



## IDENTIFICACIÓN DE GENES EXPRESADOS DIFERENCIALMENTE EN RESPUESTA AL ATAQUE DEL FITOPLASMA “*Mexican potato purple top*” EN *Solanum tuberosum* USANDO HIBRIDACIÓN SUSTRACTIVA POR SUPRESIÓN

(Identification of differential gene expression in response to phytoplasma “*Mexican potato purple top*” in *Solanum tuberosum* by Suppression Subtractive (Hybridization)

Longoria-Espinoza, Rosa María<sup>1</sup>; Douriet-Gómez, Nadia, Méndez-Lozano, Jesús<sup>2</sup>; Félix-Gastélum, Rubén<sup>1</sup>; Bueno-Ibarra, Mario<sup>2</sup>; Quiroz-Figueroa, Francisco<sup>2</sup>; Leyva-López, Norma Elena<sup>2</sup> Universidad de Occidente Gabriel Leyva # 169 sur Col. Centro Los Mochis Sinaloa.. <sup>2</sup>Depto. de Biotecnología Agrícola, CIIDIR-IPN Campus Sinaloa, Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes #250, Guasave, Sinaloa, C.P. 81101. Email. nleyval@ipn.mx.

### INTRODUCCIÓN

El cultivo de papa es afectado notablemente por la enfermedad conocida como “punta morada” que limita de manera directa la producción y la viabilidad de tubérculos semilla. En los últimos años se ha logrado un avance significativo en la comprensión de la interacción planta- patógeno gracias a la identificación de genes expresados diferencialmente en la planta. Sin embargo, los estudios dedicados a la identificación de genes involucrados en la interacción planta-fitoplasma son muy limitados, por lo que el objetivo principal de este proyecto es identificar y caracterizar genes expresados diferencialmente durante el proceso de infección de fitoplasmas en el cultivo de papa.

### METODOLOGÍA

Utilizando el método de hibridación sustractiva por supresión (SSH) se obtuvo dos bibliotecas de cDNA diferencial de plantas de papa *in vitro* no-infectadas e infectadas por fitoplasmas (BD PCR-Select™ y cDNA Subtraction Kit, de Clontech). Para extraer el RNA total se utilizó entrenudos y nervaduras de hojas de plantas de papa *in vitro* infectadas con fitoplasmas como “Tester” y no infectadas como “driver” (“RNAQUEOUS” Kit, Ambion). Para la síntesis de cDNA y PCR se utilizó Super SMART™ PCR cDNA Synthesis Kit (Clontech).

### RESULTADOS

Mil clonas iniciales fueron obtenidas como producto de la biblioteca sustractiva de las cuales 500 clonas pertenecen a la planta infectada con fitoplasmas; las cuales se analizaron por comparación en las diferentes bases de datos no redundantes BLASTX, y Swisspro, (Figura 1) obteniendo 168 secuencias a las cuales se determinó su función biológica. Los resultados obtenidos indican que los genes expresados están implicados en procesos celulares como son: metabolismo, transducción, transporte, estructura celular y en mecanismos de respuesta a stress, entre otros. Un porcentaje mayoritario (36.5%) no fueron clasificados con alguna función conocida, lo cual podría deberse a la novedad de la investigación en la interacción planta-fitoplasma.

### CONCLUSIONES

La identificación, de dichos genes y sus productos nos permitirá un mejor entendimiento de los mecanismos moleculares durante la interacción planta de papa-fitoplasma, lo cual servirá para desarrollar nuevas estrategias que contrarresten el ataque de este patógeno y así reducir pérdidas en el cultivo beneficiando las prácticas agrícolas.

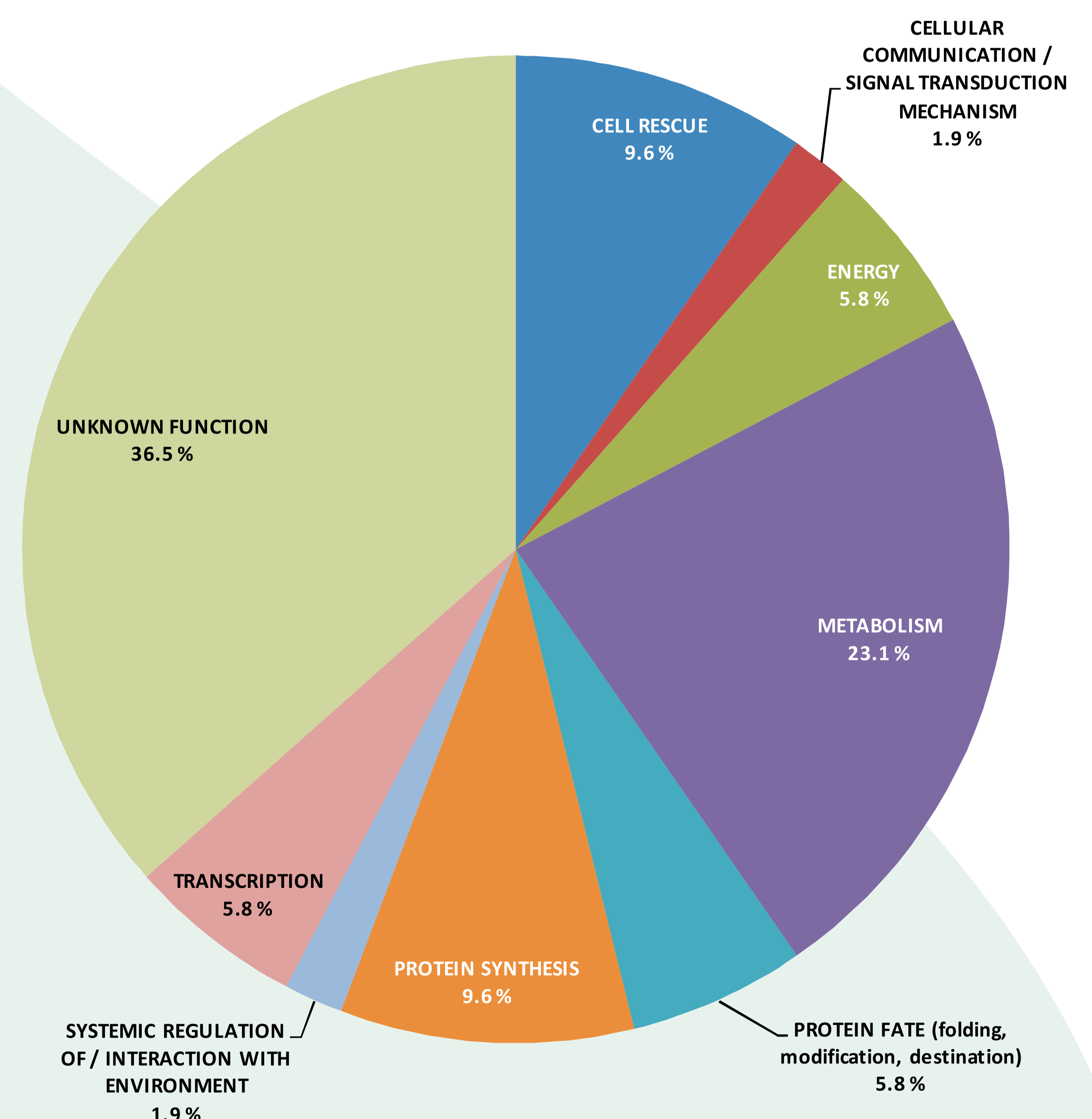


Figura1. Clasificación funcional de genes expresados (EST). Utilizando el algoritmo BLASTX en la base de datos de secuencias no redundantes del Swisspro con un e-values <math>10^{-4}</math>.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Kube M., Schneider, B., Kuhl, H., Dandekar, T., Heitmann, K., Migdoll, A.M., Reinhardt, R., and Seemuller, E., 2008. The linear chromosome of the plant-pathogenic mycoplasma “*Candidatus Phytoplasma mali*”, BMC Genomics 26:306,.
2. Hogenhout, S.A., Oshima, K., AmmarE.-D., Kakizawa, S., Kingdom, H.N., and Namba, S. (2008). Phytoplasmas: Bacteria that manipulate plants and insects. Mol. Plant Pathol. 9:403-423
3. Hogenhout, S.A. and Loria, R. (2008). Virulence mechanisms of gram-positive plant pathogenic bacteria.