción del banco substractivo de ADNc.

Resultados. Con la SSH se obtuvieron el enriquecimiento de los fragmentos expresados diferencialmente. Se comparo la secuencia de las clonas obtenidas con la base de datos del NCBI (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación de las secuencias con la base de datos del NCBI

Clona	Similitud	Nivel de significancia	% de identidad
150	hypothetical protein Bm1_17870 [<i>Brugia malayi</i>]	2e-13	79.0 %
14	hypothetical protein CHLREDRAFT_155068 [<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>]	7e-13	77.4%
15	hypothetical protein Bm1_05555 [<i>Brugia malayi</i>]	1e-08	55.1%
85	ribulose 1,5 bisphosphate carboxylase/oxygenase, small subunit [<i>Limonium gibertii</i>]	7e-06	53.9%

Conclusiones. El establecimiento de un sistema de interacción planta patógeno y la inhibición de patogénesis con DAB permitió obtener un sistema de expresión genética diferencial el cual mediante la técnica de SSH se aislaron y caracterizaron fragmentos de genes regulados por poliaminas y posiblemente relacionados con patogénesis.

Agradecimientos. Al Instituto Tecnológico de Celaya, CONACYT y FOMIX.

Bibliografía.

1. Cruz-Vázquez, J.K. (2003). Caracterización molecular del gen *ornitina descarboxilasa* de *Phytophthora capsici*. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Celaya.
2. Diatchenko L., Lau, Y. F., Cambell, A. P., Chenchik, A., Moqadam, F., Huang, B., Lukyanov, S., Lukyanov, K., Gurskaya, N., Sverdlov, E. D., y Siebert, P. D. (1996). Suppression subtractive hybridization: A method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. *Biochemistry*. Vol. 93, pp. 6025–6030, June 1996
3. Fernández-Pavia (1997). Host -pathogen interactions in the *Phytophthora capsici*-*Capsicum annuum* pathosystem Ph. D. thesis. New Mexico State University, Las Cruces, NM, USA 109 p.
4. Guevara-Olvera L., Xoconostle, C. B., y Ruiz-Herrera, J. (1997). Cloning and disruption of the ornithine decarboxylase gene of *Ustilago maydis*: evidence for a role of polyamines in its dimorphic transition. *Microbiol.* 143: 2237-2245.
5. Ruiz-Herrera, J. (1994). Polyamines, DNA methylation, and fungal differentiation. *Crit. Rev. Microbiol.* 20: 143-130.