

COMPARACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE GENES CODIFICANTES DE PECTINASAS EN DOS AISLADOS DE *Macrophomina phaseolina* CON DISTINTOS GRADOS DE VIRULENCIA DURANTE LA INFECCIÓN DE SOJA

Arévalos, Aníbal Rubén¹; Orrego, Adriana¹; Ortiz, Belén¹; Galeano, Jennifer¹; Kohli, Man Mohan²; Iehisa, Julio C.M.¹

anirubarevalos@gmail.com; adriorrego93@gmail.com; beluotz@gmail.com; jenniigamel@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

Macrophomina phaseolina es uno de los patógenos fúngicos necrotróficos más devastadores a nivel mundial caracterizado por afectar a varios cultivos de importancia económica entre ellos la soja (*Glycine max*). Los hongos necrotróficos causan la muerte de las células del huésped mediante la secreción de toxinas y enzimas, para luego nutrir de sus restos. Sin embargo, no se ha demostrado cuales de las enzimas implicadas en la degradación de la pared celular vegetal son fundamentales para la patogénesis de este hongo. Uno de los componentes importantes de la pared celular es la pectina. El objetivo del trabajo fue comparar la expresión de genes codificantes de pectinasas en dos aislados del hongo con distintos grados de virulencia.

INTRODUCCIÓN

La pared celular vegetal se encuentra conformada por polisacáridos como celulosa, hemicelulosa y pectinas y actúa como una de las barreras para impedir el ingreso de los patógenos. Los fitopatógenos secretan enzimas capaces de hidrolizar los componentes de la pared celular de las plantas. En algunos patógenos, se han identificado a las enzimas que actúan como factores de virulencia. Sin embargo, en el hongo necrotrófico *M. phaseolina* no se ha estudiado el rol de estas enzimas como factores de virulencia.

Mediante la comparación del nivel de expresión de los genes codificantes de enzimas degradadoras de pared celular entre aislados de *M. phaseolina* con distintos grados de virulencia se podrá conocer cuáles de ellas podrían actuar como factores de virulencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo *in vitro* de la soja e inoculación por debajo de la parte media con *M. phaseolina*



→ Inoculación con una suspensión de micelios debajo de la parte media y adyacente a la raíz principal

Aislados de *M. phaseolina* utilizados:

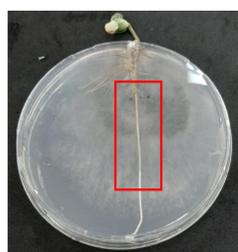
- Naranjal (menor virulencia en soja)
- Campo 9 (mayor virulencia en soja)

Análisis de expresión génica en dos aislados de *M. phaseolina*

Colecta de la muestra de la zona infectada a los 2 y 4 dpi

Extracción de ARN y síntesis de cDNA

Análisis de expresión mediante RT-qPCR



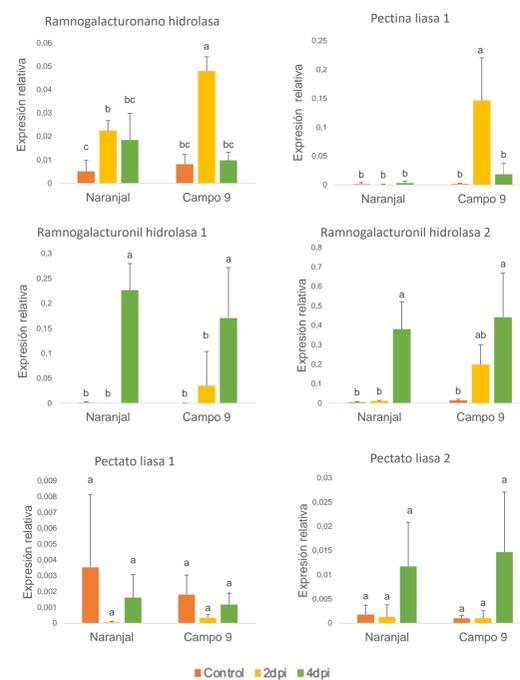
RESULTADOS

Análisis del genoma de *M. phaseolina*

Se encontraron cuatro tipos de pectinasas en el genoma del patógeno:

Tipo de pectinasa	Total de genes	Presencia de péptido señal
Ramnogalacturonano hidrolasa	1	1
Ramnogalacturonil hidrolasa	4	2
Pectato liasa	11	10
Pectina liasa	5	3

Análisis de expresión de los genes seleccionados



Comparación del nivel de expresión de los genes codificantes de pectinasas en dos aislados de *M. phaseolina*. Se analizaron la expresión de los genes seleccionados mediante RT-qPCR en el aislado de Naranjal con menor virulencia en soja (izquierda) y en el aislado de Campo 9 con mayor virulencia (derecha). La expresión de los genes fue normalizada con el nivel de expresión del gen de factor de elongación 1 beta (*EF1b*) en cada grupo. Los datos presentados son promedio y desviación estándar de al menos tres replicas biológicas. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las condiciones y los aislados según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

CONCLUSIONES

- Genes codificantes de ramnogalacturonano hidrolasa y pectina liasa 1 presentan mayor expresión a los 2 dpi sugiriendo una participación en la etapa inicial de infección. Estos dos genes podrían contribuir en la mayor virulencia del aislado de Campo 9 con respecto a Naranjal.
- Los genes de ramnogalacturonil hidrolasa y pectato liasa presentan mayor expresión a los 4 dpi sugiriendo una participación en la etapa tardía de la infección.
- Los resultados del presente trabajo pueden contribuir en la dilucidación del mecanismo implicado en la variación de la virulencia entre los aislados de *M. phaseolina*.

REFERENCIAS

1. Gupta GK, Sharma SK, Ramteke R. Biology, Epidemiology and Management of the Pathogenic Fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with Special Reference to Charcoal Rot of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *J Phytopathol.* 2012;160(4):167–80.
2. Van Kan JAL. Licensed to kill: the lifestyle of a necrotrophic plant pathogen. *Trends Plant Sci.* 2006;11(5):247–53.

FINANCIACIÓN

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