

Validación por qPCR de genes candidatos a estar involucrados en la respuestas de defensa frente a Ralstonia solanacearum en papa





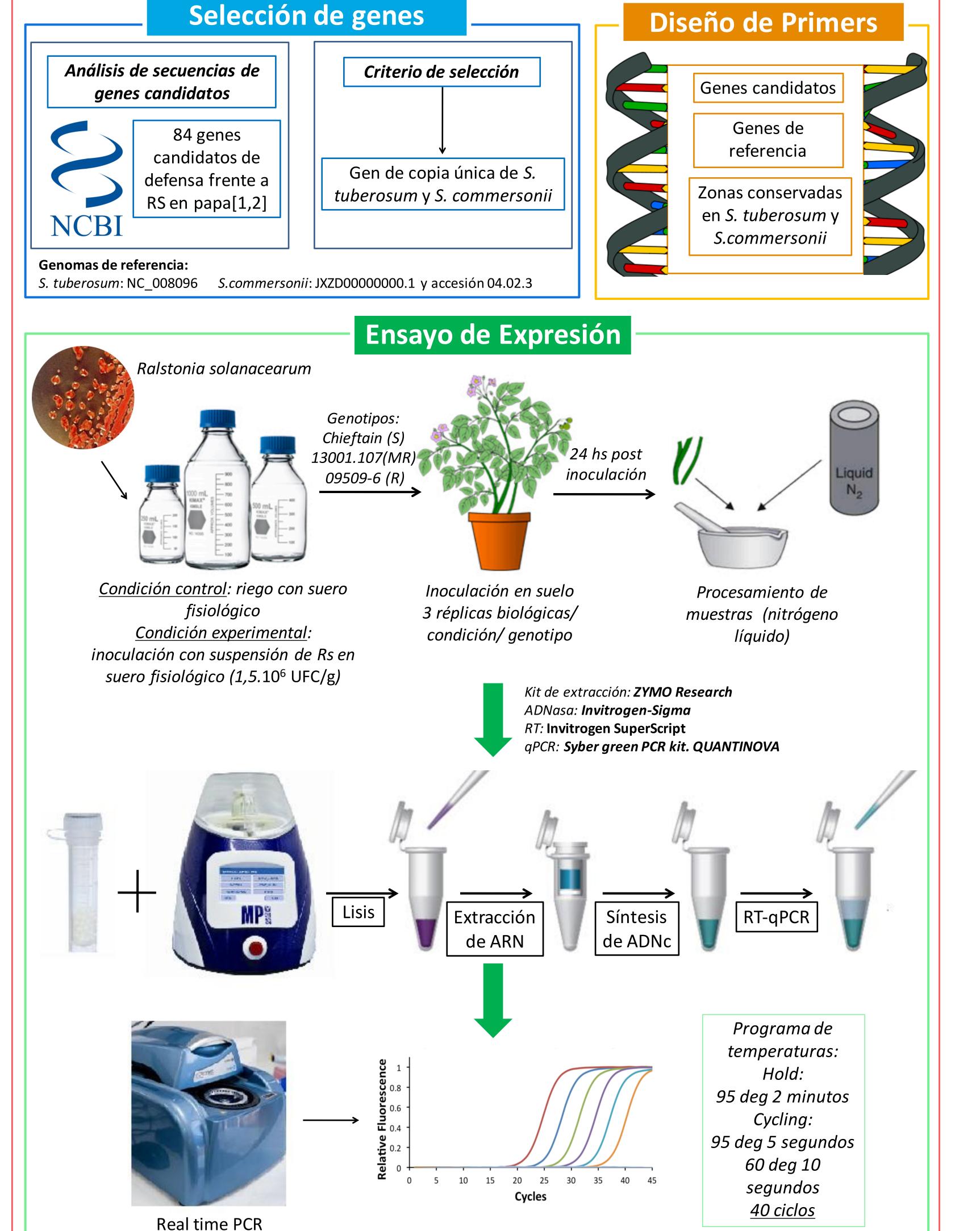
Ferreira V., <u>Denis N.</u>, Siri M.I.

Área de Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, UdelaR ndenis@fq.edu.uy



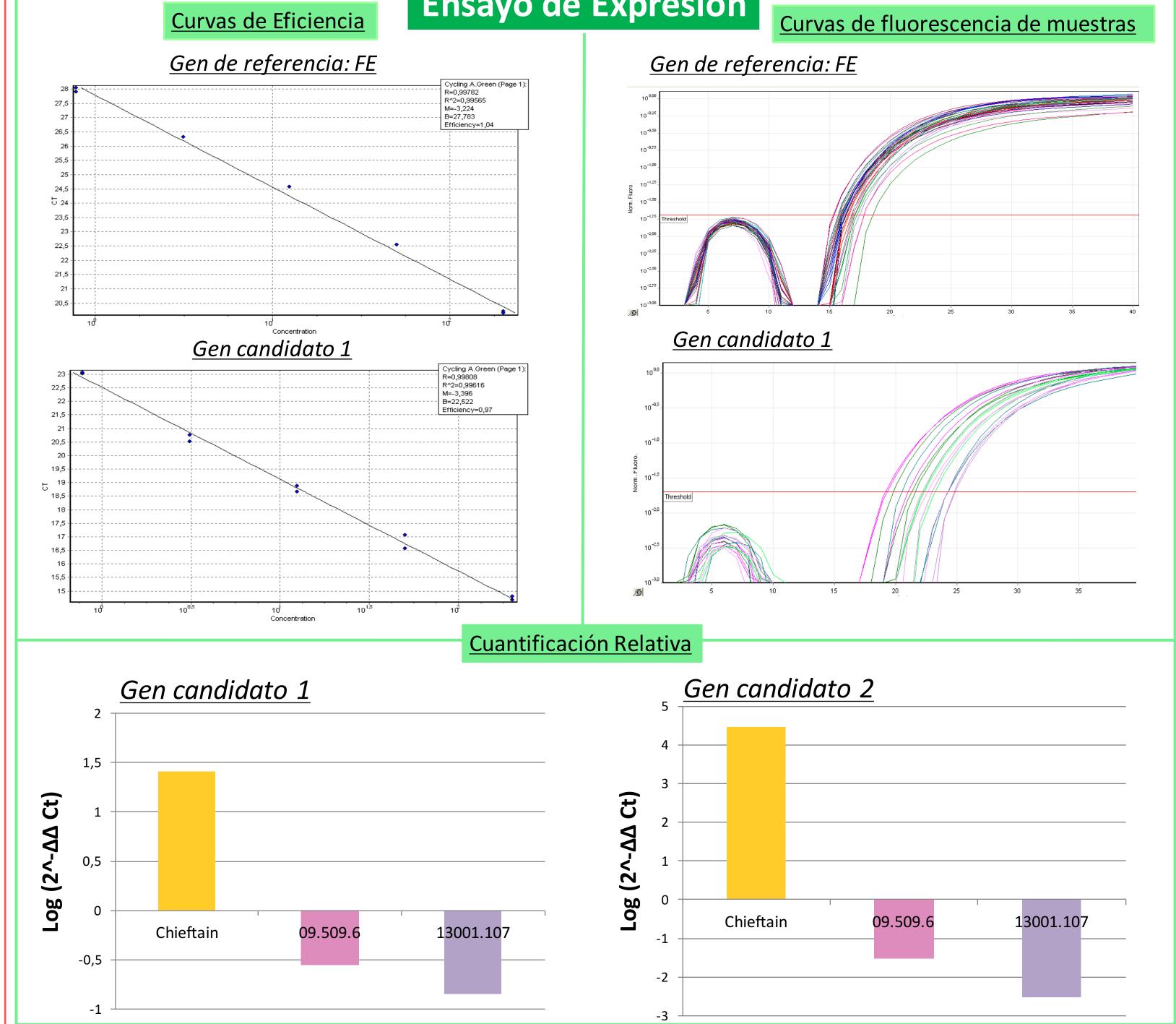
Introducción

La marchitez bacteriana causada por Ralstonia solanacearum (Rs) constituye la principal enfermedad de origen bacteriano para el cultivo de papa (Solanum. tuberosum), provocando importantes pérdidas a nivel productivo. La mejor estrategia para su control es la resistencia genética en el hospedero. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos realizados, no se cuenta con variedades de papa resistentes. Nuestro grupo trabaja en colaboración con INIA en el marco del programa de mejoramiento genético de papa, contando actualmente con líneas avanzadas con buenos niveles de resistencia a Rs introducida a partir de cruzamientos con la especie silvestre tuberosa, Solanum commersonii. El objetivo del presente trabajo es profundizar en los mecanismos de defensa vegetal que se establecen en genotipos de papa seleccionados con resistencia a Rs. Para ello, se analizaron los cambios a nivel de la expresión de genes candidatos de resistencia en plantas sanas e infectadas con Rs mediante cuantificación relativa por RT-qPCR. Se partió de genes identificados en trabajos previos a partir de análisis transcriptómicos realizados en etapas tempranas y tardías de infección sobre este patosistema [1,2] . Se realizó el análisis in silico de 84 genes candidatos, seleccionando aquellos que se encuentran en una sola copia.



Metodología Experimental

Resultados Selección de genes **Gen candidato** Genes de Descripción seleccionado referencia Metabolismo de las auxinas. ácido Indol-3-acetico-amido sintetasa GH3.3. [1] [2] Factor de Putative protein. [1] elongación (FE) Putative protein, [1] Genes with uncertain function. Major pollen allergen Ory s 1. [1] Poligalacturonasa. [1] β- tubulina Metabolismo de las auxinas. Phytosulfokine peptide. [1] Putative proteins. [2] **18S ARN** Putative proteins. [2] Oxido reductasa (ROS). [2] Ensayo de Expresión Curvas de Eficiencia Curvas de fluorescencia de muestras Gen de referencia: FE Gen de referencia: FE



Conclusiones

- •Se seleccionaron tres genes de referencia y nueve genes candidatos de defensa en papa frente a Rs, para su validación mediante RT-qPCR. Se diseñaron primers específicos, se optimizaron las reacciones y se obtuvieron curvas de alta eficiencia. •Mediante RT-qPCR se encontró que en genotipos susceptibles los genes candidatos
- 1 y 2 se inducen en etapas tempranas de infección. Por el contrario, en genotipos resistentes, estos genes se reprimen luego de la infección con Rs.
- Este perfil de expresión sugiere que la regulación de estos genes interviene en la resistencia a Rs en etapas tempranas de infección.

Perspectivas

- •Completar la cuantificación relativa de los genes candidatos restantes y el análisis estadístico de los resultados.
- •Evaluar los perfiles de expresión en otros tejidos (raíz) y en etapas más avanzadas de infección.



Agradecimientos:



Referencias