

ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE GENES CODIFICANTES DE DEFENSINAS EN LAS VARIEDADES RESISTENTE Y SUSCEPTIBLE INFECTADAS CON EL HONGO *Macrophomina phaseolina*

Ortiz, Andrea Belén¹; Orrego, Adriana¹; Kohli, Man Mohan²; Iehisa, Julio C.M.¹

beluotz@gmail.com; adriorrego93@gmail.com; mmkohli@gmail.com; jcmiehisa@qui.una.py

¹ Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay

² Cámara Paraguaya de Exportadores y Comercializadores de Cereales y Oleaginosas (CAPECO), Asunción, Paraguay

RESUMEN

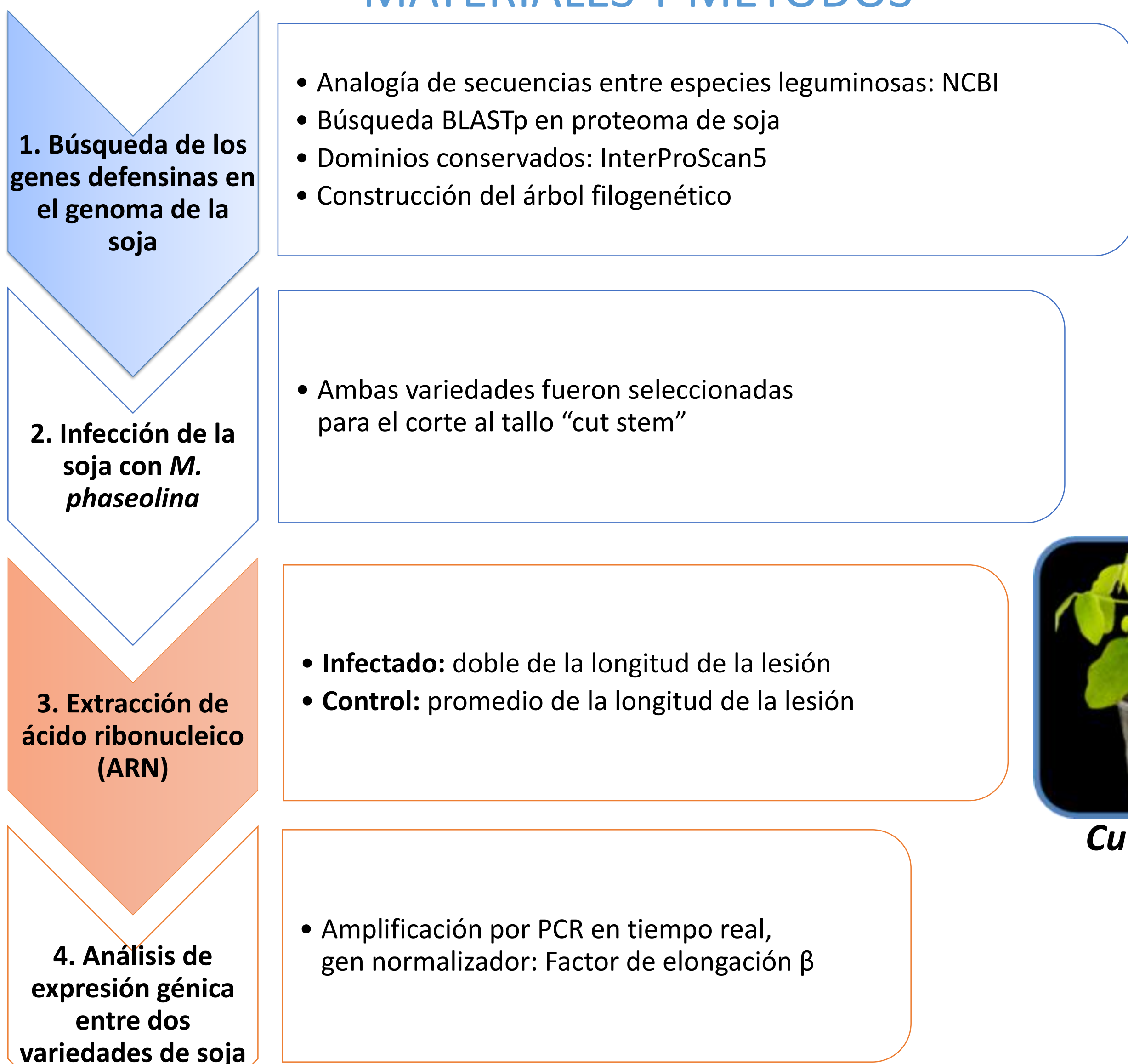
La pudrición carbonosa, enfermedad causada por el hongo fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* afecta varios cultivos de interés agronómico como la soja (*Glycine max*). Se han reportado variedades de soja con mayor resistencia a *M. phaseolina*, pero se desconoce su mecanismo de defensa contra dicho hongo. En plantas, las defensinas, pequeños péptidos ricos en cisteína presentan actividad antifúngica. En este trabajo se realizó una búsqueda de estos en el genoma de la soja y su análisis de expresión durante la infección con el hongo en una variedad de soja resistente (DT974290) y otra susceptible (A4910). Se encontraron nueve genes codificantes de defensinas. Para el análisis de expresión, ambas variedades fueron inoculadas con un aislado del hongo utilizando el método cut-stem. El ARN fue extraído a los 1, 3 y 6 días post-inoculación. La expresión de las defensinas fue analizada mediante la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real con retro-transcripción.

INTRODUCCIÓN

El hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. es capaz de sobrevivir durante años tras la producción de microsclerocios y es causante de la podredumbre carbonosa de la soja (*Glycine max* [L.] Merr.) (PCS). Debido a que la soja es uno de los cultivos más importantes del Paraguay, la disminución del rendimiento debido a la PCS puede impactar a la economía nacional. Existen varias medidas de control, sin embargo, el desarrollo de la resistencia genética de la planta huésped podría resultar en un control más eficiente de esta enfermedad.

Por lo que a partir de la búsqueda de genes codificantes de defensinas en soja y su posterior comparación del nivel de expresión entre variedad resistente y susceptible infectadas con el hongo permitirá conocer su contribución al fenotipo resistente y aplicar a mejora de los cultivos, seleccionando aquellas con mayor expresión de estos genes.

MATERIALES Y MÉTODOS



Cut-stem

RESULTADOS

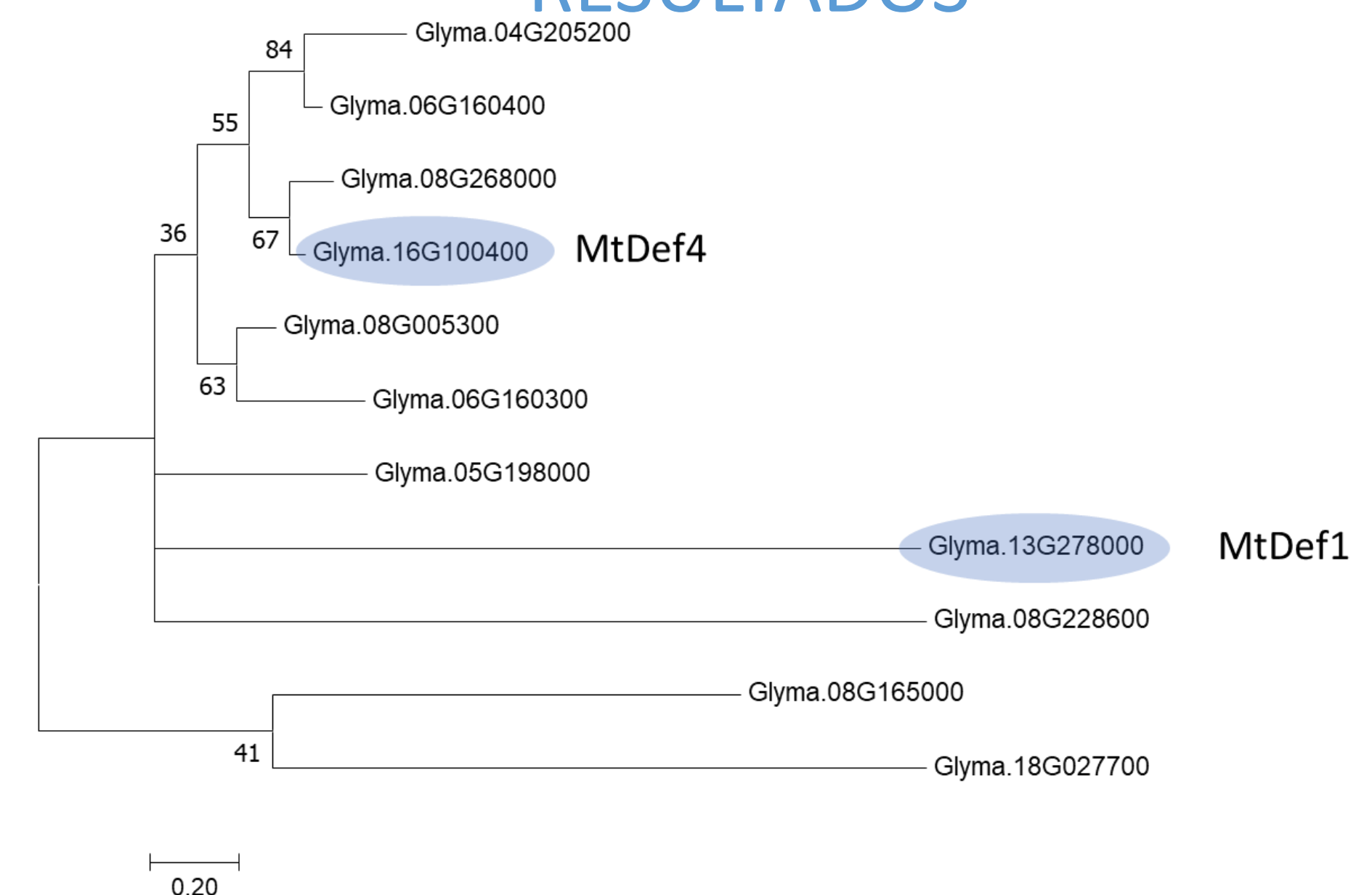


Fig. 1: Árbol filogenético de las defensinas y péptidos similares a defensinas de soja. Se indican los ortólogos de las defensinas MtDef1 y MtDef4 de *M. truncatula*.

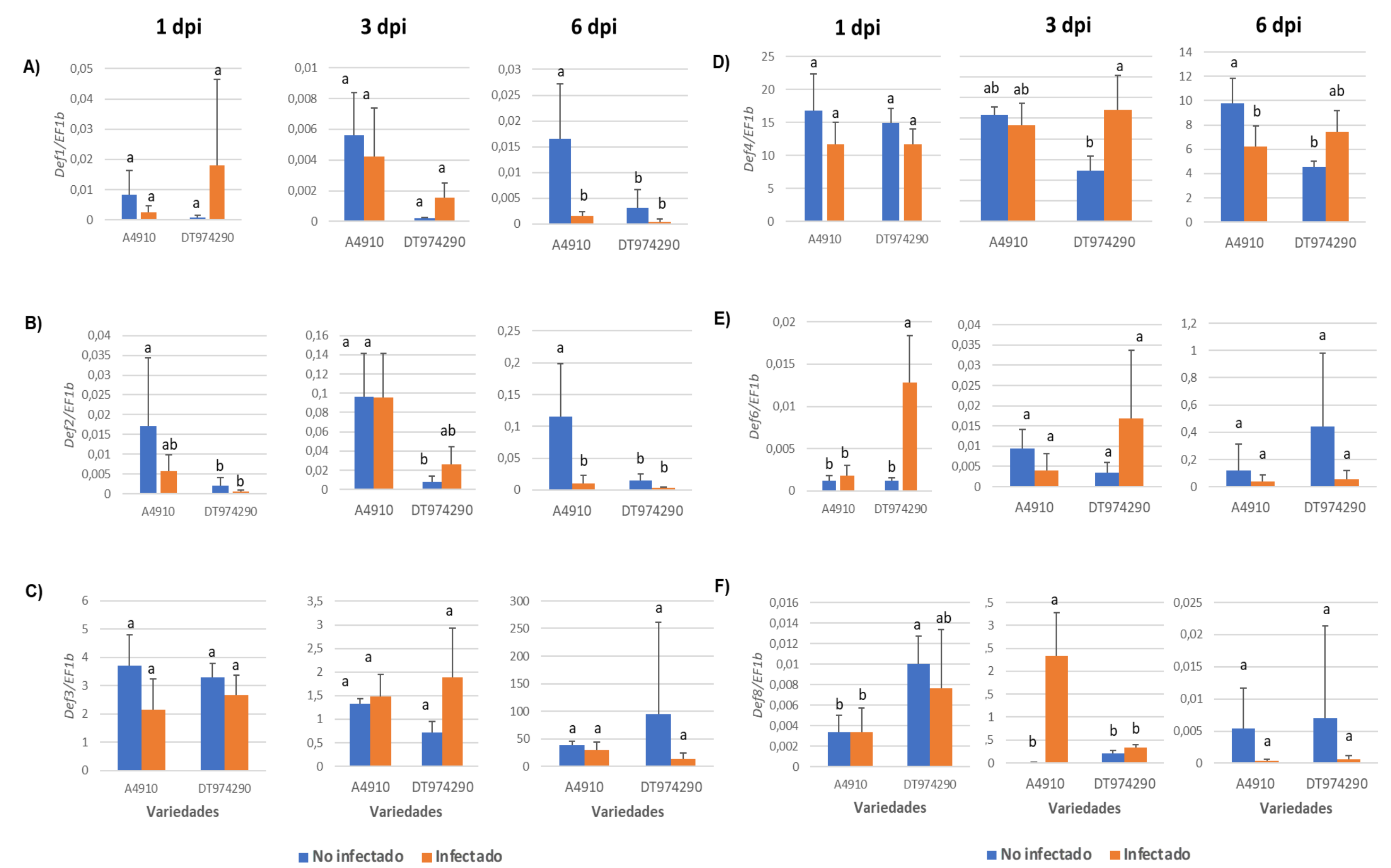


Fig. 2 Comparación del nivel de expresión de las defensinas *GmDef1* a *GmDef8*, *GmDef6* y *GmDef8* a los uno, tres y seis días post-inoculación. Se analizaron la expresión de: A) *GmDef1* B) *GmDef2* C) *GmDef3* D) *GmDef4* E) *GmDef6* y F) *GmDef8* a los 1 dpi, 3 dpi y 6 dpi. Los datos presentados son promedio y desviación estándar de tres réplicas biológicas. La expresión de los genes fue normalizada con el nivel de expresión del gen de factor de elongación beta (*GmEF1b*) en cada muestra. Se aplicó el ANOVA con test *post-hoc* de Tukey. Los grupos con letras distintas indican diferencia significativa a un nivel de $P < 0,05$

CONCLUSIONES

- En el genoma de la soja se encontraron nueve defensinas canónicas.
- Fueron expresadas seis defensinas en las condiciones estudiadas.
- A los 1 dpi, Def6 fue inducida en la variedad resistente.
- La mayoría de estas defensinas fueron inducidas a los 3 dpi en la variedad resistente, pero no en la susceptible.
- A los 6 dpi, la mayor parte presentó una disminución en la expresión.
- Se sugiere que Def6 podría contribuir a la resistencia de la variedad DT974290 con respecto a la variedad A4910.
- La diferencia en la inducción de los genes codificantes de defensinas entre las variedades indica que existe una activación diferencial de alguna vía de señalización que contribuya a la resistencia de DT974290.

REFERENCIAS

- Coser, S. M., Chowda Reddy, R. V., Zhang, J., Mueller, D. S., Mengistu, A., Wise, K. A., ... Singh, A. K. (2017). Genetic Architecture of Charcoal Rot (*Macrophomina phaseolina*) Resistance in Soybean Revealed Using a Diverse Panel. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1626.
- Twizeyimana, M., Hill, C. B., Pawlowski, M., Paul, C., & Hartman, G. L. (2012). A cut-stem inoculation technique to evaluate soybean for resistance to *Macrophomina phaseolina*. *Plant Disease*, 96(8), 1210–1215.

FINANCIACIÓN

El presente trabajo fue cofinanciado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) del Paraguay con apoyo del FEEI (Proyecto PINV15-315).