

La transformación genética y genómica del frijol

Georgina Estrada, Gabriel Guillén, Juan Elías Olivares,
Claudia Díaz, Xóchitl Alvarado y Federico Sánchez

La importancia del cultivo del frijol para México

Los mexicanos comemos frijoles de la olla desde hace aproximadamente 2500 años, cuando este cultivo fue domesticado por nuestros ancestros. Se podría decir que fueron frijoles de olla, porque las leguminosas en general son muy tóxicas cuando están crudas (y este es también el caso de los frijoles). En efecto, el frijol es un cultivo de subsistencia de gran importancia ya que, junto con el maíz, constituye la manera más eficiente de complementar la ingesta de proteína. En pocas palabras, aún sin dinero para carne o siendo vegetariano estricto, dos tacos de frijoles con guiso de flor de calabaza y salsa realmente proporcionan todos los aminoácidos esenciales que requerimos en nuestra alimentación. El frijol es rico en aminoácidos como la lisina, que el maíz tiene en poca o pobre proporción y, viceversa, el maíz es rico en aminoácidos azufrados como la metionina y la cisteína, que el frijol tiene en baja concentración. El tomatillo, la cebolla, el ajo y el chilito, junto con las flores de calabaza no sólo hacen más sabroso al taco, también adicionan las vitaminas y otros minerales que son esenciales para una alimentación balanceada. No sólo el consumo del frijol común, junto con el maíz, son las fuentes más importantes de proteínas

(20-25%), también representa un aporte de carbohidratos (50-60%) muy elevado en la dieta de la población rural mexicana. El frijol representa la mitad del consumo mundial de leguminosas de grano y es el más importante para consumo humano directo (Broughton *et al.*, 2003). La producción total del frijol en el mundo excede las 23 millones de toneladas métricas (TM), de las cuales siete se producen en América Latina y África. La dieta de subsistencia de los agricultores en África y en América Latina en general es rica en carbohidratos pero insuficiente en proteínas (Gepts *et al.*, 2007). En el caso de México y Brasil, el consumo de frijol representa la principal fuente de proteínas en la dieta. Es trágico que en el México actual, por errores previos en política agrícola y social, se deje de lado el consumo de los tacos de frijoles por comida chatarra y refrescos a los niños de la población rural y urbana de bajos recursos, pues México, en las últimas décadas, ha pasado de ser un país productor a uno importador, principalmente por las bajas tasas de productividad en el campo en el cultivo de temporal.

México ocupa un lugar privilegiado en el mundo por la diversidad de leguminosas y en particular tiene la mayor diversidad del género *Phaseolus*. Entre los más conocidos, además de



182

Phaseolus vulgaris (frijol común), se encuentran otras especies relacionadas como *P. coccineus* (ayocote), *P. acutifolius* (frijol tépari) y *P. lunatus* (frijol lima). Hay que recordar que en México existen otras leguminosas de consumo humano, como las vainas de los guajes (*Leucaena*) y los tubérculos de la jícama (*Pechyrhizus*), pero éstas tienen un rango más restringido de preferencia y distribución. Sin embargo, el potencial comercial de las leguminosas de México para consumo humano y forrajero es muy grande y se ha explotado muy poco.

La única respuesta a la hambruna mundial es salvaguardar y mejorar la productividad agrícola en los países pobres. La productividad sólo puede incrementarse (además con políticas adecuadas de apoyo a la producción y preservación del medio ambiente) con cultivos mejor adaptados al estrés, a las plagas y a la falta de nutrientes. Las leguminosas y en particular el frijol, tienen la ventaja de que pueden fijar nitrógeno atmosférico a través de una asociación simbiótica con bacterias fijadoras de nitrógeno del suelo. En un mundo donde la producción debe de incrementarse evitando la contaminación de los mantos freáticos por fertilizantes químicos y donde la producción de los fertilizantes químicos es cada día más costosa por estar desapareciendo las reservas de combustibles fósiles, las leguminosas son una apuesta a la agricultura del futuro. Este conocimiento para diseñar los cultivos que respondan a demandas cambiantes del medio ambiente y del mercado, sólo puede lograrse de forma racional y expedita a través de la genética y la genómica.

Dada la gran variabilidad genética del frijol (criollos, silvestres, extremos), este cultivo ofrece muchas ventajas para mejorarlo y características para recuperar la autosuficiencia considerándolo un cultivo prioritario de subsistencia nacional.

El estudio genómico del frijol

¿Para qué secuenciar el genoma del frijol? A través del conocimiento de la secuencia del genoma y de su aplicación en programas de mejo-

ramiento genético que incrementen la calidad de la semilla y el rendimiento del cultivo del frijol, se podrán generar marcadores moleculares de genes relacionados con el incremento en la producción agrícola y la preservación de la biodiversidad. Ambos puntos son de gran importancia; es vital incrementar la productividad de los cultivos, y si bien México cuenta con la mayor biodiversidad mundial de especies del género *Phaseolus* y de formas silvestres y criollas de *Phaseolus vulgaris*, ésta desaparece aceleradamente. La secuenciación del genoma del frijol no sólo representa un reto científico y tecnológico, sino el conocimiento de un patrimonio nacional. Al generar conocimiento básico (marcadores moleculares) de cuántos, cuáles son y cómo están organizados los genes de esta planta, se podrá entender cómo ha evolucionado, cómo se ha diversificado y cómo mejorarla. Los marcadores moleculares les ayudarán a los agrónomos y fitomejoradores a seleccionar las variedades que incrementen los rendimientos para aumentar la resistencia a plagas, la tolerancia a sequía, frío, suelos ácidos, entre otros estreses. Asimismo, se podrán diseñar programas dirigidos a preservar su diversidad para las generaciones futuras. ¿Cómo?, clasificando el germoplasma por su genotipo y fenotipo, así como por región y/o zona geográfica. Es necesario conservarlo en instalaciones adecuadas, bancos como legado para futuras investigaciones. Es probable que ya hayan dejado de ser viables muchas colecciones de germoplasma de frijol en los bancos nacionales actuales, o que ya se encuentren extintos en la naturaleza.

Conocer la secuencia de un genoma permite de una manera muy rápida clonar los genes y sus regiones de control. Mediante un análisis genético, bioquímico y fisiológico, en lo que se conoce como la genómica funcional, es posible asignar una función o funciones a cada gene. Al generar la mutante del gene de interés y observar el efecto que tiene esa mutación en las propiedades y funciones (fenotipo) de una planta, es posible generar un catálogo de funciones; es decir, determina cuándo y dónde se expresa un gene en particular, si pertenece a

una familia o es un gene único, cuál es la región de control que rige su expresión y qué tanto se parece al de otros organismos (de hecho, ésta es una manera muy expedita de inferir una posible función (a esta disciplina se le conoce como genómica comparativa) y, por último, si su función participa cuantitativamente, junto con la función de otros genes, en un carácter o fenotipo particular (QTL) (Yan *et al.*, 2005). En la era post-genómica (una vez determinada la secuencia del genoma), además de poder asignar funciones a las proteínas codificadas por genes no descritos con anterioridad en otros organismos, o si ya han sido secuenciados en otra especie, su función permanece aún desconocida. Asimismo, se pueden conocer las reglas de complejidad que rigen a las funciones de conjuntos de genes, como los que codifican enzimas de vías metabólicas; por ejemplo, que se rigen por lo que se conoce como la biología de sistemas (*systems biology*).

¿Qué podríamos saborear con una probada de genómica de frijoles?

Un tema que se antoja delicioso de entender a nivel del genoma es cómo ocurrió la domesticación del frijol. ¿Qué cambios ocurrieron para que la planta pasara de ser una ávida trepadora que produce flores y frutos durante un periodo de muchos meses, a un arbusto chaparrón cuya floración ocurre de tres a cuatro meses después de la siembra. Sería fascinante saber qué genes que codifican los caracteres de la domesticación fueron celosamente seleccionados por nuestros ancestros, para que durante este proceso los frijoles domesticados dejaran de producir semillas pequeñas y cuyas vainas las dispares como balazos, a metros de distancia cuando las vainas maduran (*deisencia*). ¿Qué artificios de genética empírica hicieron nuestros antepasados para seleccionar granos robustos, con un contenido superior de almidón y proteína y cuyas semillas permanecen pacientes dentro de las vainas, esperando al sembrador para facilitar su cosecha y transporte. También otros cambios, que podríamos

pensar que nos son tan importantes, como el tamaño y contenido de almidón y proteína de la semilla, en el caso de este cultivo resultan ser de capital prioridad, ya que el color de la semilla, es un factor determinante de preferencia en la aceptación del consumidor. Las personas del norte de México no suelen consumir *chili beans* prietitos y, por el contrario, los frijoles blancos o güeros provocarían un cierto desconsuelo a un ama de casa en la península de Yucatán al preparar el succulento frijol-puerco. Así que el concurso de la genómica en la selección genética, para este cultivo de consumo humano directo, tiene que tomar en cuenta, además, preferencias organolépticas y propiedades fenotípicas fundamentales. Si bien el refrán popular dice: “billete mata carita”, aquí al contrario, “color de semilla mata genotipo”, es decir, caracteres que se antojan esenciales, como la resistencia de la semilla a insectos como los gorgojos, la floración más temprana o precoz de acuerdo con la disponibilidad de lluvia para escapar de la sequía, o a las enfermedades como los virus transmitidos por la mosquita blanca y a las pudriciones de raíz producidas por hongos. Así, los agrónomos tienen que velar por todas estas “virtudes genéticas” y liberarlas como especies comerciales “cobijadas” por el color y forma de semilla que prefieren los habitantes de una región o comarca.

Con base a la importancia socioeconómica del frijol para México, obtener la secuencia del genoma del frijol representa *per se* una prioridad nacional.

¿Qué más sustenta esta prioridad?

Como ya se mencionó previamente, la preservación de la diversidad de *Phaseolus vulgaris* y de otras especies del género *Phaseolus* es un punto de capital importancia. Esta diversidad de especies y de aislados silvestres está desapareciendo aceleradamente, en parte debido a la tala y erosión de zonas donde crecen los frijoles silvestres y muchas otras especies evolutivamente cercanas. La siembra de cultivos de frijol domesticado en zonas de bosque reciente

y clandestinamente taladas, resulta ser uno de los principales motivos de preocupación. Si bien el frijol es una planta autógama, es decir que se auto-fertiliza o se cruza consigo misma, no faltan las abejas y otros insectos que son atraídos por el irresistible color y forma de las flores de los frijoles y realizan una actividad celestina portando polen y cruzando a los frijoles silvestres con los domesticados. Los campesinos seleccionan, mejor dicho, contra seleccionan a los frijoles criollos que resulten con caracteres poco deseables, ya que las semillas más pequeñas y de color dudoso son eliminadas en el momento de la selección de la semilla para la próxima siembra. Por otro lado, el cambio climático, la erosión y tala de bosques, y el avance de la mancha urbana, entre otros factores, han contribuido y están contribuyendo a la extinción de frijoles criollos y silvestres, tanto común como de otras especies del género *Phaseolus*. Por eso es urgente rescatar, conocer y catalogar toda esta variabilidad genética, un patrimonio de generaciones futuras y sustrato elemental para mejorar el cultivo del frijol, tanto en sus propiedades nutricionales como en su productividad. La productividad promedio nacional es de alrededor de 200 a 500 kg/ha en condiciones de temporal, cuando en condiciones óptimas de riego y manejo de plagas y malezas es de 3 a 5 ton/ha. Esto pone en perspectiva la urgente necesidad que se tiene de incrementar la productividad del cultivo, a través del mejoramiento genético, para las condiciones actuales del país y para las que se puedan prever, dada la amenaza real del calentamiento global del planeta. ¿Cómo cuáles? Es obvio que hay que diseñar cultivos cada vez más tolerantes a sequía, a salinidad, a calor extremo y que establezcan relaciones más exitosas con microorganismos simbióticos del suelo que les ayuden a contener con estos estreses y, al mismo tiempo, les provean de nutrientes esenciales. Hay especies dentro del género *Phaseolus* que pueden crecer en salinas a la orilla del mar (Jorge Acosta, comunicación personal), así que el estudio de la fisiología y genómica de la especie es fundamental para introducir algunas de estas estrategias

que le permitan adaptarse mejor al ambiente extremo. México se está desertificando y las áreas de riego se pierden por la acumulación de sales debida a la mayor evaporación de agua. Además, hay que considerar el efecto invernadero debido a la creciente e imparable emisión de bióxido de carbono (CO₂) a la atmósfera, de las actuales y próximas potencias económicas, el cual tendrá un impacto, imprevisible aún, en la agricultura mundial. Si bien el incremento de CO₂ produce un aumento en el crecimiento de los cultivos por promover una mayor fotosíntesis, sobre todo a las plantas C3 como el frijol, también las malezas serán igualmente beneficiadas. Esto nos obliga a pensar en nuevos enfoques de concebir y diseñar los cultivos de los próximos lustros.

Asimismo, dados los cambios climáticos que se avecinan, hay que mantener una carrera en paralelo entre los cultivos con las plagas de insectos y microorganismos patógenos, cuya adaptación evolutiva también tendrá un cambio de inflexión en consecuencia con estos cambios del medio ambiente, dando origen a plagas y patógenos emergentes no descritos con anterioridad.

¿Qué otra ventaja tiene secuenciar el genoma del frijol?

Una ventaja del frijol común es que el tamaño de su genoma es relativamente pequeño (600 millones de pares de bases) comparado con el de otras leguminosas cuyas semillas consumimos los humanos, directa o indirectamente, como los chícharos, las lentejas, los garbanzos y la soya (Gepts *et al.*, 2005). Además del frijol común, hay otros cultivos de leguminosas de gran importancia agrícola cuya secuencia genómica está ya muy avanzada y pronta a publicarse. Entre éstas se encuentran la soya (*Glycine max*), otras dos leguminosas, la hierba silvestre *Medicago truncatula* y la planta forrajera *Lotus japonius*.

Tener acceso a estas secuencias representa una ventaja estratégica, ya que el orden de los genes en los cromosomas (sintenia) que existe

entre el frijol y la soya, y en menor grado con las otras dos leguminosas forrajeras, facilitará sin duda el ensamble de la secuencia del frijol (y viceversa). Esta información será de utilidad cuando se arme el rompecabezas de secuencias generadas de los 600 millones de pares de bases distribuidas en once cromosomas que conforman el genoma haploide. De hecho, el proyecto genómico del frijol será de gran ayuda para analizar y entender procesos de poliploidización que ocurrieron en la soya después de que ambas especies divergieron hace más de 15 millones de años. En este sentido, el genoma del frijol quizá represente el genoma de referencia diploide y ancestral de la soya. Esto permitirá entender la fisiología y la genética para la producción de bio-diesel y otros aceites de interés comercial en el frijol con miras a impactar la producción en la soya.

El frijol como organismo modelo y la transformación genética

Cuando se habla de transformación genética en plantas, es común asociar inmediatamente este término con un cultivo transgénico. Para algunas personas, esto es casi un pecado capital o algo prohibido o ilegal, pero es todo lo contrario. La transferencia de genes entre organismos de diferentes especies ocurre en la naturaleza; un ejemplo de esto es la bacteria del suelo *Agrobacterium tumefaciens*, que infecta e induce la enfermedad conocida como “agalla de la corona” en muchas plantas dicotiledoneas. La transformación ha permitido tener lo que se conoce como organismos modelo. *Arabidopsis thaliana*, el caballo de batalla de los biólogos de plantas, es también un organismo modelo, ya que su genoma es uno de los más pequeños de las angiospermas (plantas con flores) que se conocen; se trata igualmente de una planta pequeña que produce mucha progenie. *Arabidopsis* fue la primera planta cuyo genoma fue secuenciado y todos los genes están perfectamente mapeados, tanto en el mapa físico como genético. Se tiene contemplado conocer la función de todos sus genes para el año 2010

gracias a que su genoma ha sido saturado con mutaciones e inserciones de transposones (secuencias de inserción). Sin embargo, el hecho de que puede transformarse con una frecuencia elevada ha sido determinante para acelerar este objetivo y desarrollar la genómica funcional de este organismo modelo.

Aunque existen varios métodos para transformar plantas, es quizá la transformación con *Agrobacterium tumefaciens* o *A. rhizogenes* el método más natural, conveniente y sencillo para introducir genes de otro organismo en ellas. Por lo tanto, la transformación genética puede saltarse la barrera sexual de tal manera que cualquier gene de cualquier origen puede ser introducido. Es necesario usar herramientas genéticas, bioquímicas y moleculares para identificar el gene apropiado y poder expresarlo en el lugar y momento adecuados. El método alternativo cuando la planta no es sensible a la infección por *Agrobacterium*, es la biobalística o bombardeo por partículas de tungsteno, las cuales se recubren con el ADN que lleva clonado el gene deseado. Para el caso de *A. tumefaciens*, algunos de los genes de esta bacteria se transfieren a los cromosomas de la planta, en particular los que codifican enzimas de la biosíntesis de hormonas vegetales, las cuales son heredadas a la progenie de las células transformadas. Estas células sintetizan un exceso de hormonas que inducen que las células vegetales se dividan sin control (citocininas) y que se alarguen (auxinas), originándose un tumor o agalla. El caso de *A. rhizogenes* es muy similar, excepto que el resultado es una “raíz peluda” transgénica (Tepfer, 1990). Reciben este nombre porque sobreproducen pelos radicales que les confieren tal aspecto. Los genes transferidos de la bacteria a la planta están en una molécula circular de ADN o plásmido inductor de tumores denominado *pTi* para el caso de *A. tumefaciens* y *pRi* para *A. rhizogenes*. Esta transferencia de ADN ocurre sólo después de que la bacteria se ha adherido a las paredes lesionadas de la célula vegetal. Algunas de las sustancias liberadas de estas lesiones son los flavonoides, que son inductores de los genes bacterianos

que codifican las enzimas que liberan y transportan una sección del pTi, llamada T-ADN, de la bacteria a la planta, para integrarlo al ADN en el núcleo. Estas células transformadas darán origen a plantas completas transformadas o transgénicas, bajo condiciones de selección y cultivo de tejidos apropiados. El primer paso involucra introducir, por técnicas de biología molecular, un gene de interés particular en una región del T-ADN. El segundo paso consiste en que, una vez que se tiene la cepa de *Agrobacterium* con el plásmido recombinante, se incubaba la bacteria con acetosiringona, uno de los compuestos liberados por las plantas cuando están dañadas. Este compuesto es precisamente el inductor que dispara la transferencia (activa los genes de virulencia de la bacteria) del T-ADN de la bacteria a la planta. Finalmente, se regenera una planta completa a partir de las células que fueron transformadas, al mismo tiempo que las células no transformadas se eliminan por medio de un antibiótico o herbicida que las mata selectivamente. ¿Por qué no se inducen tumores en las plantas transgénicas? Los genes del pTi que son los causantes de inducir tumores y que se encuentran en el T-ADN se eliminan por manipulación genética, dejando espacio para clonar el gene de interés entre dos regiones conocidas como regiones limítrofes o regiones LB (*left border*) y RB (*right border*), que son los sitios que marcan el corte en el pTi y que lo liberan de éste. Precisamente la ingeniería genética permite clonar el gene deseado y a un marcador visual, resistencia a un antibiótico o herbicida, para seleccionar las células transformadas. Esto se hace en los sitios del T-ADN donde se removieron los genes de producción de hormonas para que no se produzca el tumor. Es importante señalar que el gene que se introduzca en el T-ADN debe de ir clonado bajo una región de control o promotora de eucariotes que asegure su precisa expresión espacio-temporal en la planta.

El frijol ha sido una planta particularmente difícil de regenerar y su respuesta a la infección por las cepas de *A. tumefaciens* más comúnmente empleadas es muy agresiva, provocan-

do una respuesta hipersensible de defensa, que lleva a grandes áreas de muerte celular en donde la bacteria estuvo en contacto con la planta. Se conoce un caso exitoso de este tipo restringido solamente a *P. acutifolius* (Zambre *et al.*, 2005). Por esta razón sólo se han reportado otros ejemplos exitosos de transformación con biobalística, método en sí muy poco eficiente (Christou, 1997 y Aragão *et al.*, 2002) y muy dependiente del genotipo de la planta (sólo se presenta en una variedad particular). Recientemente, en el Instituto de Investigaciones Agrícolas y Forestales (INIFAP) se ha logrado tener un elevado porcentaje de regeneración orgánica de dos cultivares de frijol, lo cual allana el camino para intentar el co-cultivo con cepas de *Agrobacterium*, con las cuales no se dispara en la planta una respuesta de hipersensibilidad (muerte celular programada) que impida la transformación.

Transformación del género *Phaseolus* con *Agrobacterium rhizogenes*

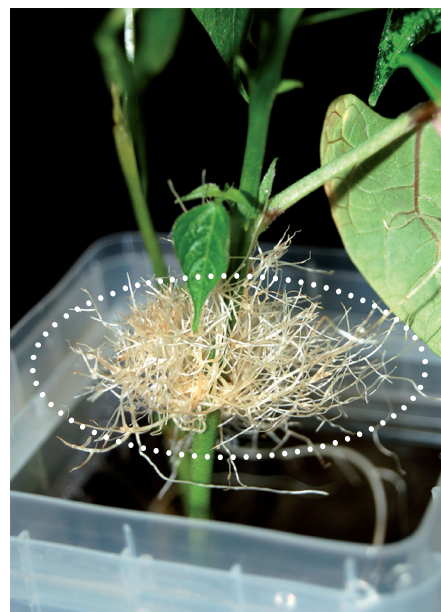
En nuestro grupo de investigación hemos reportado recientemente (Estrada-Navarrete *et al.*, 2006) un procedimiento rápido, reproducible y eficiente de transformación de diversos cultivares comerciales, aislados silvestres y criollos de *Phaseolus vulgaris*, empleando a la cepa K599 de *Agrobacterium rhizogenes* (figura 1). Asimismo, hemos podido transformar cultivares comerciales y aislados silvestres de otras especies del mismo género tales como *Phaseolus coccineus* (ayocote), *Phaseolus lunatus* (frijol lima) y *Phaseolus acutifolius* (frijol tépari). Las raíces transgénicas inducidas son robustas, crecen rápidamente y son susceptibles de ser noduladas por inoculación con *Rhizobium* (figura 2). En este sistema se producen plantas cuyas raíces son los únicos tejidos transformados; el resto de la planta no expresa ningún transgene. Al poder inducir raíces transgénicas con *Agrobacterium rhizogenes* en el género *Phaseolus*, se asientan las bases para establecer programas de genómica funcional enfocados en la fisiología de la raíz, su metabolismo, efectos de es-



Agrobacterium rhizogenes



infección en zona cotiledonar



planta con raíces transformadas

Figura 1.

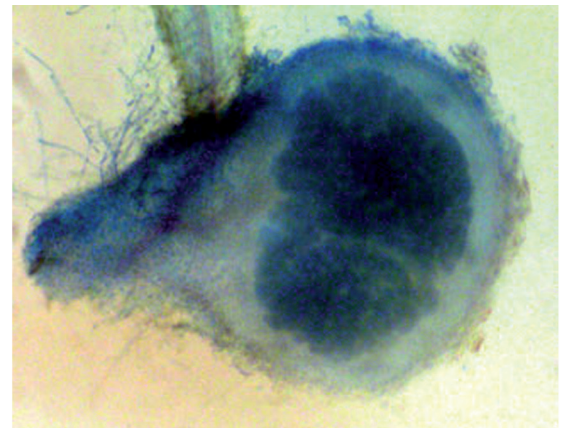
Obtención de raíces transgénicas de frijol. *Agrobacterium rhizogenes* (izquierda, imagen de Shirley Owens, Microbe Zoo Project, Comm. Tech Lab, Michigan State University) es el agente inductor de raíces transgénicas (*hairy roots* o “raíces peludas”) en algunas plantas. Utilizando esta bacteria que lleva los genes de interés clonados entre las regiones RB y LB hemos podido inducir “raíces peludas” cuando se infecta la región de los cotiledones en el tallo de la planta de frijol (centro). Después de 2 o 3 semanas crecen en la región infectada varias raíces “agravitrópicas” (derecha) que expresan los transgenes deseados.



R



NR



N-GUS

Figura 2.

Raíces y nódulos transgénicos de *Phaseolus vulgaris*. Las plantas compuestas de frijol son aquellas a las que se les remueve la raíz principal (no transgénica) y queda sólo como único tejido transformado las raíces transgénicas. Éstas son noduladas al inocularse con *Rhizobium tropici* (R). Los nódulos transgénicos formados (NR) son estructural y funcionalmente iguales a los nódulos no transgénicos. Puede observarse la actividad de la enzima beta-glucuronidasa (N-GUS) bajo un promotor constitutivo de plantas (35S) en un corte al microscopio óptico de un nódulo transgénico.

treses abióticos como la sequía, metales pesados, suelos ácidos. Asimismo, las interacciones de las raíces con microorganismos simbiotes o patógenos del suelo, pueden ser estudiadas, ya que esta técnica representa una nueva y poderosa herramienta para entender los procesos que conllevan a establecer la resistencia y la inmunidad innata. En particular, en nuestro laboratorio, utilizamos la técnica de silenciamiento genético mediante ARN antisentido e interferente (ARNi) dirigido contra una región conservada en todos los genes que codifican una familia de proteínas, llamada nodulina 30 (PvNOD30) que se sobre-expresan en los nódulos de frijol; mediante esta técnica hemos disminuido su expresión notablemente (70 a 80%) en nódulos transgénicos inducidos en las raíces de frijol transformadas con *A. rhizogenes*. Con esta alteración se ha determinado el fenotipo de los nódulos, lo cual sugiere la posible función de esta enigmática familia de transcritos muy conservados entre sí y expresados abundantemente durante la interacción con un organismo simbiote como *Rhizobium*.

Con base en todo lo arriba descrito, es momento propicio para hacer investigación en esta leguminosa de grano para consumo humano directo, cuyo incremento en la producción impacta a un sector desprotegido de la población en los países en desarrollo. Así mismo, es una leguminosa que fue domesticada en México, que pertenece al género *Phaseolus*, que es originario de América y que compartió un ancestro común con la soya (*Glycine max*) hace 15 millones de años, la cual tiene su origen en Asia (McClellan *et al.*, 2007). El estudio de la domesticación de esta especie y la aparente rápida especiación del género *Phaseolus*, aunada a la posibilidad de incrementar su producción mediante un estudio racional y enfocado de su genoma, son algunas de las "suculentos" resultados que, se anticipa, sacaremos de la genómica de la olla de los frijoles.

Genómica de *Phaseolus vulgaris*

A pesar de la importancia agrícola del frijol, hasta hace dos años la información pública sobre secuencias de EST o etiquetas de secuencias expresadas (*expressed sequence tags*) de frijol era prácticamente inexistente. Georgina Hernández y Miguel Lara, del Programa de Investigación en Genómica Funcional de Eucariotes del Centro de Ciencias Genómicas (CCG-UNAM) y el grupo de Carroll Vance, de la U. de Minnesota/USDA, reportaron a finales de 2005 las secuencias de 20 000 EST derivadas de dos genotipos de *P. vulgaris*: negro Jamapa (mesoamericano) y G19833 (andino). En particular, se prepararon bibliotecas de ADNc de nódulos maduros inducidos por la bacteria fijadora de nitrógeno *Rhizobium tropici*, y de raíces, hojas y vainas, creciendo en deficiencia de fósforo (Ramírez *et al.*, 2005). Estas secuencias se obtuvieron tanto en la U. de Minnesota como en el CCG-UNAM, utilizando la infraestructura para secuenciación automatizada de ADN de este centro que coordina Guillermo Dávila. El análisis y ensamblaje hecho en *contigs* de las secuencias de EST generadas en los grupos de Cuernavaca-Minnesota, junto con cerca de 5000 secuencias de EST reportadas por Melotto *et al.*, 2005, generaron el "*Phaseolus vulgaris* Gen Index" con 9670 genes únicos: 2883 ensamblados en *contigs* y el resto, 6787, clasificados como *singletons* (Graham *et al.*, 2004). Este trabajo fue realizado en la U. Minnesota debido a la necesidad de colaborar con colegas expertos en bioinformática de plantas. De manera similar, The Institute for Genomic Research (TIGR) generó el "Common bean Gen Index", de acceso público desde julio de 2005 (www.tigr.org). Este es el cuarto Gene-Index elaborado para especies de leguminosas por TIGR, después de las dos leguminosas modelo *Lotus japonicus* y *Medicago truncatula*, así como el de soya (*Glycine max*). Recientemente, en el grupo de Carmen Quinto del Departamento de Biología Molecular de Plantas, del Instituto de Biotecnología de la UNAM, se ha obtenido la secuencia de 3000 clonas (promedio 600 pb) de un banco de ADNc de raíces de frijol (negro Jamapa), después de haber sido inoculadas en-

tre 30 minutos y 72 horas con *Rhizobium etli*. Es probable que se tenga en diferentes laboratorios un acervo no reportado aún de otros 20,000 EST que serán liberados en los próximos meses (Gary Stacey, comunicación personal). Además, se tiene el interés de expertos nacionales para trabajar en conjunto con el fin de obtener los fondos necesarios para secuenciar el genoma del *Phaseolus vulgaris* (Conacyt). Este mismo esfuerzo se está solicitando actualmente en paralelo en otros lugares de Estados Unidos y Europa, ya que el genoma del frijol podría ser el modelo diploide para ensamblar y entender procesos de poliploidización en la soya. Hay un esfuerzo internacional, llamado PHASEOMICS (www.phaseolus.net), que agrupa a todos los investigadores en genómica de *Phaseolus vulgaris* y que hace las veces de servidor central para difundir iniciativas, noticias y técnicas, y tener presencia ante organismos internacionales.

Sin duda que un plato de genómica de la olla de los frijoles se anticipa ya como un sabroso y nutritivo manjar. ●

Bibliografía

- Aragão, F. J. *et al.*, "Transgenic dry bean tolerant to the herbicide glufosinate ammonium", en *Crop. Sci.*, 42, 2002.
- Broughton, W. J. *et al.*, "Beans (*Phaseolus* spp.) model food legumes", en *Plant and Soil*, 252, 2003.
- Christou, P., "Biotechnology applied to grain legumes", en *Field Crops Res.*, 53, 1997.
- Estrada-Navarrete, G. *et al.*, "Agrobacterium rhizogenes transformation of the *Phaseolus* spp: A tool for functional genomics", en *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19, 2006.
- Gepts, P. *et al.*, "Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed report of the Cross-Legume Advances Through Genomics Conference", en *Plant Physiol.*, 137, 2005.
- _____, "Genomics of *Phaseolus* beans, a major source of dietary protein and micronutrients in the Tropics", en *Genomics of Tropical Crop Plants*, Moore, P. H. y R. Ming (eds), Berlin, Springer, en prensa, 2007.
- Graham, M. *et al.*, "Computational identification and characterization of novel genes from legumes", en *Plant Physiol.*; 135, 2004.
- McClellan, P. *et al.*, "Genomic and genetic diversity in common bean", en *Legume Crop Genomic*, Wilson, R. F., H. T. Stalker y S. Brummer, Illinois, AOC Press, 2004.
- Melotto, M. *et al.*, "Comparative bioinformatic analysis of genes expressed in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings", en *Genome*, 48, 2005.
- Ramírez, M. *et al.*, "Sequencing and analysis of common bean ESTs. Building a foundation for functional genomics", en *Plant Physiol.*, 137, 2005.
- Tepfer, D., "Genetic transformation using *Agrobacterium rhizogenes*", en *Plant Physiol.*, 79, 1990.
- Yan, X. *et al.*, "Molecular mapping of QTLs associated with root hairs and acid exudation as related to phosphorous uptake in common bean", en *Plant Soil* (en prensa), 2005.
- Zambre, M. *et al.*, "A reproducible genetic transformation system for cultivated *Phaseolus acutifolius* (teparty bean) and its use to assess the role of arcelins in resistance to the mexican bean weevil", en *Theor. Appl. Genet.*, 110, 2005.