

ANÁLISIS MOLECULAR DEL PAPEL DEL GEN ORNITINA DESCARBOXILASA (*Sc ODC*) EN LA PATOGÉNESIS DE *Sclerotium cepivorum* EN AJO (*Allium sativum*).

Ana Elisa Hermosillo G., Lorenzo Guevara O., Ramón Guevara Glz., Claudia I. Muñoz Sánchez.
Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Av. Tecnológico y García Cubas
S/N, Col. FOVISSSTE, C.P. 38010, Tel.. 01-(461) - 1 - 75 - 75. Celaya, Gto, Fax: 01-(461)-1-79-79,
Celaya, Gto.México.
Email: lorenzogo@yahoo.com

Palabras clave: Sclerotium, PCR, ODC.

Introducción. México es el segundo país productor de ajo (*Allium sativum*) en el continente americano y se encuentra entre los ocho principales exportadores de este producto a nivel mundial (1). En la actualidad el principal problema fitopatológico que afronta la producción de ajo en México es la enfermedad denominada “pudrición blanca” causada por el hongo *Sclerotium cepivorum* Berk, ocasionando pérdidas hasta en un 100 % en las regiones productoras de esta hortaliza a nivel nacional (2). El estudio de la diferenciación celular ha demostrado que la Ornitina descarboxilasa (ODC), la enzima inicial de la ruta biosintética de poliaminas y responsable de la síntesis de la poliamina putrescina juega un papel importante en los eventos diferenciativos de varios hongos analizados (3). Nosotros estamos interesados en analizar el papel del gen *Sc ODC* en la formación de esclerocios (estructuras de resistencia) y en la patogénesis de *Sclerotium cepivorum*, para ello, pretendemos clonar el gen *Sc ODC* como una primera etapa para estudiar a nivel molecular la potencialidad del mismo como un blanco para el desarrollo de drogas antifúngicas.

Metodología. La cepa de *Sclerotium cepivorum*, un aislado del Estado de Guanajuato fue mantenida en Papa dextrosa agar (PDA). El medio mínimo Czapek fue empleado para evaluar la formación de esclerocios y la germinación del hongo (figura 1) en presencia del inhibidor competitivo de la ODC, la 1,4-diamino-2-butanona (DAB). La extracción de ADN se realizó de acuerdo a (4), para emplearlo como molde para la amplificación de un fragmento del gen *Sc ODC* por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El producto de PCR fue corrido y revelado en un gel de agarosa al 1.2 % con bromuro de etidio (Figura 2).

Resultados y Discusión. Se han establecido las condiciones para observar la germinación y la formación de esclerocios en medio mínimo czapeck (figura 1), lo cual nos permitiera evaluar el efecto de DAB en la formación de los esclerocios. El producto de PCR mostró un tamaño aproximado de 500 pb (figura 2), que concuerda con lo esperado, posteriormente este fragmento de PCR será clonado para la obtención de su secuencia y comparación con la base de datos.

Conclusiones. La técnica de PCR, empleando como molde el ADN de *S. cepivorum* y oligonucleotidos

degenerados nos ha permitido la amplificación de un fragmento del gen *Sc ODC*, confirmando su utilidad como una herramienta Molecular.



Figura 1. Germinación de esclerocios de *S. cepivorum* en PDA.



Figura 2.. Carril 1: MPM. Carril 2, 3 y 4: Producto de amplificación por PCR del gen *ODC* de *S. cepivorum*.

Agradecimientos. Los autores agradecen a COSNET Y CONCYTEG, por el financiamiento para la realización de este proyecto.

Bibliografía

1. SAGAR (1996). Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Centro de Estadística.
- 2) Delgadillo-F.S., Arevalo, A., Torres, I.P.,(2000) Manejo de la pudrición blanca en Guanajuato. Desplegable para productores núm. 3. INIFAP
3. Guevara-Olvera, L., Hung C-Y., Yu J-J., Cole, G. T. (2000). Sequence, expression and functional analysis of the *Coccidioides immitis* ODC (ornithine decarboxylase) gene. *Gene*. 242: 437-448.
4. Reader, U., Broda, P. (1985). Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Lett. Appl. Microbiol.* 1:17-20.