

## SILENCIAMIENTO DE GENES INDUCIDO POR EL HUÉSPED, PARA LA PROTECCIÓN DE PLANTAS CONTRA EL PATÓGENO *Phytophthora capsici*

Cinthia Valentina Soberanes Gutiérrez, Rodrigo Muñoz Javier, Harumi Shimada Beltrán y Julio C. Vega Arreguín

Escuela Nacional de Estudios Superiores – León, UNAM, Laboratorio de Ciencias Agrogenómicas, León, Guanajuato México C.P. 37684. [jvega@enes.unam.mx](mailto:jvega@enes.unam.mx)

**Palabras clave:** *Phytophthora capsici*, silenciamiento génico, inhibidor glucanasas.

**Introducción.** *Phytophthora capsici* es un oomiceto que causa la enfermedad del tizón tardío caracterizada por el tizón foliar, el marchitamiento y la podredumbre de la raíz, el tallo y el fruto de huéspedes susceptibles como chile, como frijol, pepino, pimiento, jitomate, berenjena entre otros (1). Este fitopatógeno es transferido por el suelo y puede sobrevivir durante largos períodos antes de germinar, puede crecer incluso en ausencia de nutrientes, dando lugar a micelios y esporangios. Debido a su fácil proliferación causa grandes pérdidas económicas en los cultivos con pérdidas multimillonarias en todo el mundo (2). Por lo cual ha sido necesario el desarrollo de nuevas herramientas para prevenir la infección por este devastador patógeno. Una de ellas es el silenciamiento de genes inducido por el huésped (HIGS). Esta estrategia se emplea para silenciar uno o algunos de los genes de patógenos que son necesarios para el crecimiento, el desarrollo y la patogenicidad. *P. capsici* es capaz de secretar una proteína inhibidora de glucanasas (GIP1) que inhibe la actividad de endoglucanasas, implicadas en respuesta de defensa de las plantas contra la infección. Y en el presente trabajo se realizó el silenciamiento génico de GIP1 con el objetivo de obtener plantas resistentes a este fitopatógeno.

**Metodología.** Se realizó la técnica de HIGS utilizando el patosistema *P. capsici* -*Nicotiana spp.*

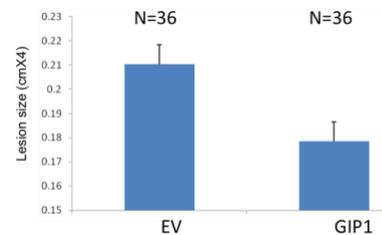
Se realizó la clonación del gen GIP1 en el vector TOPO pENTR/D mediante el sistema Gateway y posteriormente en el vector binario pHellsgate 12, se realizó la expresión transitoria en *N. benthamiana*. Y se realizó la infección con zoosporas de *P. capsici* y se analizaron los síntomas producidos.

**Resultados.** Se identificó el gen GIP1 de *P. capsici*, contiene 777 pb y codifica para una proteína hipotética de 259 aa. Se confirmó por PCR la correcta clonación del gen en el vector TOPO pENTR/D y posteriormente en el vector binario obteniendo el plásmido Phellsgate-GIP1.

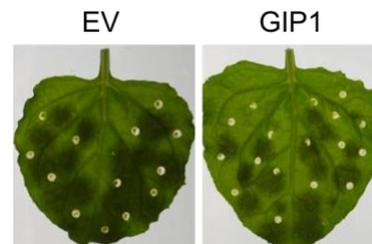
Las cepas de *Agrobacterium tumefaciens* GV2260 se transformaron con esta construcción y se agroinfiltraron plantas de *N. benthamiana* y *N. tabacum* para el ensayo de expresión transitoria. Al realizar la infección con zoosporas de *P. capsici*, se observó una significativa disminución en el tamaño de la lesión causada por el patógeno en las hojas de *N. Benthamiana* (Fig. 1).

Se evaluaron las características fenotípicas comparando hojas que se Agroinfiltraron con el plásmido vacío y las que se agroinfiltraron con el plásmido Phell-GIP1 y se observó que después de realizar la infección con *P. capsici* las hojas que tienen el silenciamiento del gen GIP1 presentan una disminución en el tamaño de la lesión (Fig 2). Demostrando que

este gen es importante para patogénesis y es viable para utilizarlo en la metodología HIGS y combatir a este importante patógeno de plantas.



**Fig. 1.** Gráfica del análisis del tamaño de la lesión producida por *P. capsici*, después del silenciamiento del gen GIP1.



**Fig. 2** Disminución de los síntomas causados por la infección de *P. capsici* en plantas con expresión transitoria de dsRNA-PcGIP1.

**Conclusiones.** Nuestros resultados confirman el gen GIP1 está involucrado en la patogénesis de *P. capsici* y el silenciamiento mediante HIGS se puede utilizar para combatir a este patógeno y producir plantas que sean resistentes a la infección de *P. capsici*.

Este trabajo abre el camino a estudios adicionales en los que se probará la función de otros genes efectores y se analizará la expresión del gen en el tejido infectado.

**Agradecimientos.** PAPIIT – DGAPA – UNAM (proyecto no. IN214917).

### Bibliografía.

1. Quesada-Ocampo, L. M., and Hausbeck, M. K. 2010. Phytopathology 100:619-627.
2. Bosland, P. W. (2008). Think global, breed local: specificity and complexity of *Phytophthora capsici*, in Proceedings of the 19th International Pepper Conference, Atlantic City, NJ.