

Identificación de efectores de *Phytophthora infestans* expresados diferencialmente en el linaje clonal EC-1

Izarra, Myriam¹; Perez, Willmer¹; Lindqvist-Kreuze, Hannele¹.

¹Centro Internacional de la Papa. E-mail: m.izarra@cgiar.org

Introducción

Uno de los objetivos estratégicos del Centro Internacional de la Papa es desarrollar variedades de papa resistentes a sus enfermedades. El tizón tardío, es una de las más devastadoras, causado por el patógeno oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary. Este secreta varias proteínas, llamadas efectores, éstas son moléculas que manipulan la estructura y función celular del huésped, facilitando su infección (factores de virulencia) y/o llevándole respuesta de defensa (factores de avirulencia) [1]. Estudios de las poblaciones del patógeno con respecto a la variación de sus efectores son una parte fundamental para poder determinar la funcionalidad de la resistencia. Además, el conocimiento de la genética de las poblaciones del patógeno puede ayudar en diseñar estrategias para el despliegue de la resistencia durable.

Objetivo

Caracterizar genes involucrados en la virulencia/avirulencia en cepas peruanas pertenecientes al linaje clonal EC-1 de *P. infestans*.

Materiales y Métodos

Plantas de variedad "Yungay" fueron inoculadas con dos cepas de *P. infestans*, POX067 y POX109. Al 1, 2 y 3 días posteriores a la inoculación (dpi) se colectaron hojas para la extracción de ARN. Una muestra de ARN representativa de la mezcla de los tres días de inoculación de cada cepa fue enviada a su respectivo secuenciamiento de ARN mensajero (mRNA). El análisis de los datos de la secuenciación se llevó a cabo con programas TopHat y Cufflinks [2] utilizando la secuencia del genoma de *P. infestans* T30-4. La confirmación de resultados fue evaluado mediante PCR cualitativa (RT-PCR) y por PCR cuantitativa (qRT-PCR).

Resultados

Mediante secuenciación se encontraron 11 genes que tenían expresión diferencial entre las dos cepas analizadas. Cuatro de estos muestran silenciamiento completo en una de las cepas y estos cuatro genes son efectores de tipo RXLR. La expresión diferencial fue confirmada mediante qRT-PCR en las muestras colectadas en 1, 2 y 3 dpi de los cuales el más alto nivel de acumulación de transcrito fue observado en el día 3. Uno de los genes

tipo RXLR silenciados en la cepa POX109 fue *Avr-vnt1*, gen de avirulencia que es reconocido por el gen de resistencia *Rpi-vnt1* proveniente del *Solanum venturii*, un especie silvestre nativa de Argentina. Los otros genes RXLR silenciados también pueden ser genes de avirulencia, contrapartes de genes de resistencia presentes en las numerosas especies silvestres o cultivares nativos de papa que existen en el Perú. También se logró identificar los diferentes variantes (alelos) de otros genes de avirulencia, como *Avr-blb2*, *Avr-blb1* y *Avr3a* y determinar que ciertos genes de avirulencia no se expresan en las cepas analizadas.

Conclusiones

Utilizando secuenciación de ARN se logró identificar efectores de *P. infestans* con expresión diferencial y ausencia de expresión en el linaje clonal EC-1, y mediante qRT-PCR se confirmó los Resultados

Algunos de los efectores identificados tienen una función conocida como genes de avirulencia. El silenciamiento de genes de avirulencia, como *Avr-vnt1*, o la presencia de los variantes que escapan el reconocimiento por los genes de resistencia, como *Avr-3a* sugiere que los genes de resistencia *Rpi-vnt1y R3a* no serían funcionales con cepas presentes en el Perú. Los resultados son útiles para seleccionar genes de resistencia para un programa de mejoramiento.

Referencias bibliográficas

- [1] Kamoun, S. 2006. A Catalogue of Effector Secretome of Plant Pathogenic Oomycetes. Annu. Rev. Phytopathol. 44:41-60.
- [2] Trapnell, C., Roberts, A., Gof, L., Pertea, G. Kim, D., Kelley, D.R., Pimentel, H., Salzberg, S.L., Rinn, J.L. & Pachter, L. 2012. Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with Top Hat and Cufflinks. Nat. Protoc. 7(3): 562–578. doi:10.1038/nprot.2012.016.