

REIVINDICACIONES

1. Método para la identificación y caracterización funcional de genes de interés para el mejoramiento agronómico de especies caracterizado porque consiste en concatenar, causalmente, el desarrollo de las siguientes etapas:

a) Aplicar un estímulo biótico, abiótico o fisiológico sobre variedades vegetales de respuesta biológica y fisiológica contrastante ante el estímulo aplicado;

b) Obtener datos transcriptómicos mediante procesos de secuenciación de ARN de las variedades vegetales contrastantes en relación con el estímulo biológico y fisiológico a evaluar;

c) Obtener, concurrentemente con la etapa b), citosinas metiladas y su ubicación específica sobre cuerpos de genes o sus respectivos promotores, mediante la evaluación a una escala epigenómica de variedades contrastantes al estímulo a evaluar, mediante técnicas globales de evaluación epigenómica.

d) Contrastar los transcriptomas y los epigenomas secuenciados, derivados de las variedades vegetales contrastantes, mediante comparación e intersección de listas de genes;

e) Una etapa de identificación de genes diferencialmente expresados asociados a diferencias epigenómicas asociadas a metilación diferencial de citocinas;

f) Una etapa de correlación de genes sobrerregulados cuyo promotor se encuentre hipometilado o genes con una expresión génica disminuida cuyo promotor se encuentre hipermetilado;

g) Una etapa de confirmación de los niveles de expresión mediante técnicas de biología molecular para la cuantificación específica de transcritos;

h) Una etapa de validación de los genes candidatos mediante implementación de herramientas de coexpresión y de análisis funcional

2. El método de la reivindicación 1 caracterizado porque el estímulo biótico, abiótico o fisiológico aplicado sobre variedades vegetales de respuesta biológica y fisiológica contrastante incluye tolerancia a estreses abióticos, resistencia a estreses bióticos, respuestas fisiológicas diferenciales ante estímulos ambientales específicos.

3. El método de la reivindicación 1 caracterizado porque la etapa de obtención de datos transcriptómicos incluye experimentos sistémicos de análisis transcripcional, microarreglos o secuenciación masiva de ARNs (RNA-Seq).

4. El método de la reivindicación 1 donde la etapa de obtención de datos epigenómicos incluye técnicas globales de caracterización epigenómica , que incluye la secuenciación de ADN por conversión con bisulfito.

5. El método de la reivindicación 1 caracterizado porque la etapa de correlación de genes sobrerregulados cuyo promotor se encuentre hipometilado o genes con una expresión génica disminuida cuyo promotor se encuentre hipermetilado se realiza por técnicas de análisis de datos y contrastación de listas.

6. El método de la reivindicación 1 caracterizado porque la etapa de confirmación de los niveles de expresión de los genes filtrados se realiza mediante la técnica de PCR en tiempo real (qPCR).

7. El método de la reivindicación 1 donde el estímulo aplicado sobre variedades vegetales de respuesta biológica y fisiológica contrastante es tolerancia al estrés por aluminio (Al).

8. El método de la reivindicación 1 donde las variedades vegetales de respuesta biológica y fisiológica contrastante ante el estímulo aplicado son *Oryza sativa* y *Oryza glumaepatula*.