

LOCALIZACIÓN CROMOSÓMICA DE UNA PEROXIDASA DE LA CLASE III DE TRIGO

E. Simonetti^{1‡}, E. Alba¹, Á. Delibes^{1‡} e I. López-Braña^{1*}

¹Departamento de Biotecnología, ETS Ing. Agrónomos, UPM, Madrid, E-28040 España

[‡]Dirección actual: Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales
INBA-CONICET, Facultad de Agronomía, UBA, C.A.B.A, C1417DSE, Argentina

*Correspondencia: E-mail: isidoro.lopez@upm.es

Palabras clave: *Aegilops*, *Heterodera avenae*, *Triticum aestivum*, Peroxidasas.

Resumen

En un estudio previo se caracterizaron, alinearon y relacionaron 20 genes que codifican para peroxidasas de trigo. Las secuencias deducidas de estos genes se agruparon en siete grupos, TaPrx108 a TaPrx114, de acuerdo a la similitud entre ellas y con peroxidasas de la Clase III de otras especies. Los genes correspondientes a tres de estos grupos (TaPrx111, TaPrx112 y TaPrx113) mostraron inducción en respuesta a la infección por *Heterodera avenae* en una línea de trigo resistente. Tres de los genes, *TaPrx111-A*, *TaPrx112-D* y *TaPrx113-F*, fueron localizados en el cromosoma 2BS y posiblemente estén ligados entre sí. En el presente estudio, el gen de la peroxidasa *TaPrx109-C*, fue asignado al brazo largo del cromosoma 1B.

INTRODUCCIÓN

Las peroxidasas específicas de plantas (PRX; EC 1.11.1.7), denominadas peroxidasas de la Clase III (Welinder, 1992), forman una amplia familia multigénica. Así, se han identificado 73 genes PRX en *Arabidopsis thaliana* (Tognolli et al., 2002) y 138 en *Oryza sativa* (Passardi et al., 2004). Este elevado número provendría de duplicaciones producidas por diversos mecanismos (Zhang, 2003) y justificaría la distribución de los *loci* de peroxidasas en bloques de genes homogéneos en los doce cromosomas de arroz (Passardi et al., 2004). Una distribución similar se ha descrito en rábano (Fujiyama et al., 1988) y tomate (Roberts y Kolattukudy, 1989). En el trigo hexaploide se han identificado varios grupos de *loci* de peroxidasas (Liu et al., 1990). En estudios previos de nuestro grupo se identificaron 20 peroxidasas de trigo que podían agruparse en siete grupos (TaPrx108-TaPrx114; Simonetti et al., 2009a) y se determinó la localización cromosómica de los genes *TaPrx111-A*, *TaPrx112-D* y *TaPrx113-F* (Simonetti et al., 2009b) inducidas por el nematodo del quiste de los cereales en la línea resistente de trigo, H-93-8. En este trabajo localizamos otro de los genes de peroxidasas, *TaPrx109-C*, que a diferencia de los anteriores no responde al ataque por el nematodo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la localización cromosómica se aisló ADN (Taylor y Powell, 1982) de hojas de dos semanas de las líneas nuli-tetrasómicas y ditelosómicas de *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring (Sears, 1966). La localización cromosómica se realizó mediante la reacción de PCR, utilizando cebadores específicos para el gen *TaPrx109-C*, y electroforesis posterior en geles de agarosa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los genes de las peroxidasas *TaPrx111-A*, *TaPrx112-D* y *TaPrx113-F* se localizaron, en un anterior trabajo, en el cromosoma 2BS de trigo (Simonetti et al. 2009b). Estos genes estarían relacionados con las peroxidasas localizadas en el cromosoma VII de arroz (Passardi et al., 2004). Los experimentos de amplificación con el ADN de las líneas de Sears, usando cebadores específicos para el gen de la peroxidasa *TaPrx109-C* y a partir de la ausencia de bandas en las líneas nulitetrasómica N1BT1D y ditelosómica DT1BS, permitieron localizar este gen en el brazo largo del cromosoma 1B. Este gen, por su secuencia, sería homólogo a los localizados en el cromosoma V de arroz (*OsPrx74*). Esta localización mantendría la sintenia establecida entre los cromosomas de trigo y arroz (Gale y Devos, 1998).

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por la ayuda 083/Q060210-031 de la CAM. Agradecemos la ayuda técnica de M. López, C. Martínez-Belinchón y R. Rodríguez-Ríos.

REFERENCIAS

- Fujiyama, K., Takemura, H., Shibayama, S., Kobayashi, K., Choi J.K., Shinmyo, A., Takano, M., Yamada, Y. and Okada, H. 1988. Structure of the horseradish peroxidase isozyme C genes. *Eur. J. Biochem.* 173: 681-687.
- Gale, M.D. and Devos, K.M. 1998. Comparative genetics in the grasses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95: 1971-1974.
- Liu, C.S., Chao, S. and Gale, M.D. 1990. The genetical control of tissue-specific peroxidase, Per-1, Per-2, Per-3, Per-4 and Per-5 in wheat. *Theor. Appl. Gen.* 79: 305-315.
- Passardi, F., Longet, D., Penel, C. and Dunand, C.H. 2004. The class III peroxidase multigenic family in rice and its evolution in land plants. *Phytochemistry* 65: 1879-1893.
- Roberts, E. and Kolattukudy, P.E. 1989. Molecular cloning, nucleotide sequence, and abscisic acid induction of a suberization-associated highly anionic peroxidase. *Mol. Genet. Genomics* 217: 223-232.
- Sears, E.R. 1966. Chromosome mapping with the aid of telocentrics. In 'Proceedings of the second international wheat genetics symposium, 19-24 August 1963, Lund Sweden.' (Ed. J Mackey). *Hereditas (Supplement)* 2: 370-381.
- Simonetti, E., Veronico, P., Melillo, M.T., Delibes, A., Andrés, M.F. and, López-Braña, I. 2009a. Analysis of class III peroxidase genes expressed in roots of resistant and susceptible wheat lines infected by *Heterodera avenae*. *Mol. Plant-Microbe Interac.* 22: 1081-1092.
- Simonetti, E., Veronico, P., Melillo, M.T., Blevé-Zacheo, T., Delibes, A., Andrés, M.F. and López-Braña, I. 2009b. Chromosomal and cytological localisation of three peroxidases induced by cereal cyst nematode in wheat. In "cereal cyst nematodes: status, research and outlook." Riley, I.T., Nicol, J.M. and Dababat, A.A (eds.). *Proceedings of the First Workshop of the International Cereal Cyst Nematode Initiative, Antalya, Turkey* pp 195-199.
- Taylor, B. and Powell, A. 1982. Isolation of plant DNA and RNA. *Focus* 4: 4-6.
- Tognolli, M., Penel, C., Greppin, H. And Simon, P. 2002. Analysis and expression of the class-III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Gene* 288: 129-138.
- Welinder, K.G. 1992. Plant peroxidases: structure-function relationships. In 'Plant peroxidases.' C. Penel, T. Gaspar, H. Greppin (eds.). pp. 1-24. (University of Geneva: Switzerland).
- Zhang, J. 2003. Evolution by gene duplication: an update. *Trends Ecol. Evol.* 18: 292-298.