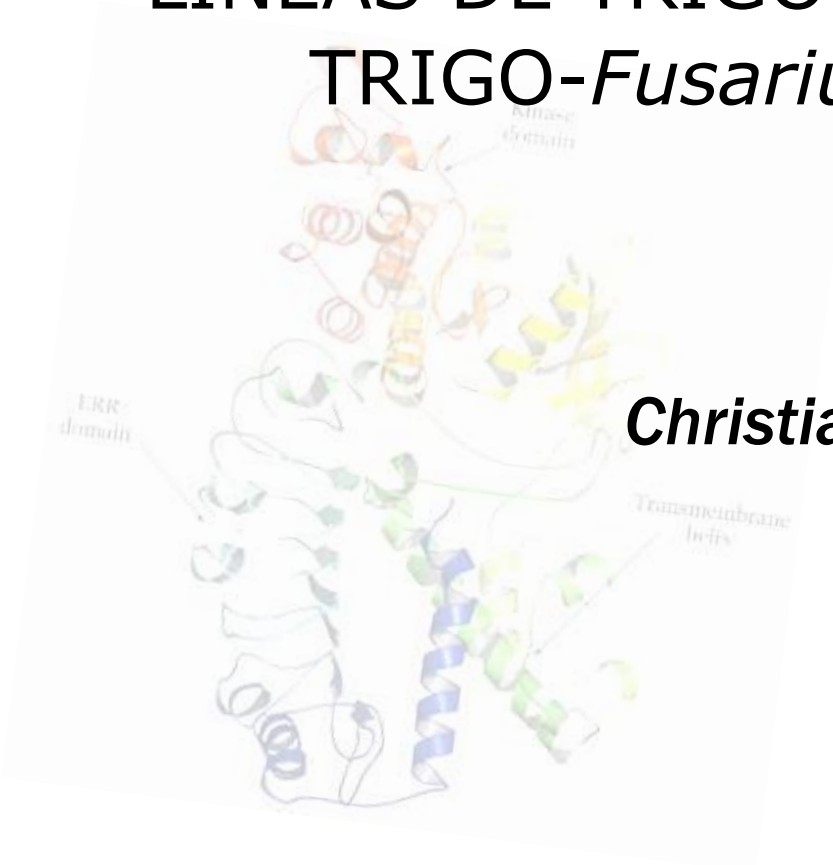
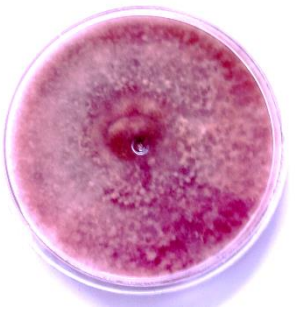
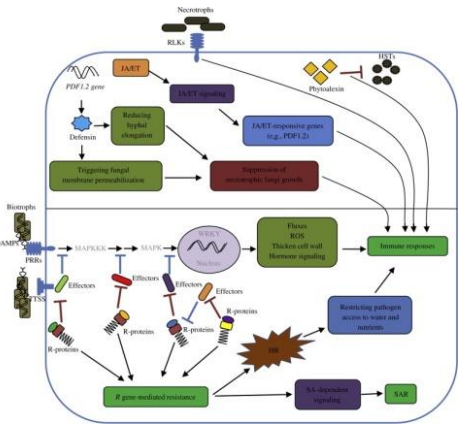


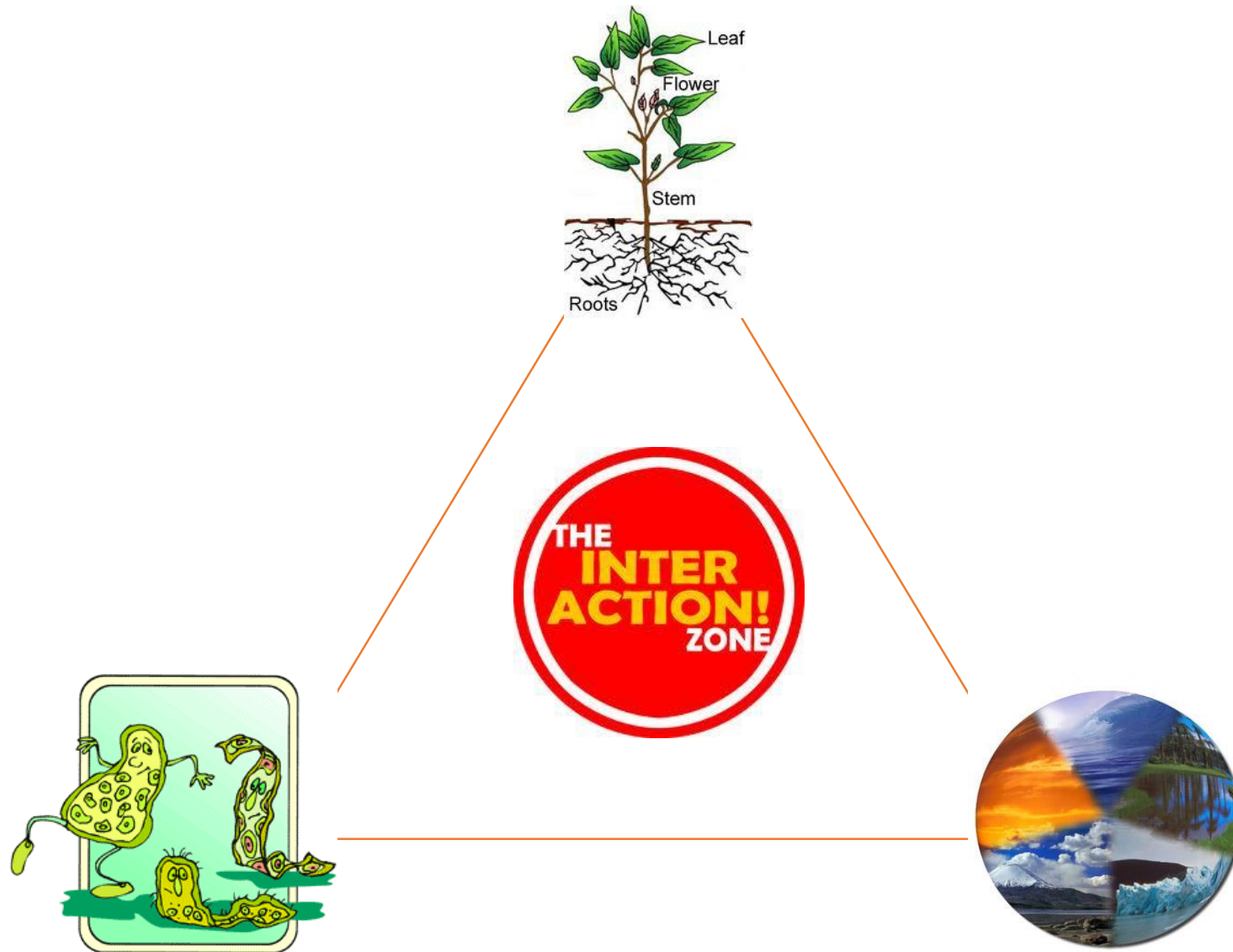


EXPLORANDO LA INTERACCION MOLECULAR DURANTE LA INFECCION TEMPRANA EN LINEAS DE TRIGO EN EL PATOSISTEMA TRIGO-*Fusarium graminearum*



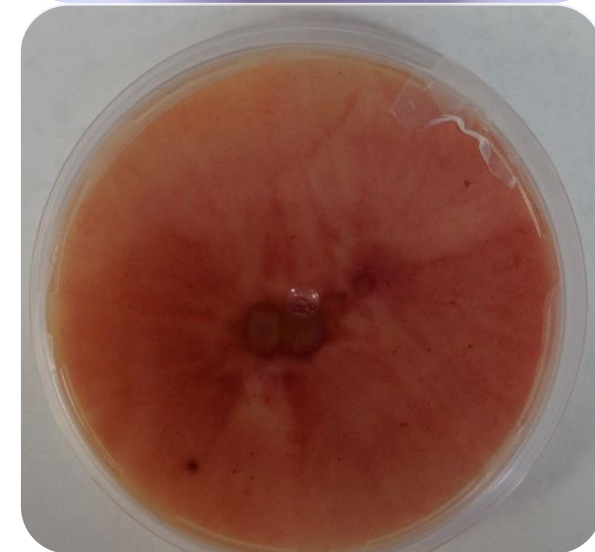
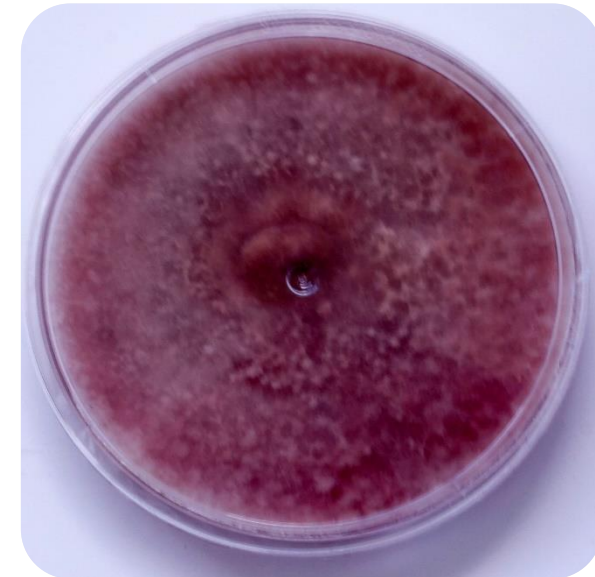
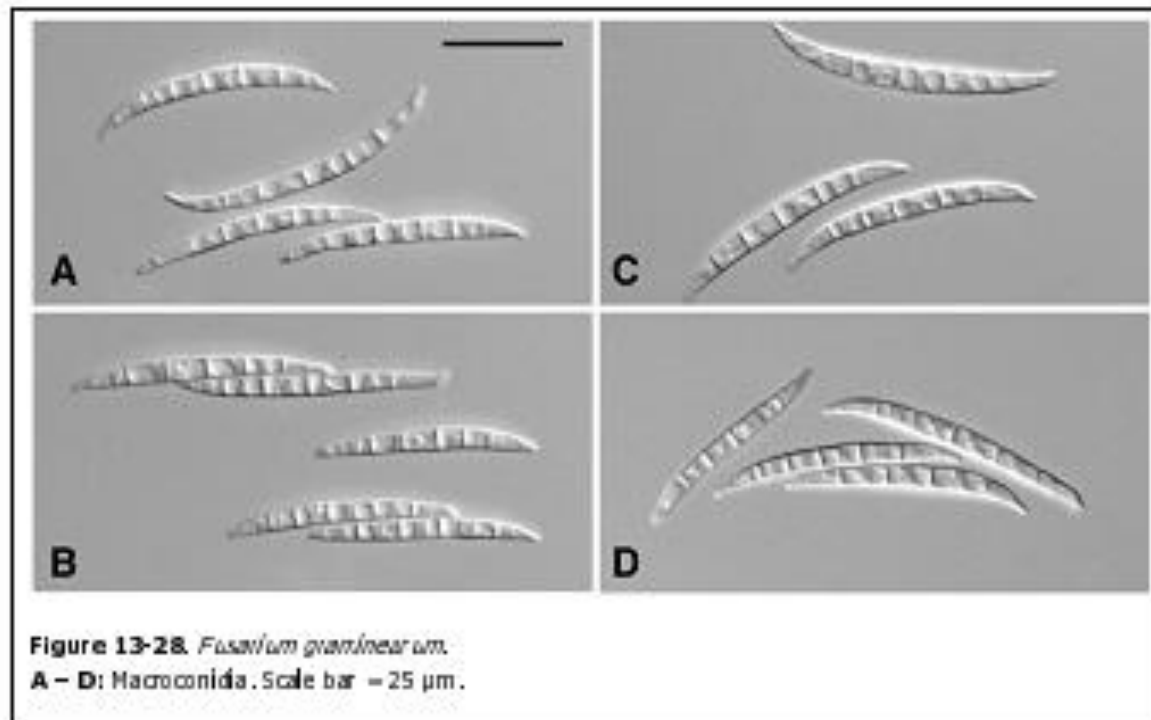
Christian E. Dujak



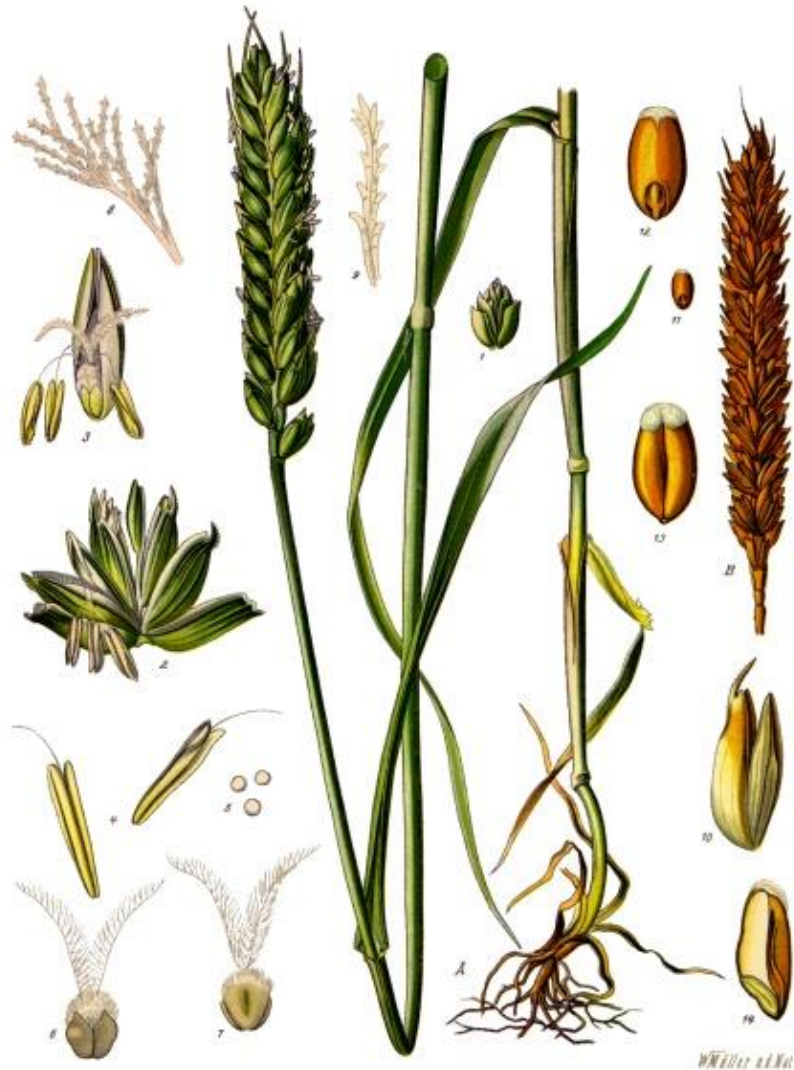


Determina la presencia o ausencia de la enfermedad en el tiempo (momento en el ciclo) y en espacio (lugar de la planta).

Patógeno:
Complejo *Fusarium*
graminearum
Fase sexual:
Gibberella zeae



Hospedero

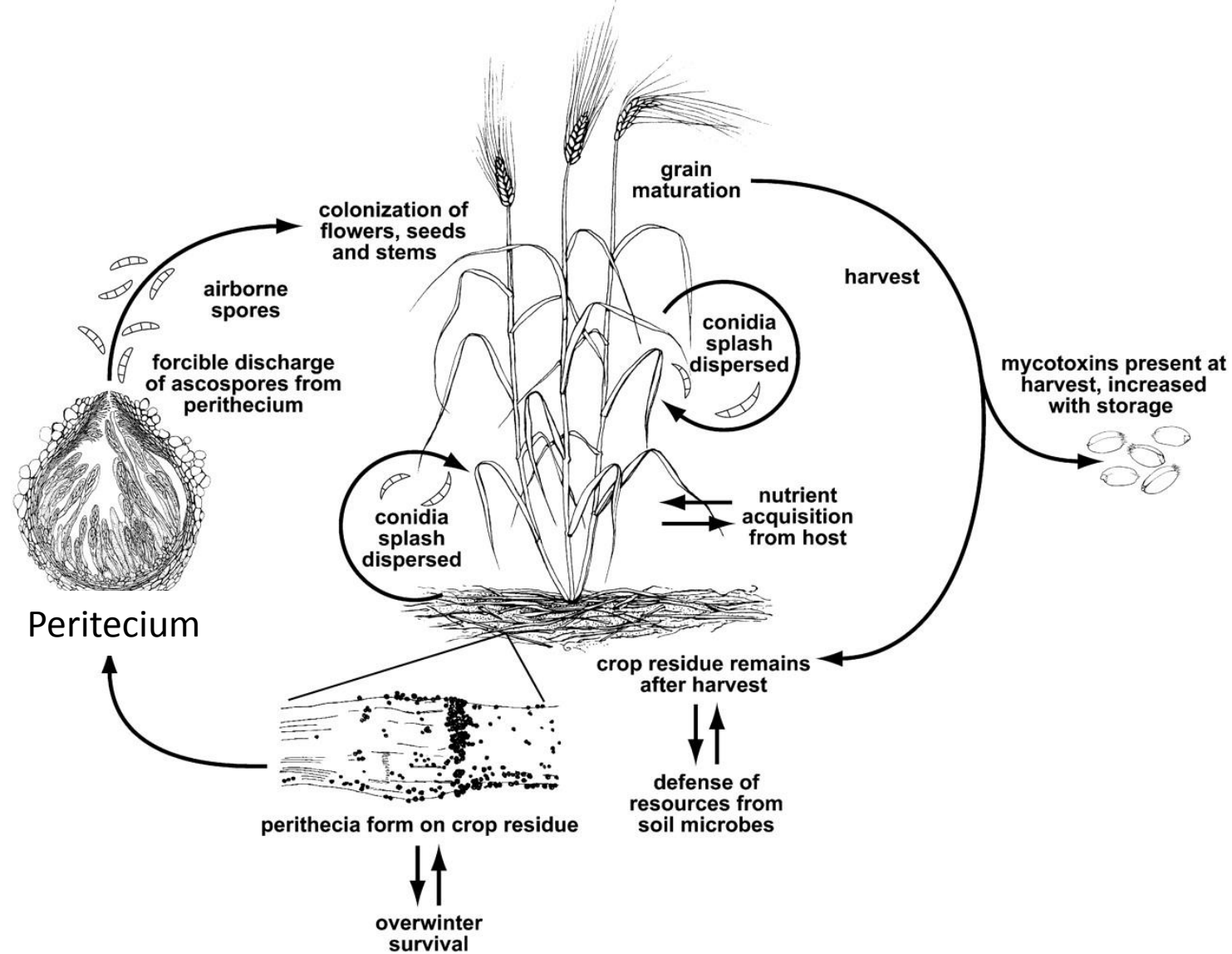


Triticum aestivum L. subsp. *aestivum*
Image processed by Thomas Schoepke

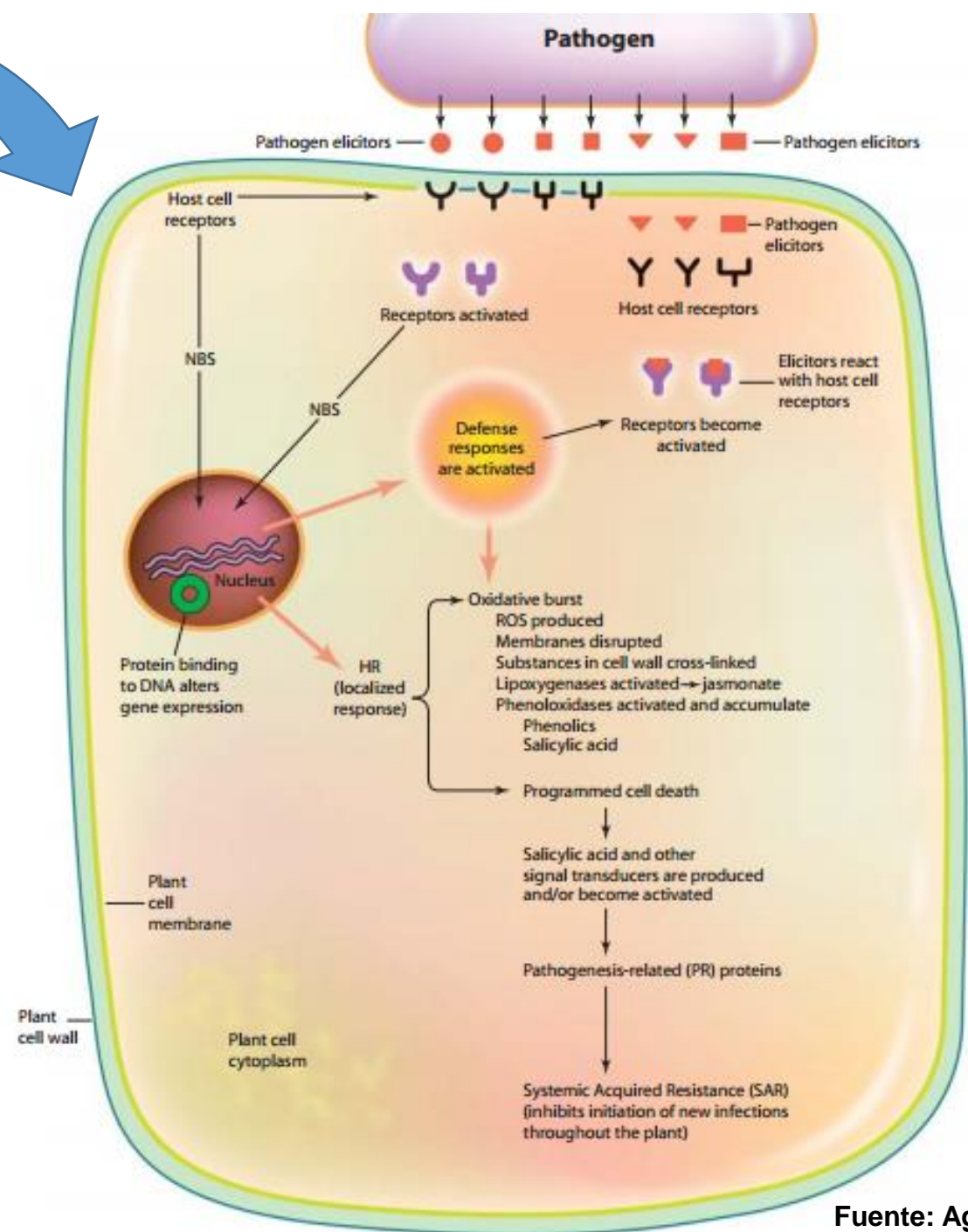
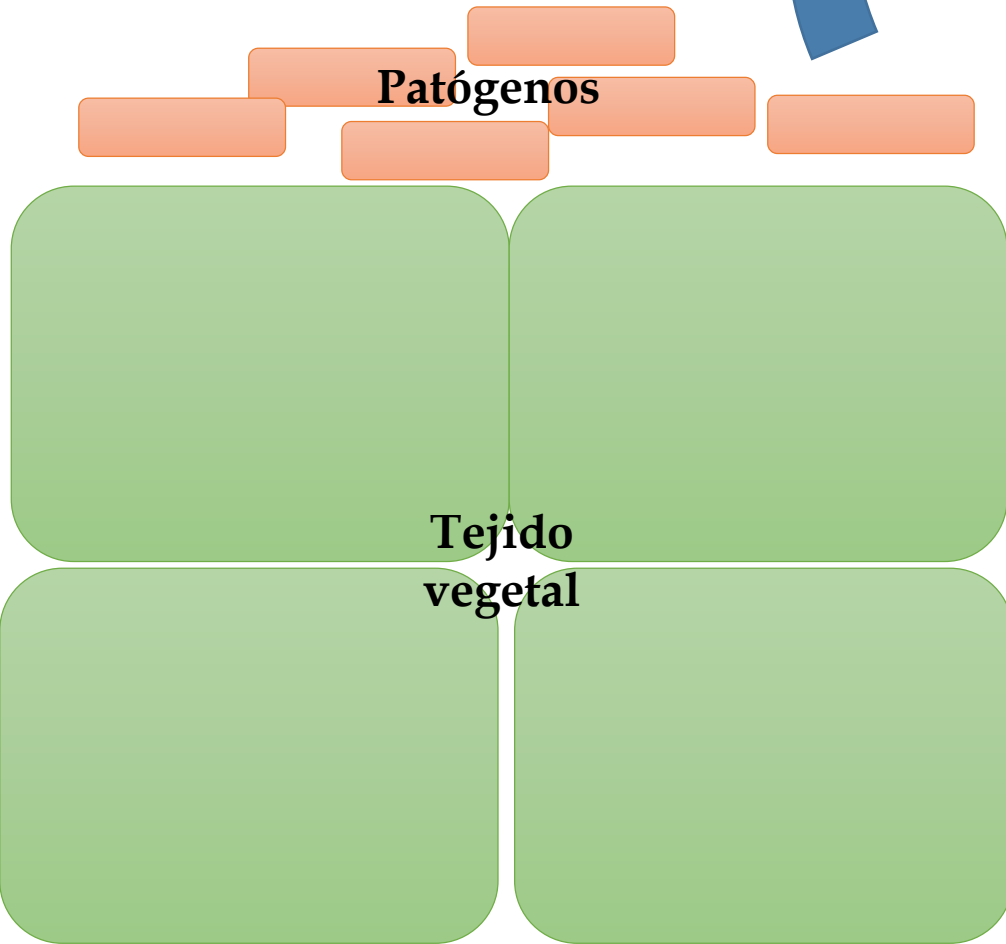


“La base genética en el estudio de la Interacción Hospedero-Patógeno, es la relación del huesped en carácter de resistencia o susceptibilidad y en patógenos la capacidad de virulencia o avirulencia”.

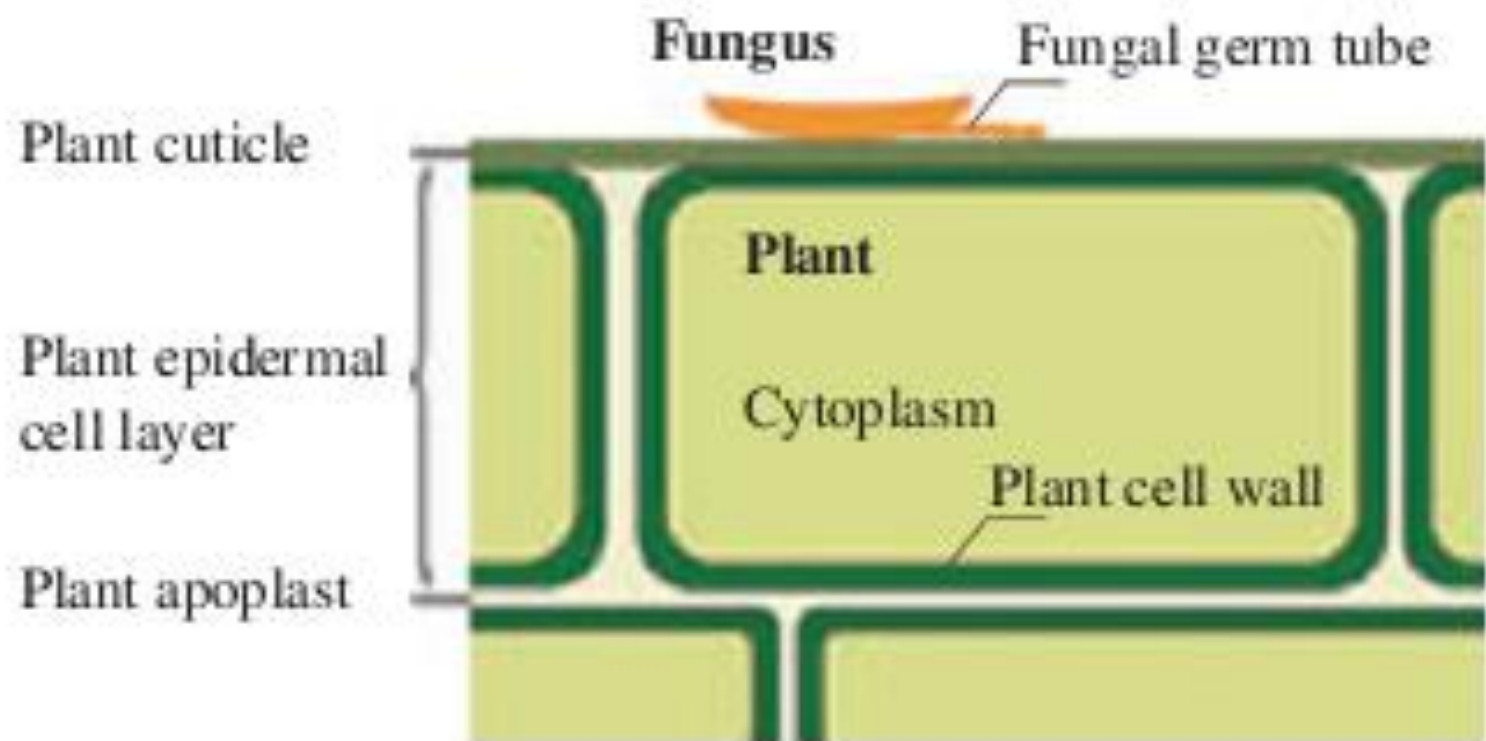
El ciclo de vida de *F. graminearum* (fase sexual, *G. zeae*), agente causal de la Fusariosis de la espiga en trigo.

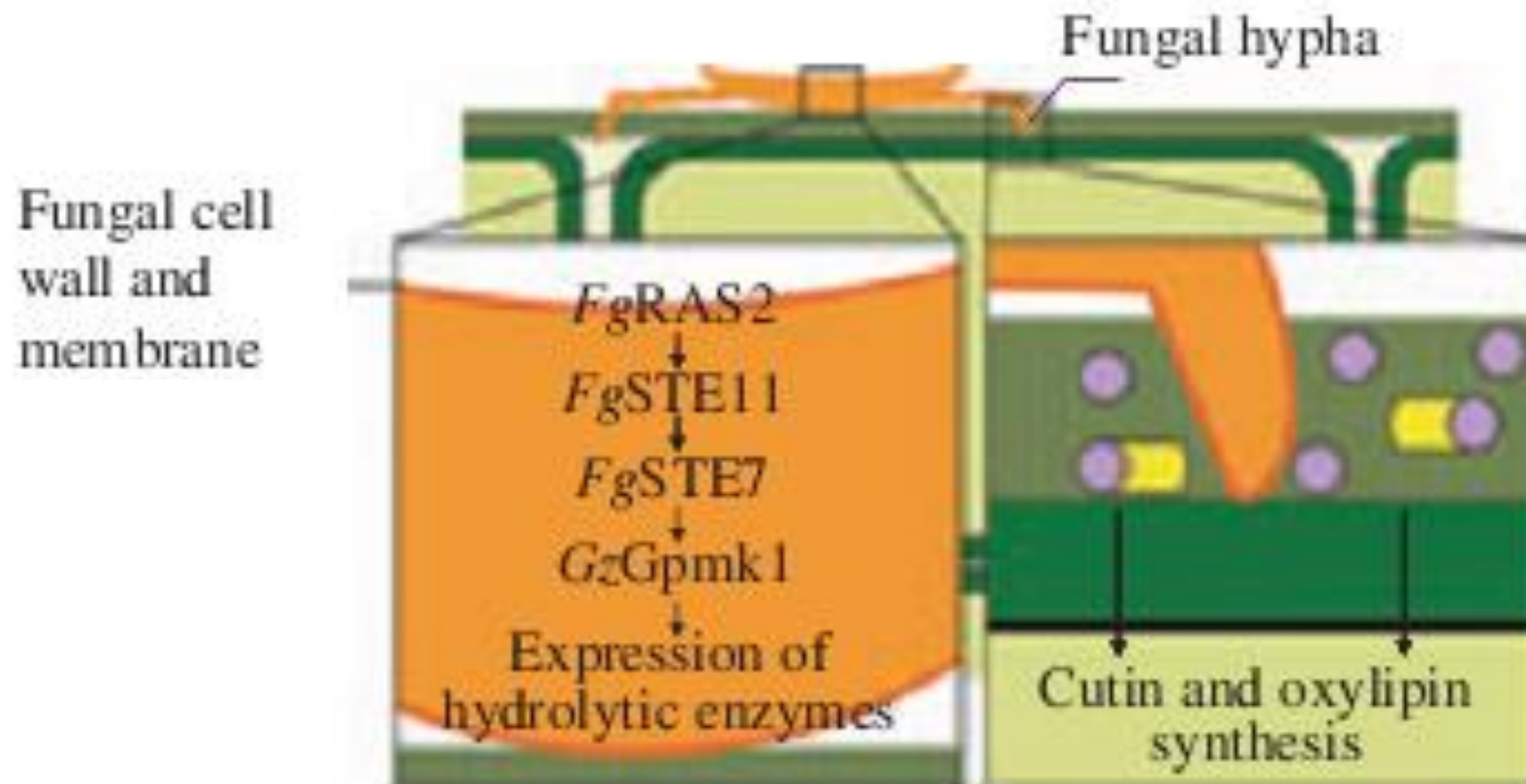


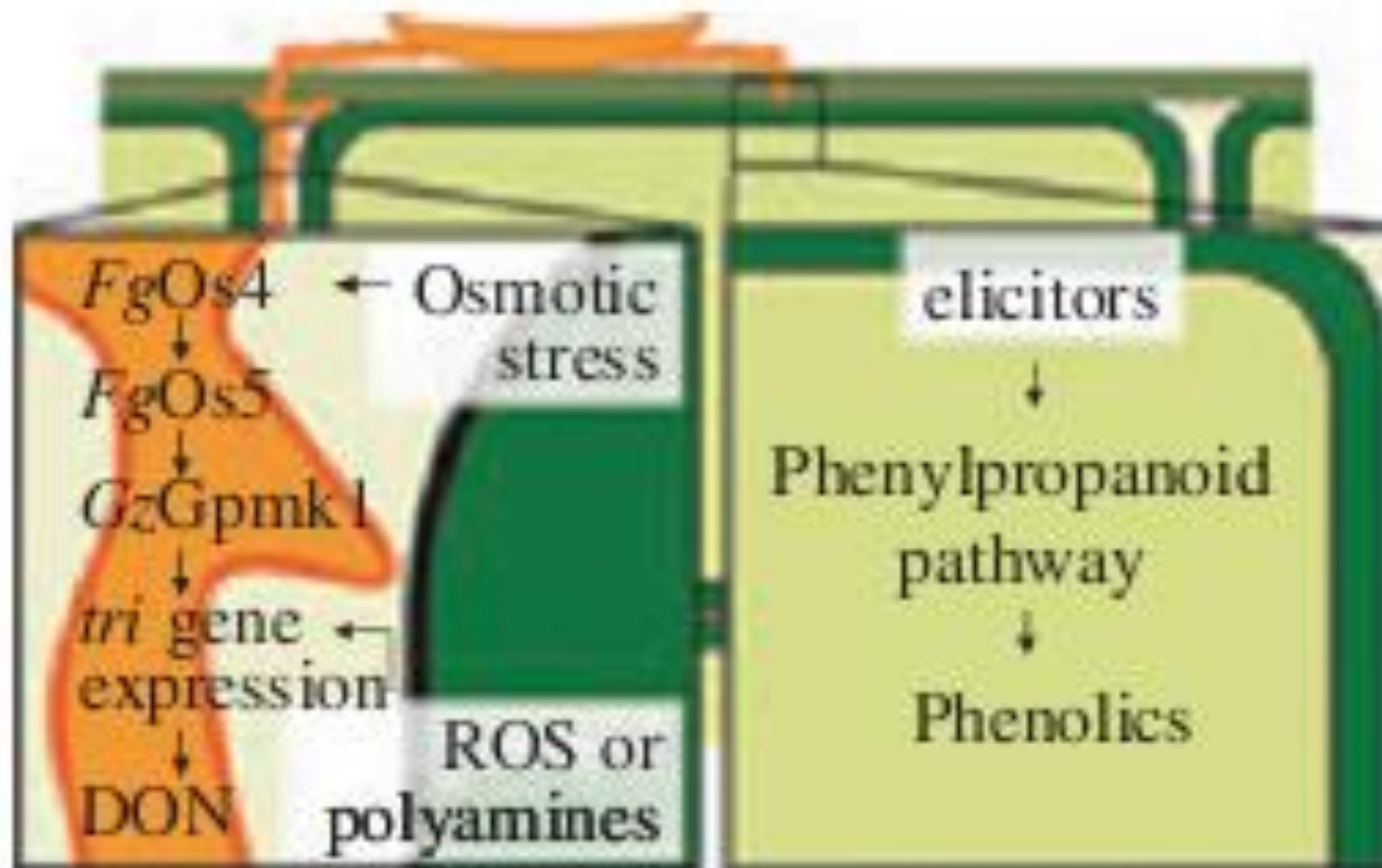
Modelo Biológico en la Interacción

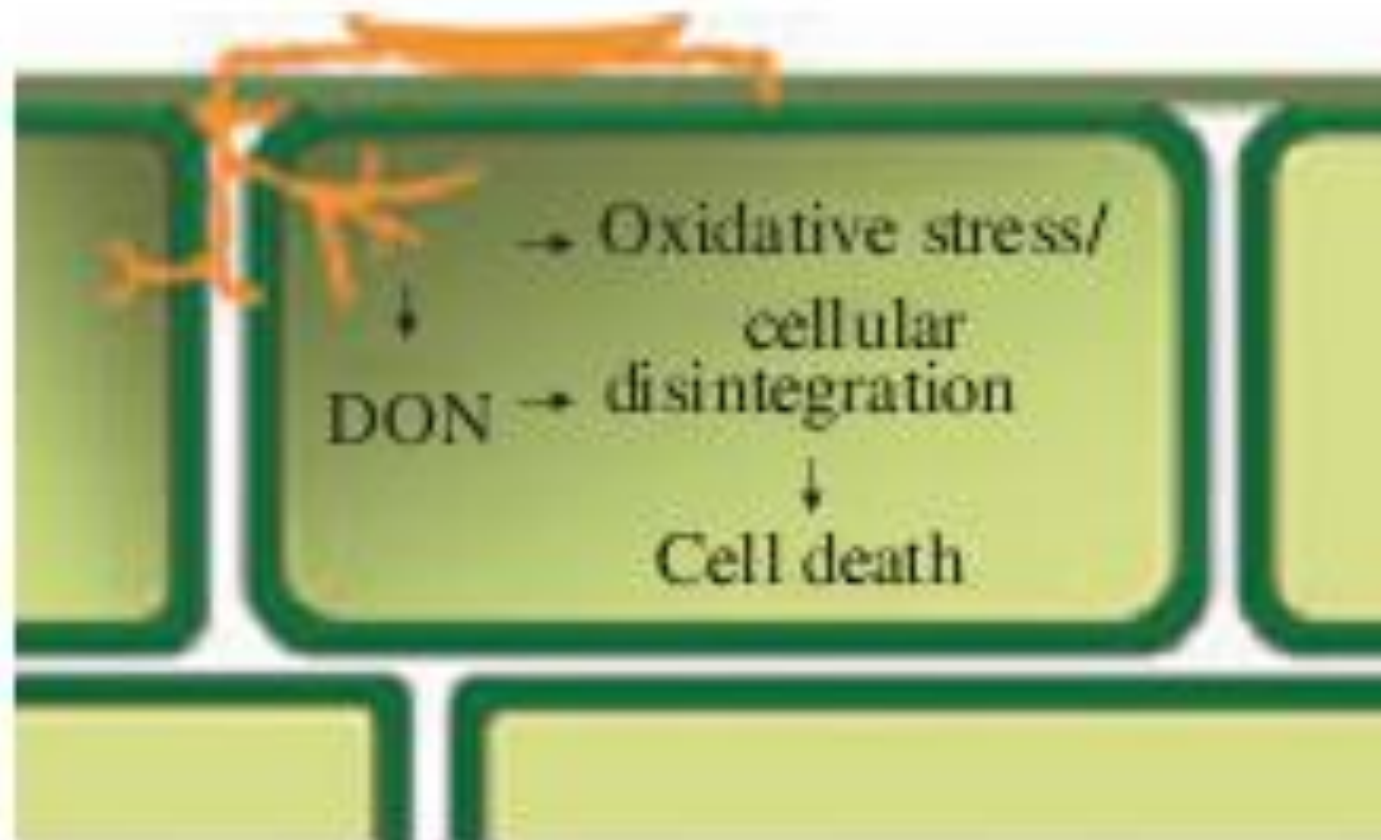


Modelo Biológico en la Interacción temprana *Trigo-Fusarium*



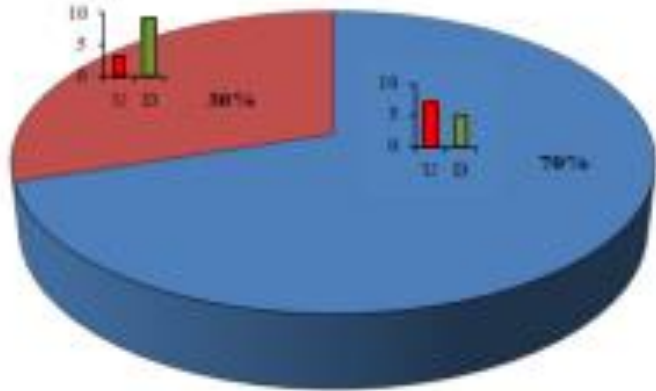




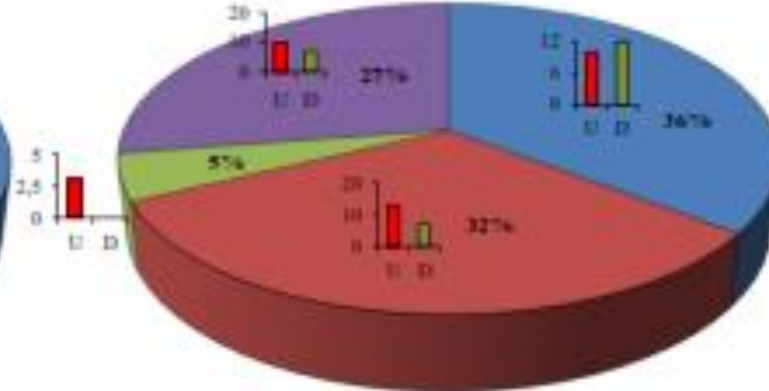




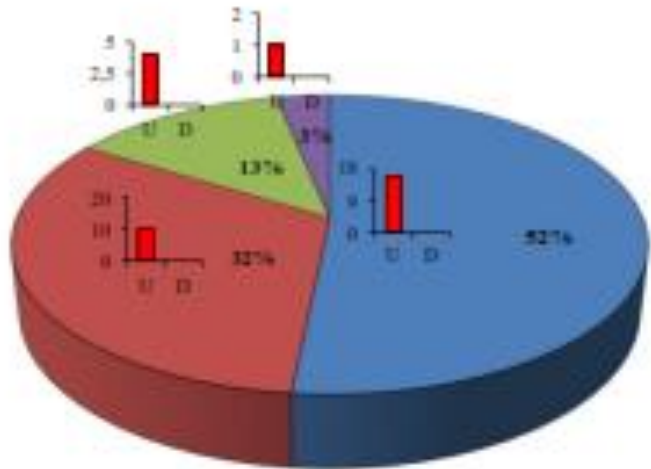
Emmie Dornez et al, 2010



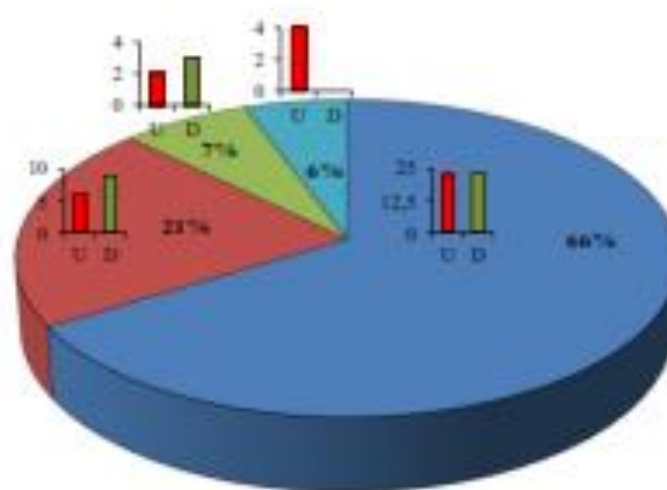
Lina Ding et al, 2011



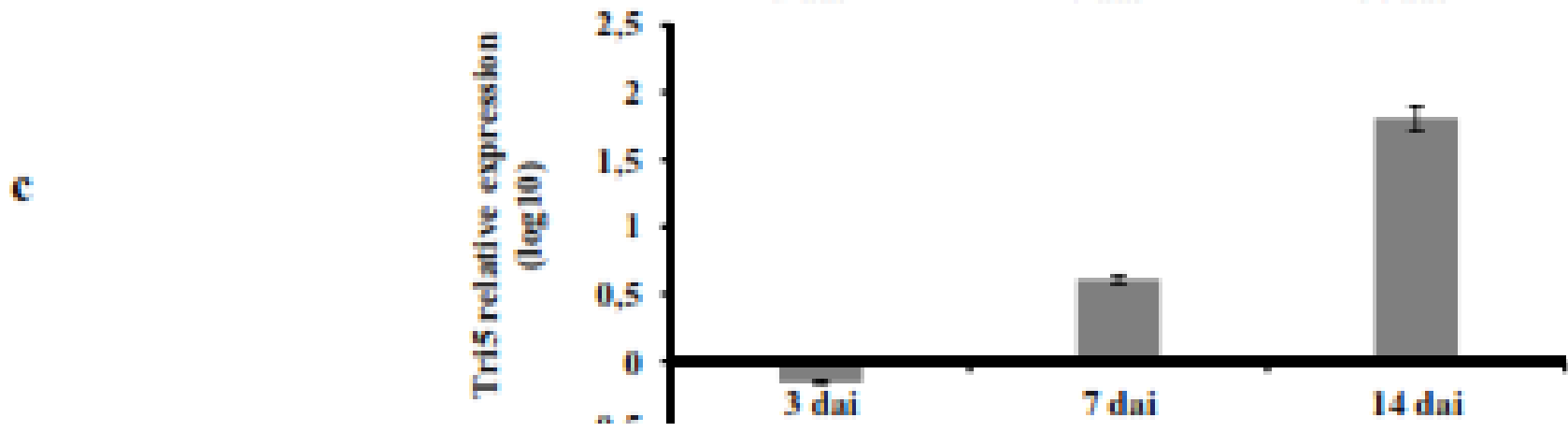
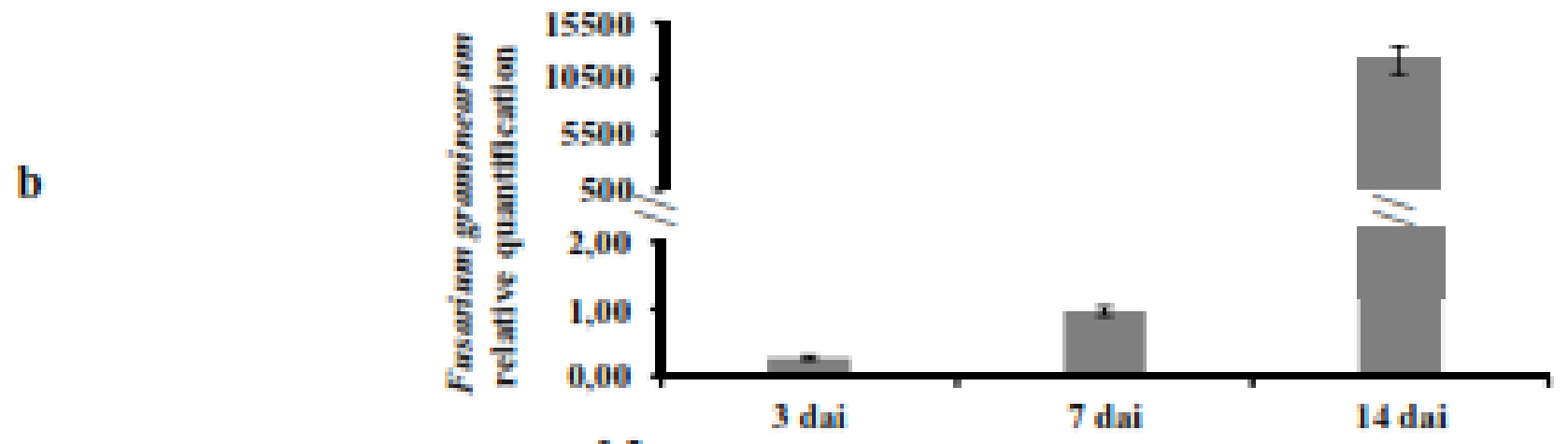
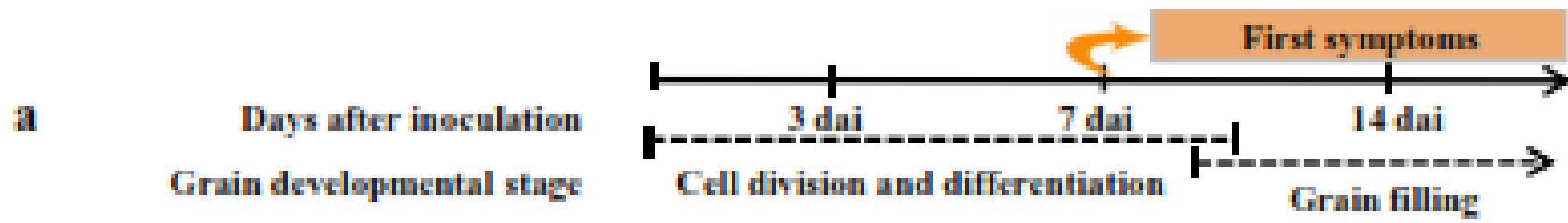
Xianghui Zang et al, 2013



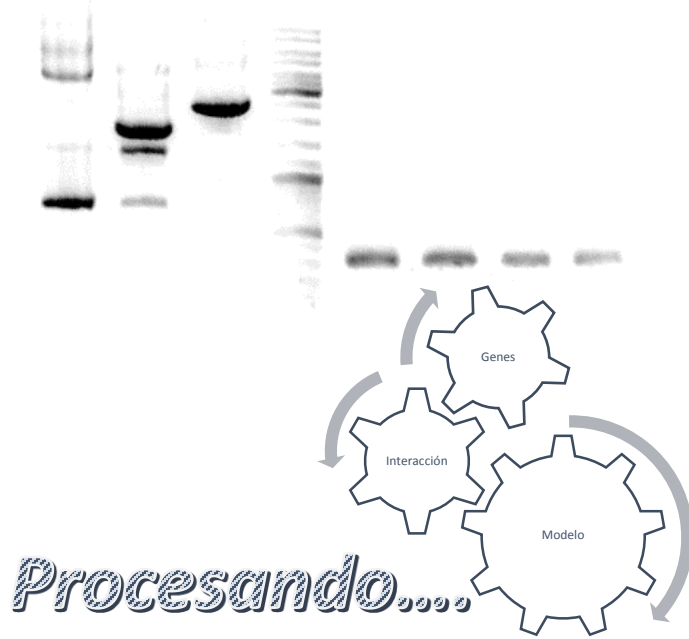
Our study



- Metabolism
- Stress and defense
- DNA and gene regulation
- Cell expansion
- Transport



Avance preliminar del Proyecto



Apoyo y Colaboración de

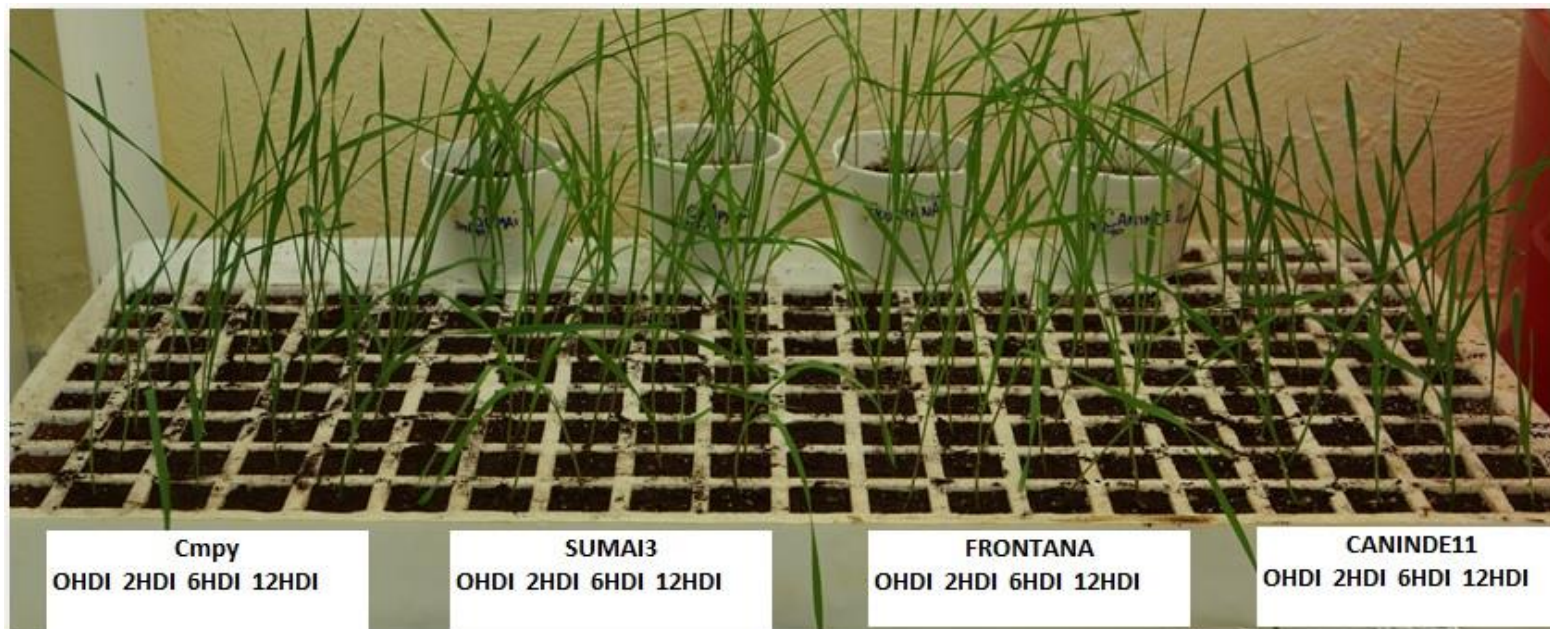


Objetivo

Identificar y caracterizar los genes asociados a la resistencia de la fusariosis de la espiga en materiales de trigo.

Metodología y Resultados

Materiales genéticos de trigo



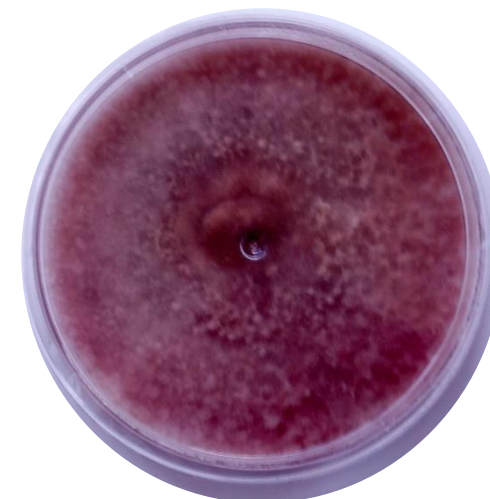
Línea de prueba

Referencial
Resistencia

Referencial
Resistencia

Susceptible

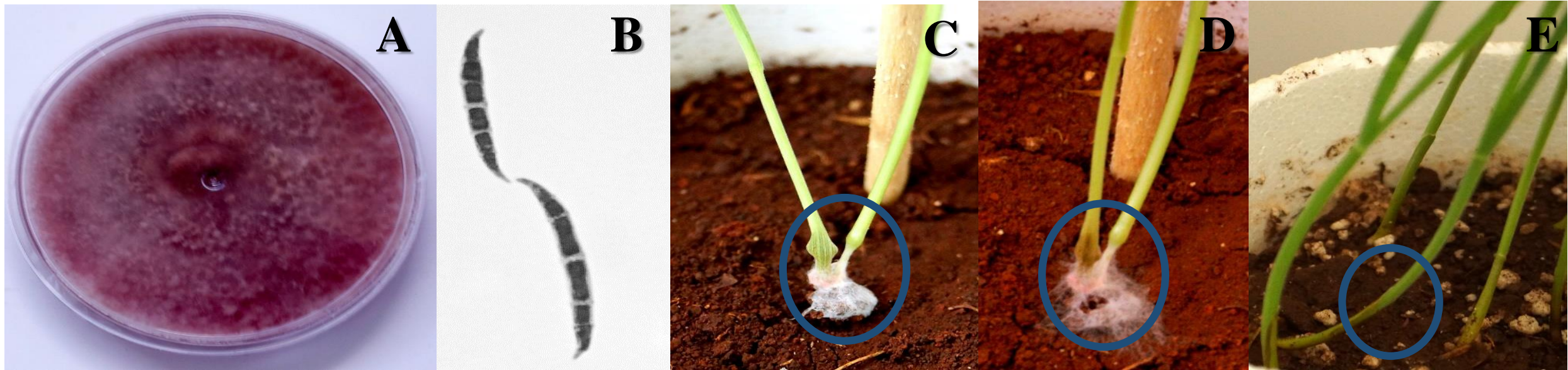
Patógeno



Fusarium graminearum

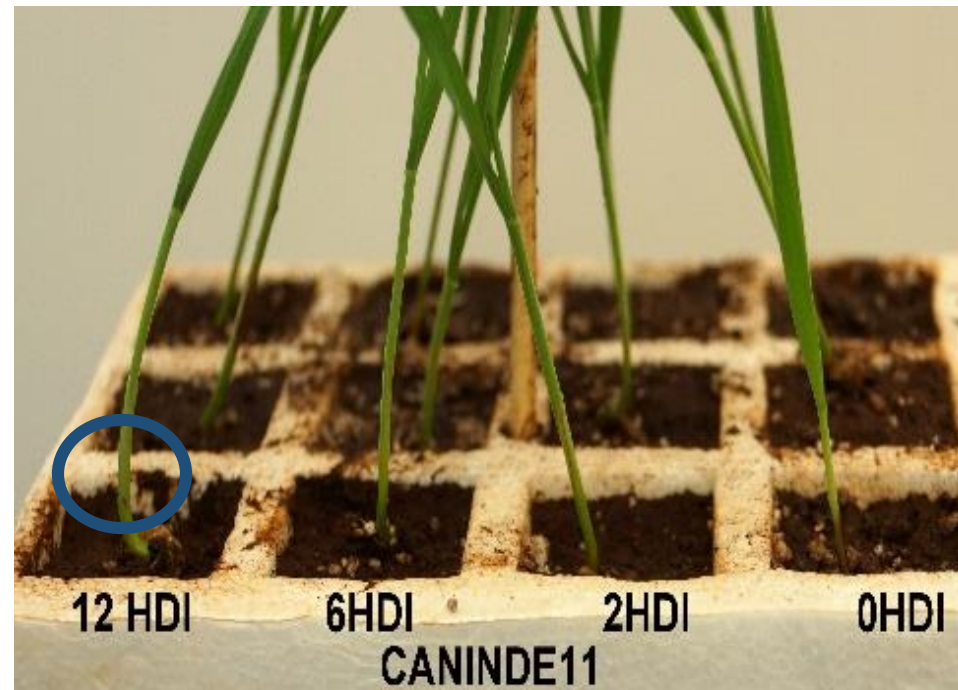
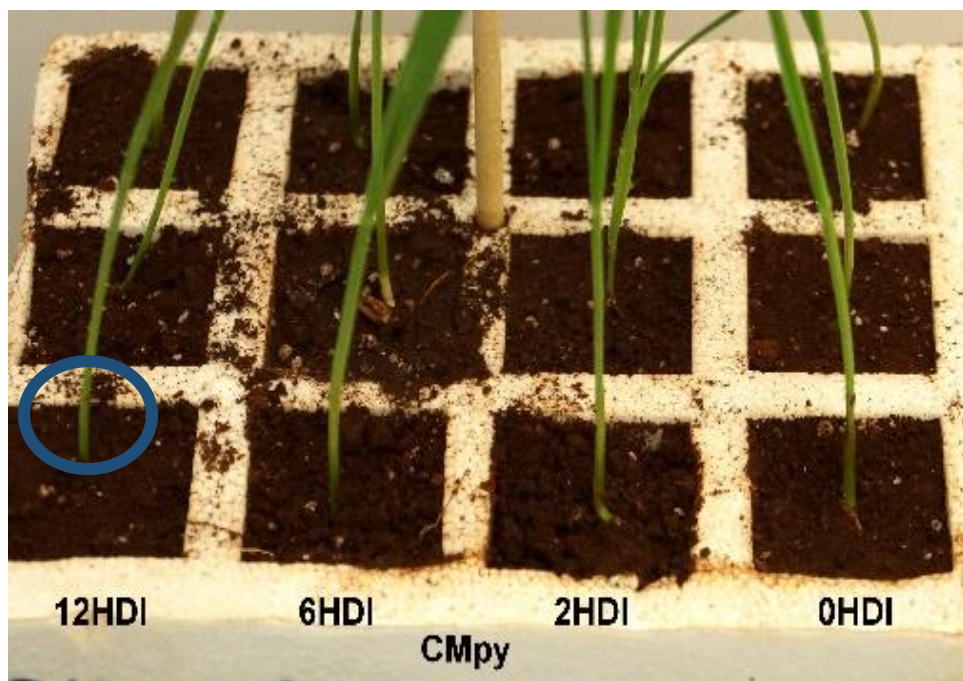
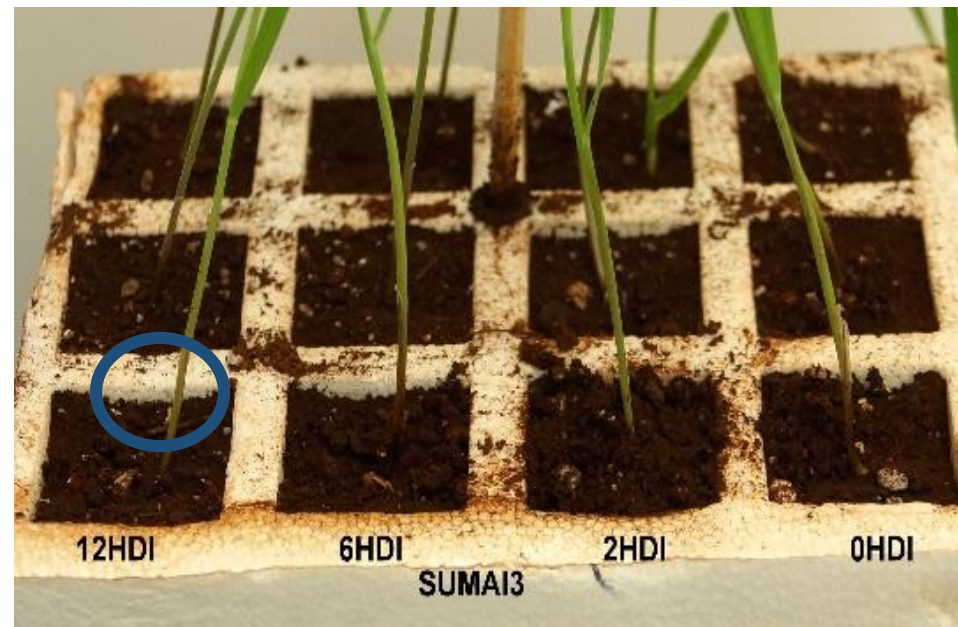
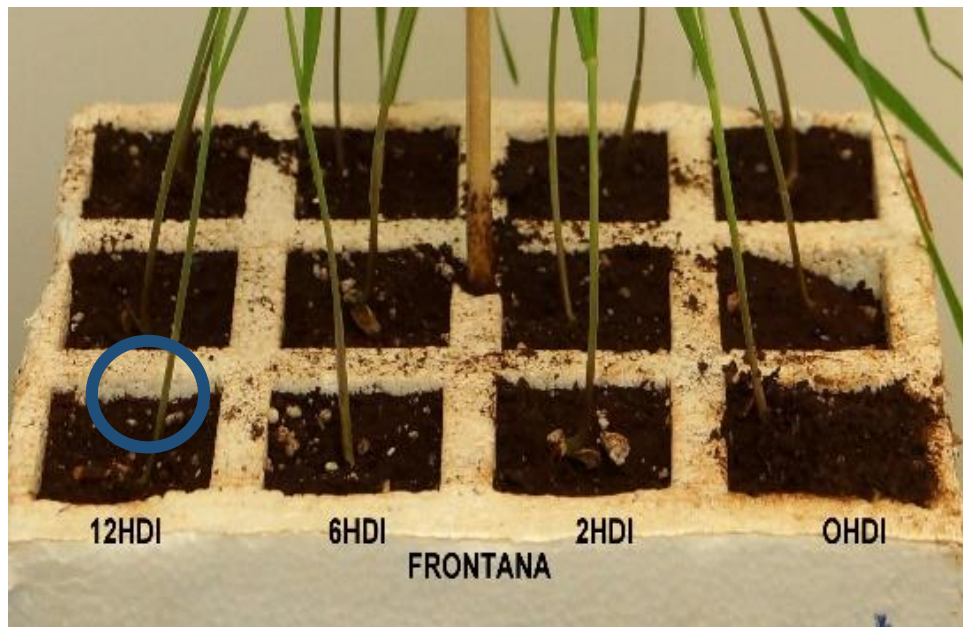
**EVALUACIONES A LAS 0 H D I, 2 H D I, 6 H D I, 12 H D I
H D I (Horas después de Inoculación)**

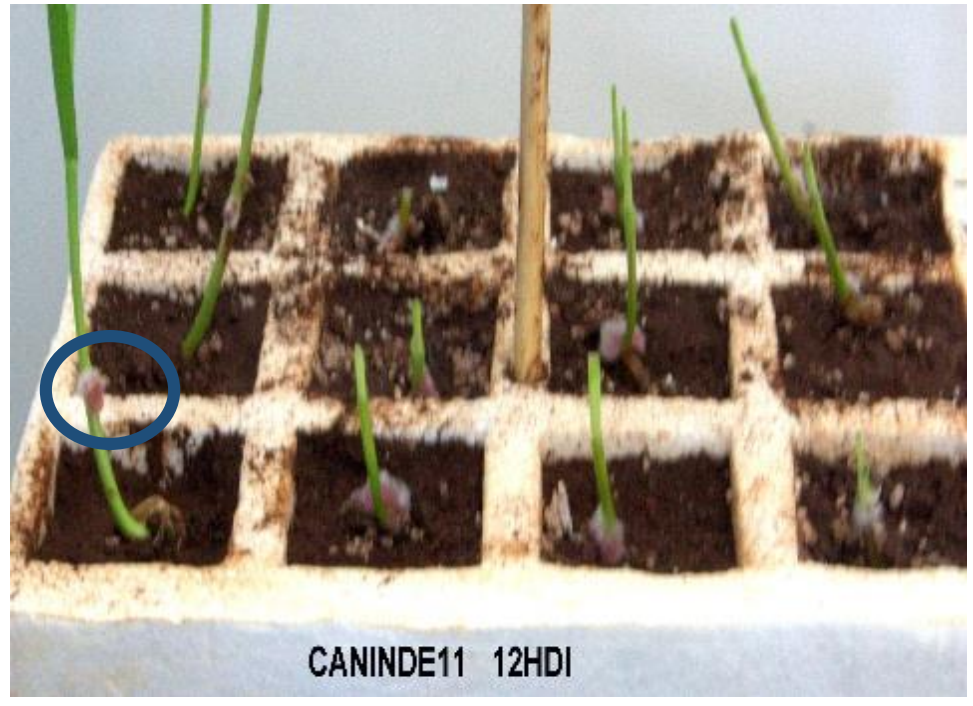
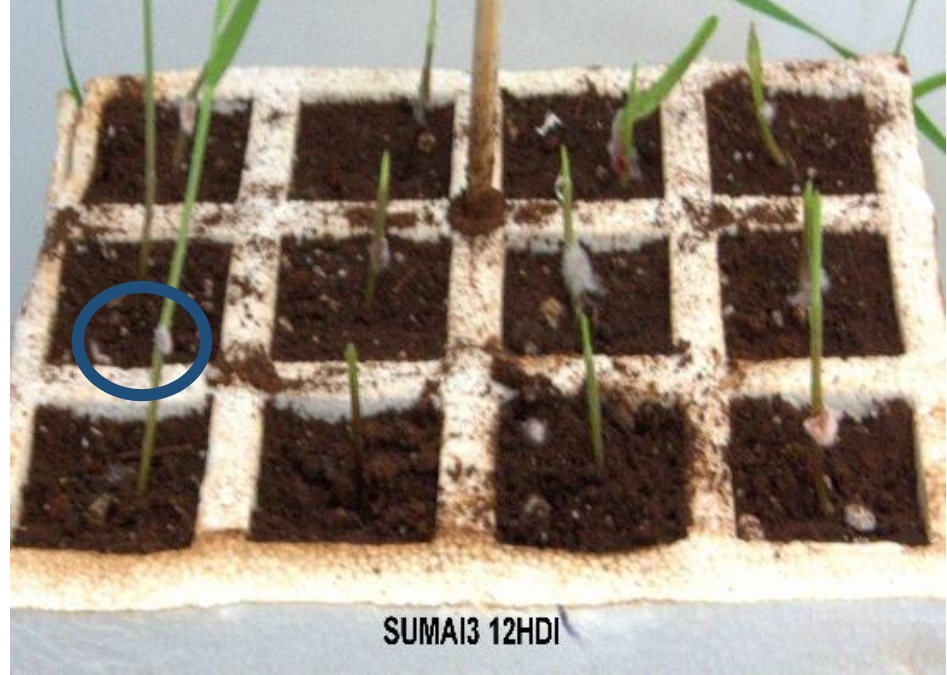
- Inoculación forzada de *F.graminearum* posterior a los 16 días de emergencia, en el tallo las plántulas.
- Condiciones controladas, 26°C , 85-95% HR , oscuridad.



Aspectos morfológicos en la interacción hospedero-patógeno.

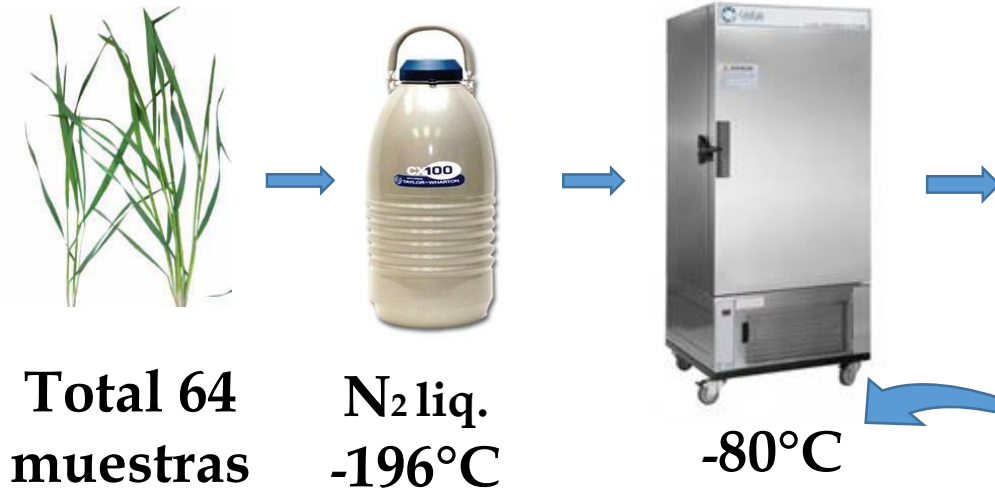
(A) *Fusarium graminearum* en medio de cultivo PDA. (B) Conidias de *Fusarium graminearum*. (C) 48HDI con *F.graminearum* en el material Cmpy. (D) 114 HDI con *F.graminearum* en el material Cmpy. (E) Testigo Cmpy sin inoculación.





Colecta de Muestras

0 hdi, 2 hdi, 6 hdi, 12 hdi



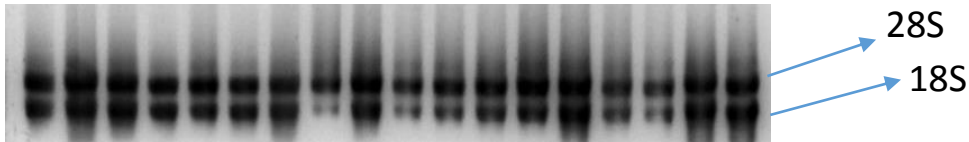
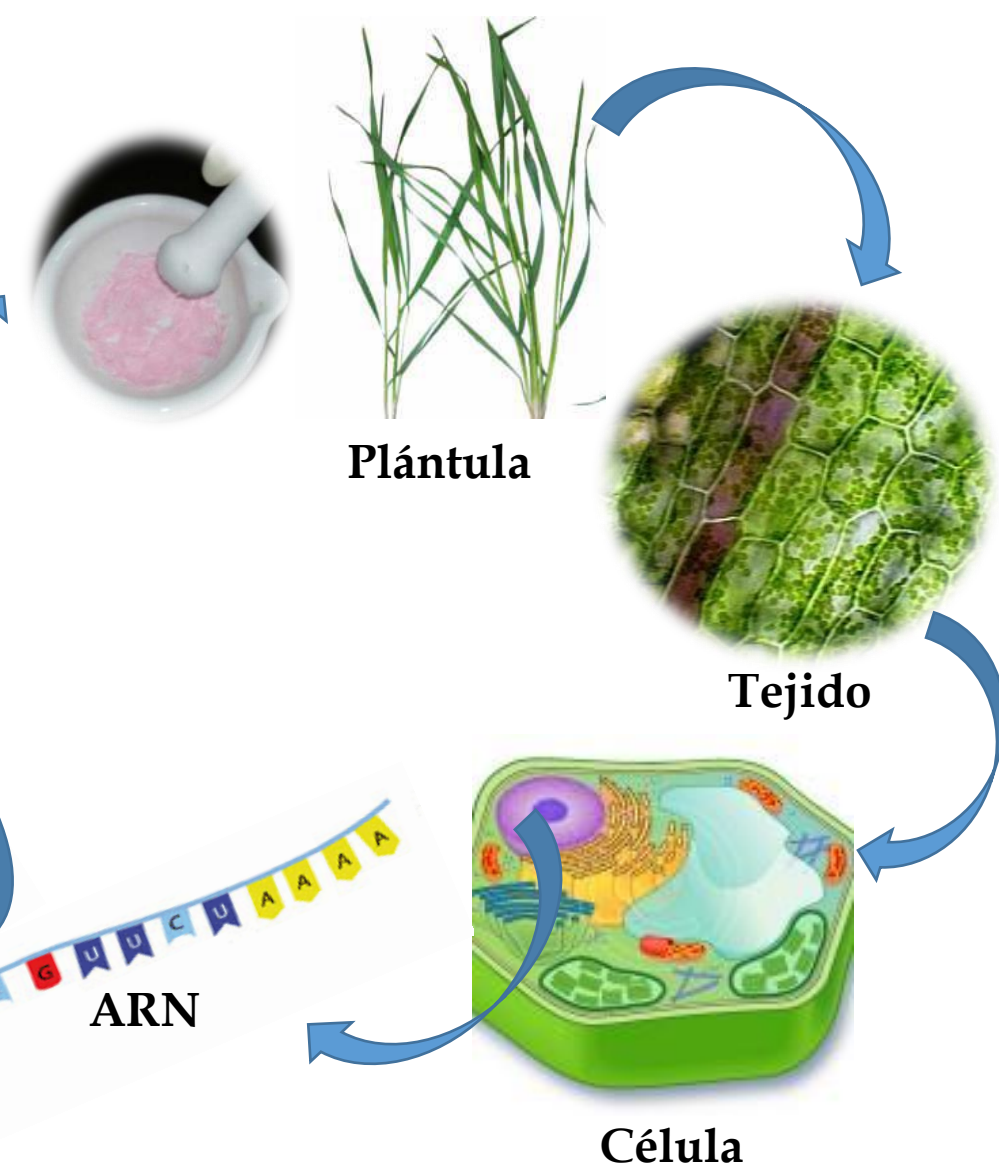
Total 64 muestras

N₂ liq. -196°C

-80°C

Trizol®

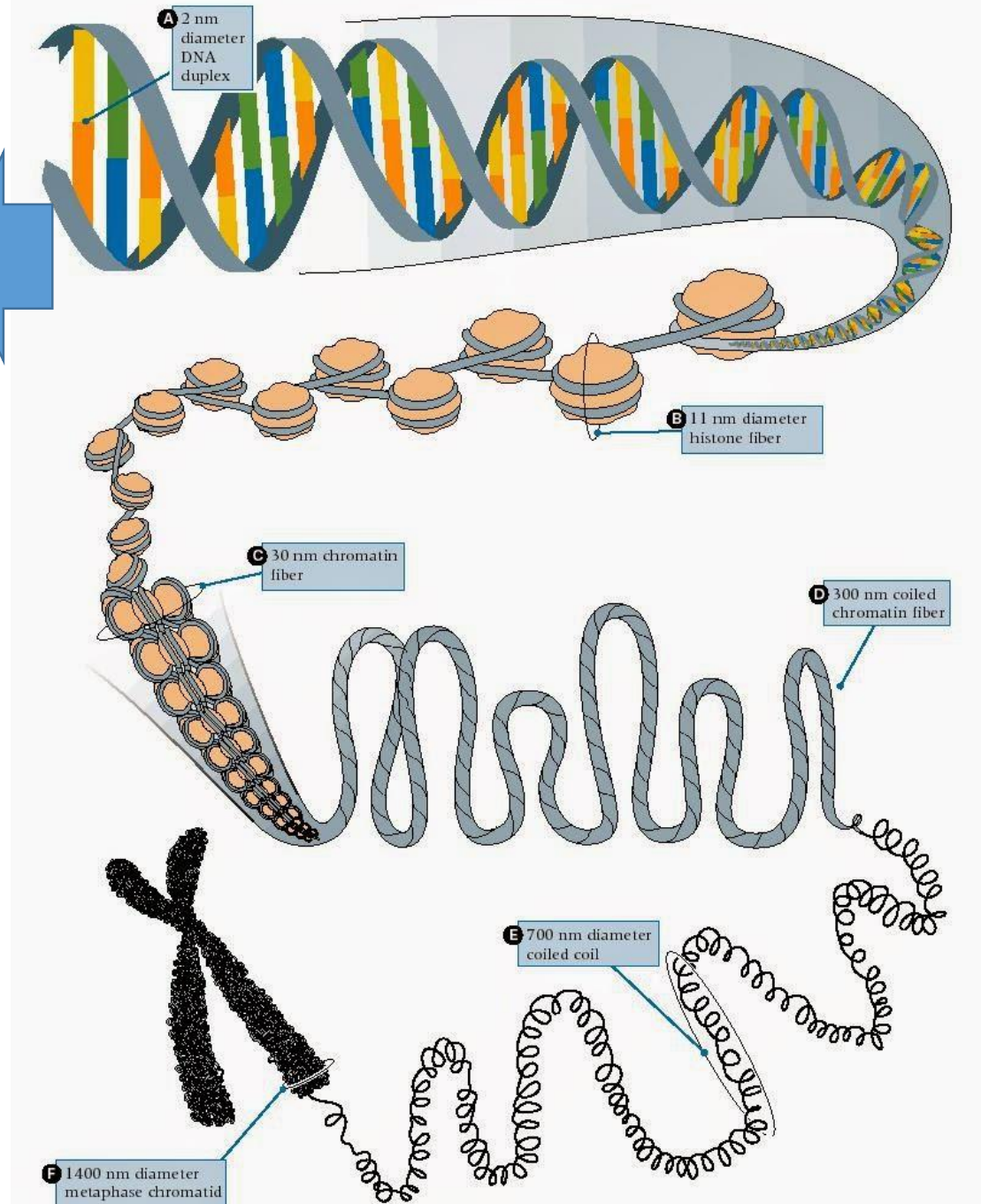
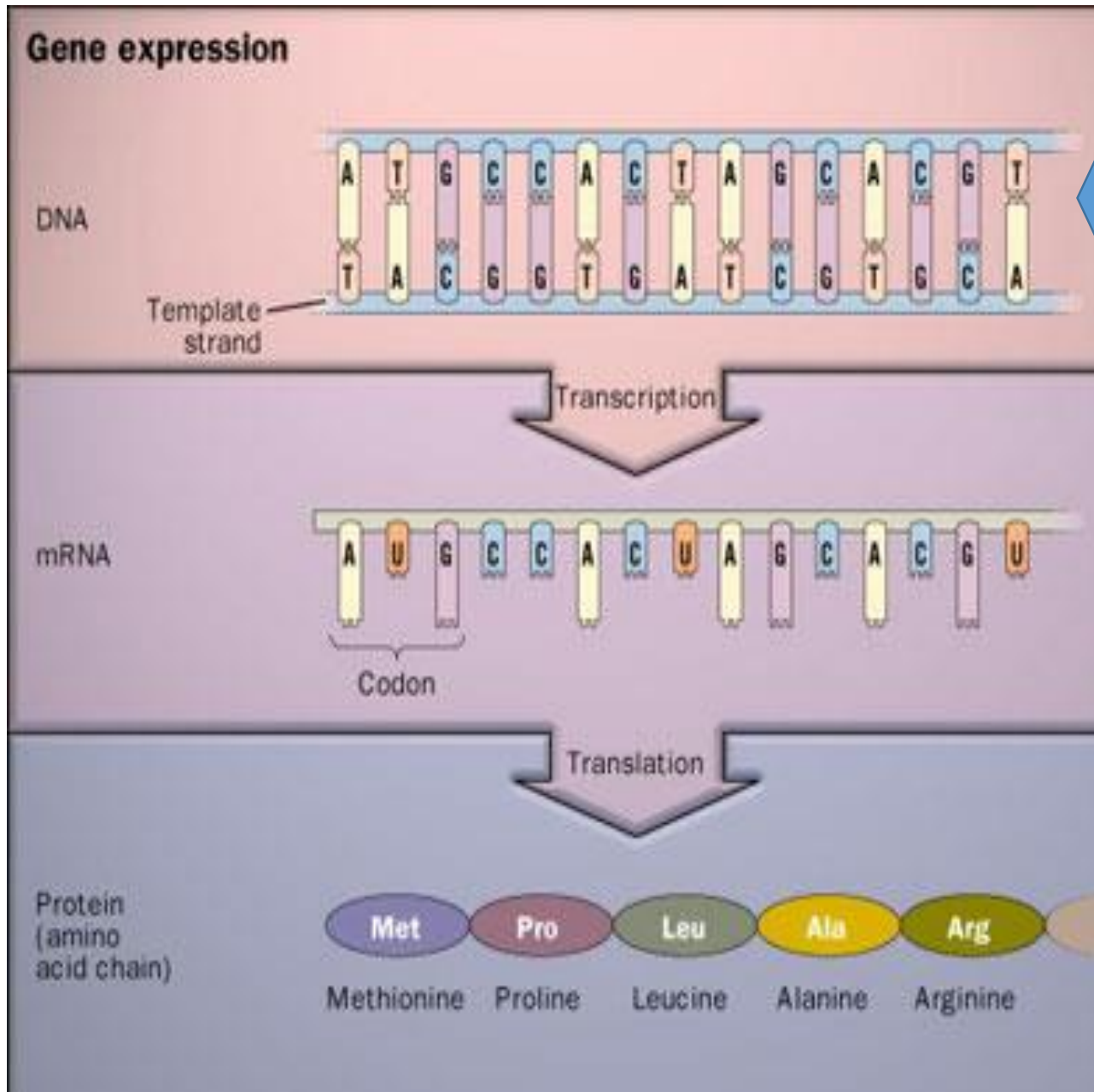
Extracción de ARN, método convencional



Electroforesis Agarosa 1%

Pureza: 1,9 -2,03
Concentración: ~ 2 ug/ul





Análisis Bioinformático

- El primer gen en estudio, es el **NBS-LRR** (tipo de gen de resistencia), expresado diferencialmente en el interactoma Trigo- *F.graminearum* .
- Se han diseñado cebadores directos, mediante la base de datos de secuencias expresadas provenientes de la interacción en estudio.

Cebador

Fw 5'- TTGCTTGTGCCAGGTTGTTA -3'

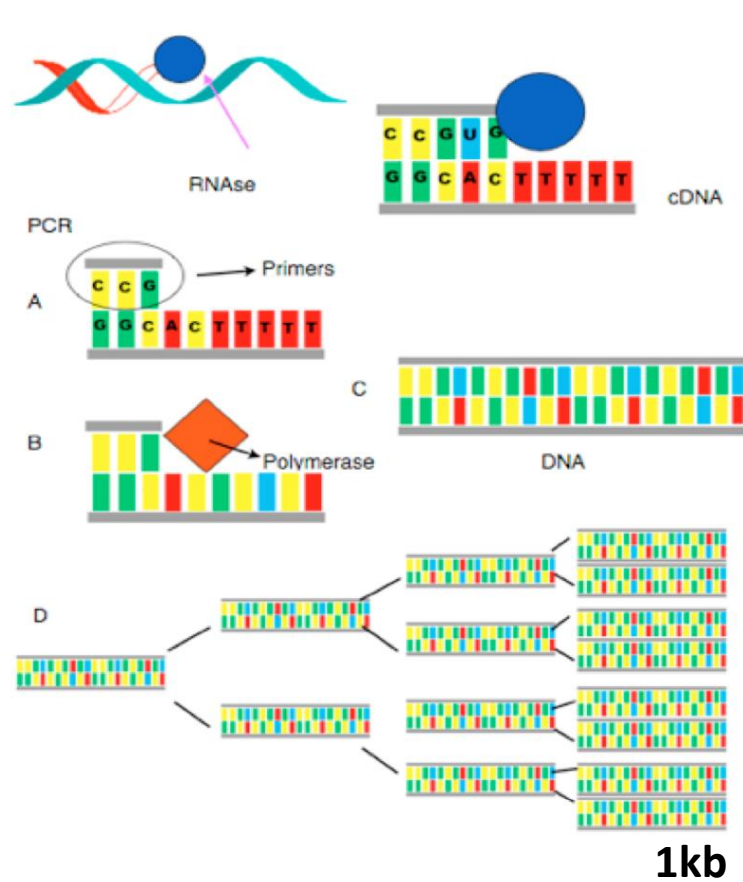
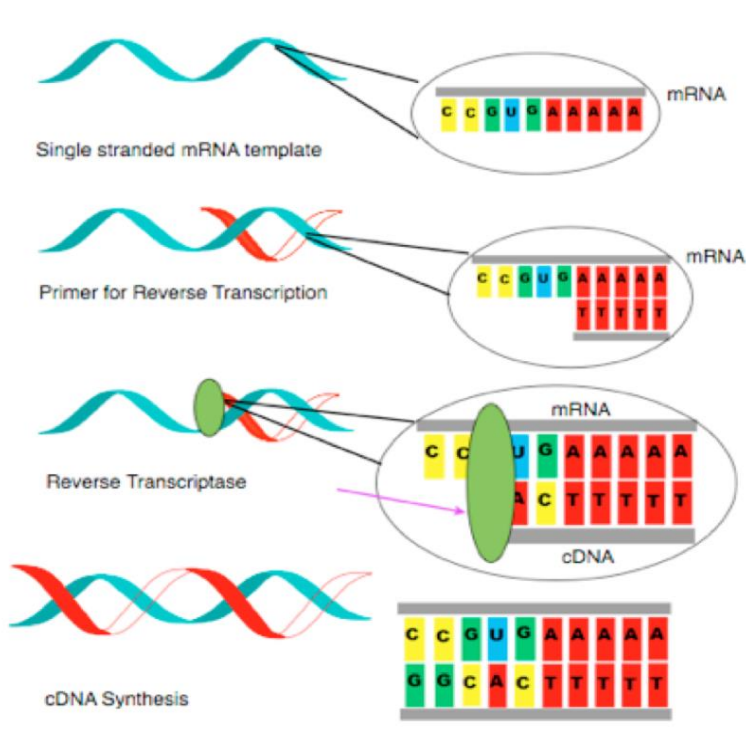
Rv 5'- CCCAAAATTTCGCATCTCAAT-3'

Tm°: 60°C *in silico*

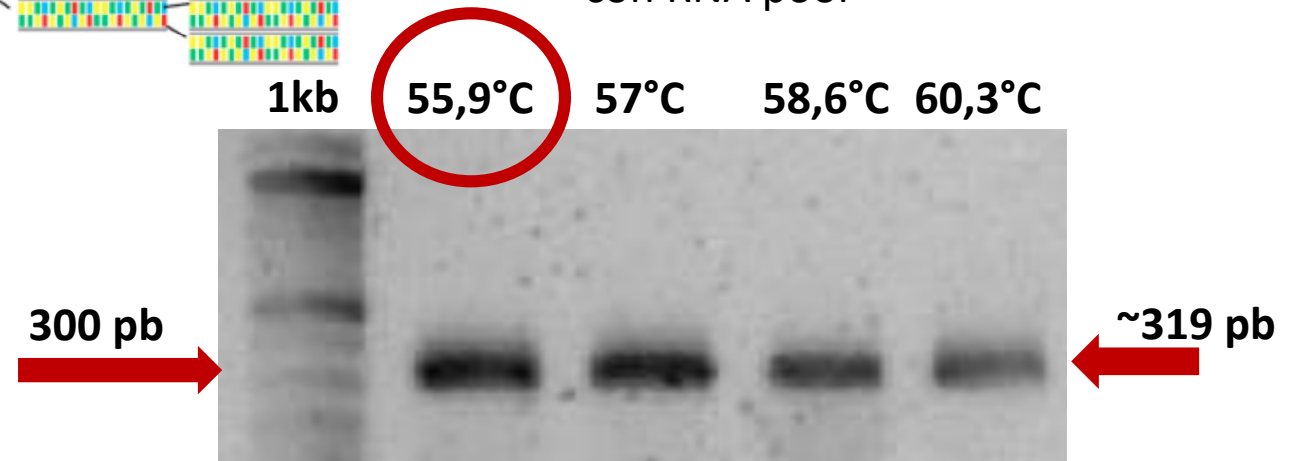


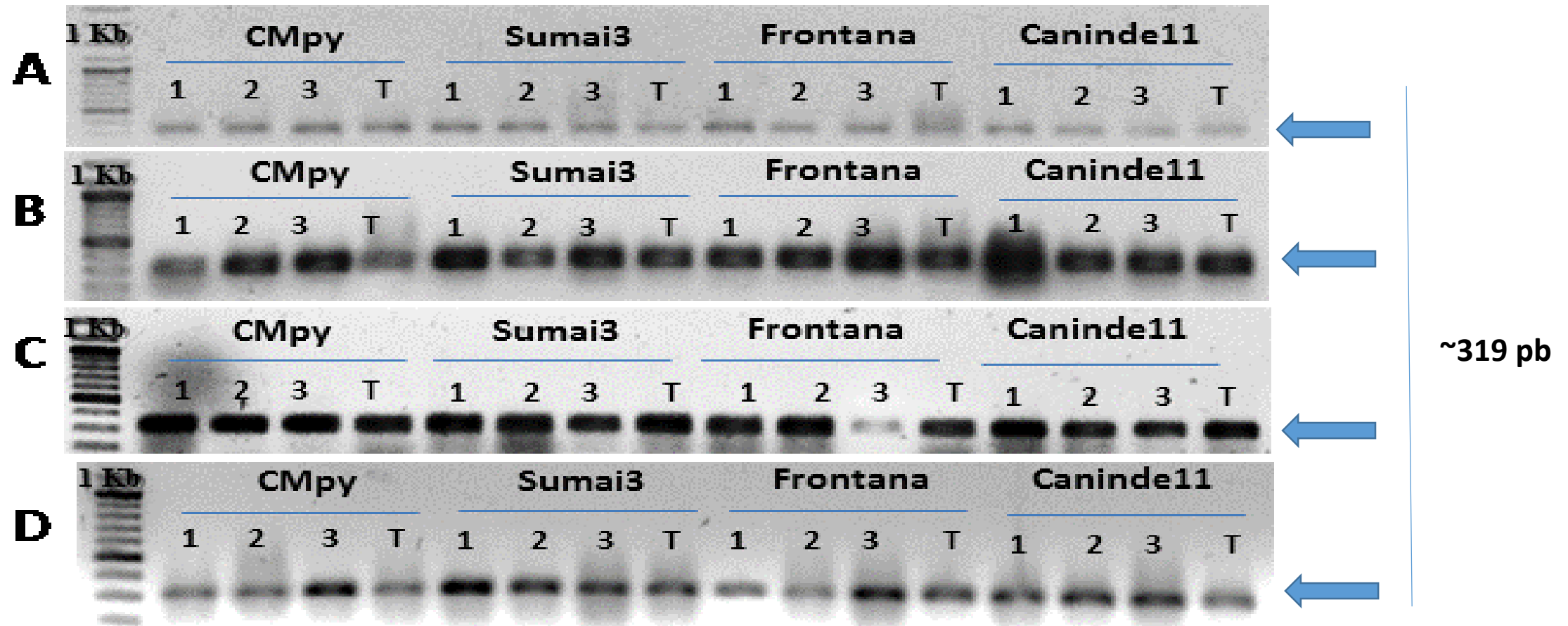
	1171	1180	1190	1200	1210	1220	1230	1240
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
KF725625NBSLRR	GATC	TTGAA	AAG	AAGGCC	CATG	ATTAT	CAGGTTGTTATCTTTATTGAGT	TCCAATTCAGAGGCGCTGAA
NBSLRRcompleteKF7256	GATC	TTGAA	AAG	AAGGCC	CATG	ATTAT	CAGGTTGTTATCTTTATTGAGTATCCAATTCAGAGGCGCTGAA	
cs52NBSLRR	CCC	ATTTT	CCTTA	TTTGCTTG	--	TGCC	CAGGTTGTTATCTTTATTGAGTATCCAATTCAGAGACGCTAA	AA
A16NBSLRR	CCC	ATTTT	CCTTA	TTTGCTTG	--	TGCC	CAGGTTGTTATCTTTATTGAGTATCCAATTCAGAGACGCTAA	AA
P15NBSLRR	CCC	ATTTT	CCTTA	TTTGCTTG	--	TGCC	CAGGTTGTTATCTTTATTGAGTATCCAATTCAGAGACGCTAA	AA
P16NBSLRR	CCC	ATTTT	CCTTA	TTTGCTTG	--	TGCC	CAGGTTGTTATCTTTATTGAGTATCCAATTCAGAGACGCTAA	AA
A11NBSLRR	CCC	ATTTT	CCTTA	TTTGCTTG	--	TGCC	CAGGTTGTTATCTTTATTGAGTATCCAATTCAGAGACGCTAA	AA
Consensus	ccca	Tttt	cctt	AA	ttt	gCtTG	. . TgcCAGGTTGTTATCTTTATTGAGTATCCAATTCAGAGaCGCTaAA	

Amplificación por Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

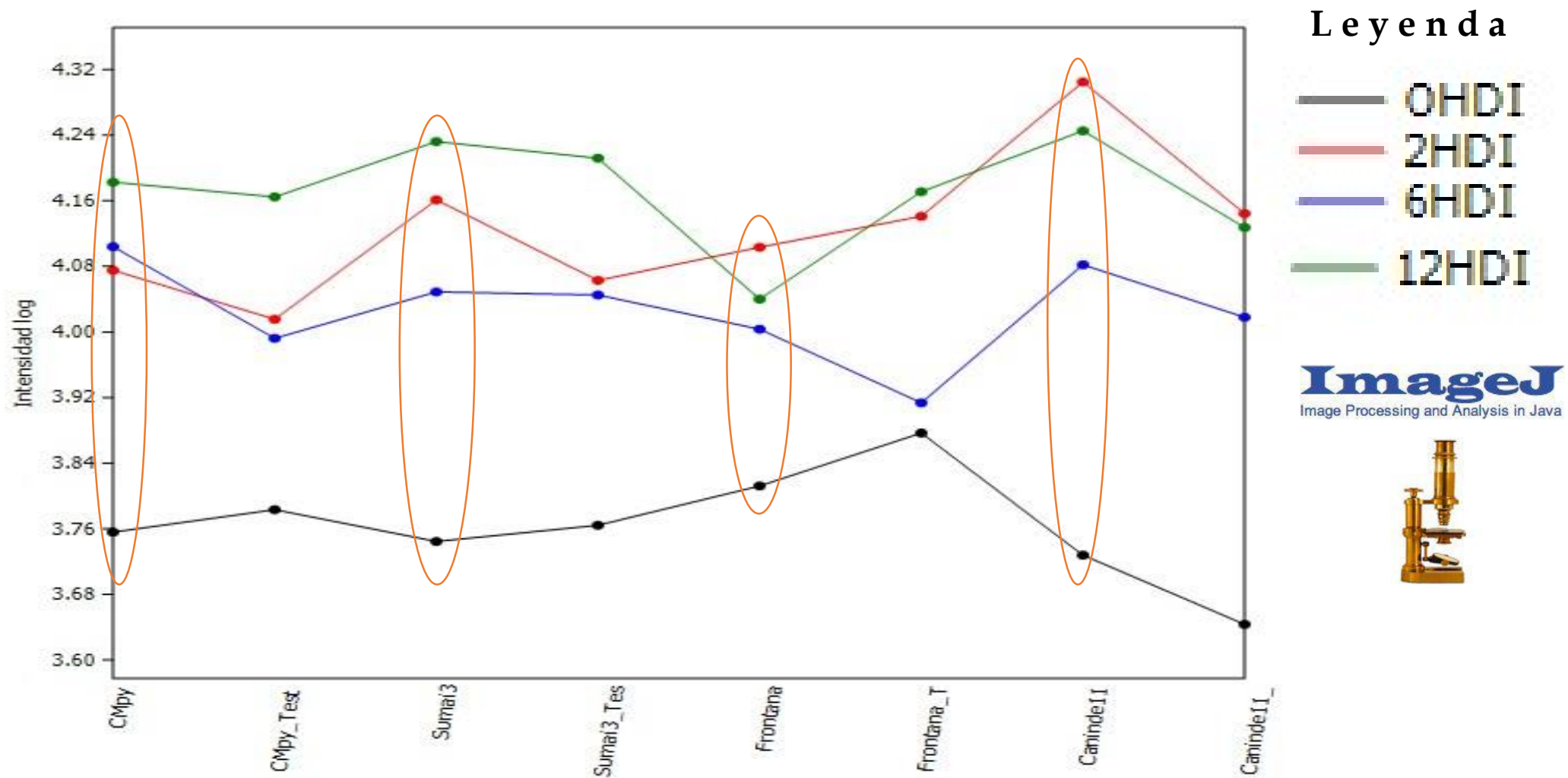


- Gradiente de T_m° del cebador con RNA pool





Amplificación por RT-PCR del gen tipo NBS-LRR de *Triticum aestivum sub. aestivum*.
(A) Muestras a las 0HDI. **(B)** Muestras a las 2HDI. **(C)** Muestras a las 6HDI. **(D)** Muestras a las 12HDI. 1, 2 y 3: réplicas biológicas; T: Plantas sin inocular; 1kb: Marcador de peso molecular de 1 kb.



Intensidad relativa de los productos de amplificación de RT-PCR. En los materiales de trigo Cmpy y testigo, Sumai3 y testigo, Frontana y testigo, Caninde11 y testigo. A las diferentes horas de evaluación 0HDI, 2HDI, 6HDI y 12HDI.

Discusión y Conclusiones

- En el modelo experimental de interacción Trigo-*Fusarium graminearum*, la infección es dada, pero no se observan diferencias entre los materiales, se justifica que es debido de la infección forzada.
- El gen de tipo NBS-LRR se encuentra transcripcionalmente activo, sin embargo existen diferencias de intensidad en la expresión en los diferentes momentos de evaluación.
- Para validar el nivel de expresión entre los materiales y las diferentes horas de evaluación es necesario la cuantificación de la expresión relativa y el gen referencial o constitutivo que determine el nivel correspondientemente.

**GRACIAS POR SU
ATENCIÓN...!**

