

ANÁLISIS DE ADNC-AFLP PARA LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES EN LA INTERACCIÓN *Manihot esculenta* CRANTZ (YUCA) *Xanthomonas axonopodis* pv. MANIHOTIS

SANTAELLA, M.¹, SUÁREZ, E.¹, GONZÁLEZ, C.³, LÓPEZ, C.³,
RESTREPO, S.³, BADILLO, A.², VERDIER, V.³

¹ Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali. ²
Universidad de los Andes, Bogotá.

³ Institute de Recherche pour le Développement, Francia.
msantaella@postmark.net

OBJETIVOS

Desarrollar patrones ADNc - AFLP, para identificar fragmentos expresados diferencialmente entre dos variedades de yuca, una resistente y una susceptible a la bacteriosis. Aislar, secuenciar y analizar los fragmentos seleccionados.

Corroborar la expresión diferencial de estos fragmentos mediante "northern blots".

MATERIALES Y MÉTODOS

Los tallos inoculados con la cepa CIO151 fueron colectados a las 24, 72 horas, 7, 15 y 30 días después de la inoculación. Se extrajo el ARN total según Hall *et al.*, (1978) y se sintetizó ADNc, empleado como molde para obtener patrones de tipo AFLP. Se amplificaron 32 combinaciones de cebadores con dos bases selectivas (bs) y 40 con 3 bs. Los geles de acrilamida se procesaron con nitrato de plata. Los fragmentos interesantes fueron aislados, clonados y secuenciados y se compararon con la base de proteínas de GenBank. Análisis de "northern blots" se realizarán para confirmar patrones de expresión en el tiempo.

RESULTADOS

La variedad resistente mostró expresión diferencial para 353 bandas inducidas por el patógeno, entre 130-650 pb. Se secuenciaron 231 fragmentos, de ellos 61 mostraron similitud con proteínas relacionadas con defensa en plantas como quinasas Ser/Tre, receptores intramembranales, factores de transcripción y proteínas involucradas en senescencia y dormancia. Destacamos los fragmentos similares a genes de resistencia Cf-2 e I2, conocidos en reacciones de defensa a patógenos en tomate. Otros 59 fragmentos no mostraron similitud en GenBank pero fueron inducidos en la variedad resistente, luego son posibles fragmentos de genes de resistencia novedosos en yuca.

CONCLUSIONES

Esta técnica es rápida y confiable para aislar transcritos involucrados en resistencia de plantas. Se logra identificar fragmentos de baja expresión y con diferentes características estructurales y funcionales deducidas.