

# EVALUACIÓN FUNCIONAL DE GENES ASOCIADOS A LA RESISTENCIA DE HONGOS EN FRUTOS DE *Theobroma cacao leiocarpum* FRENTE A *Moniliophthora roreri*

# 6

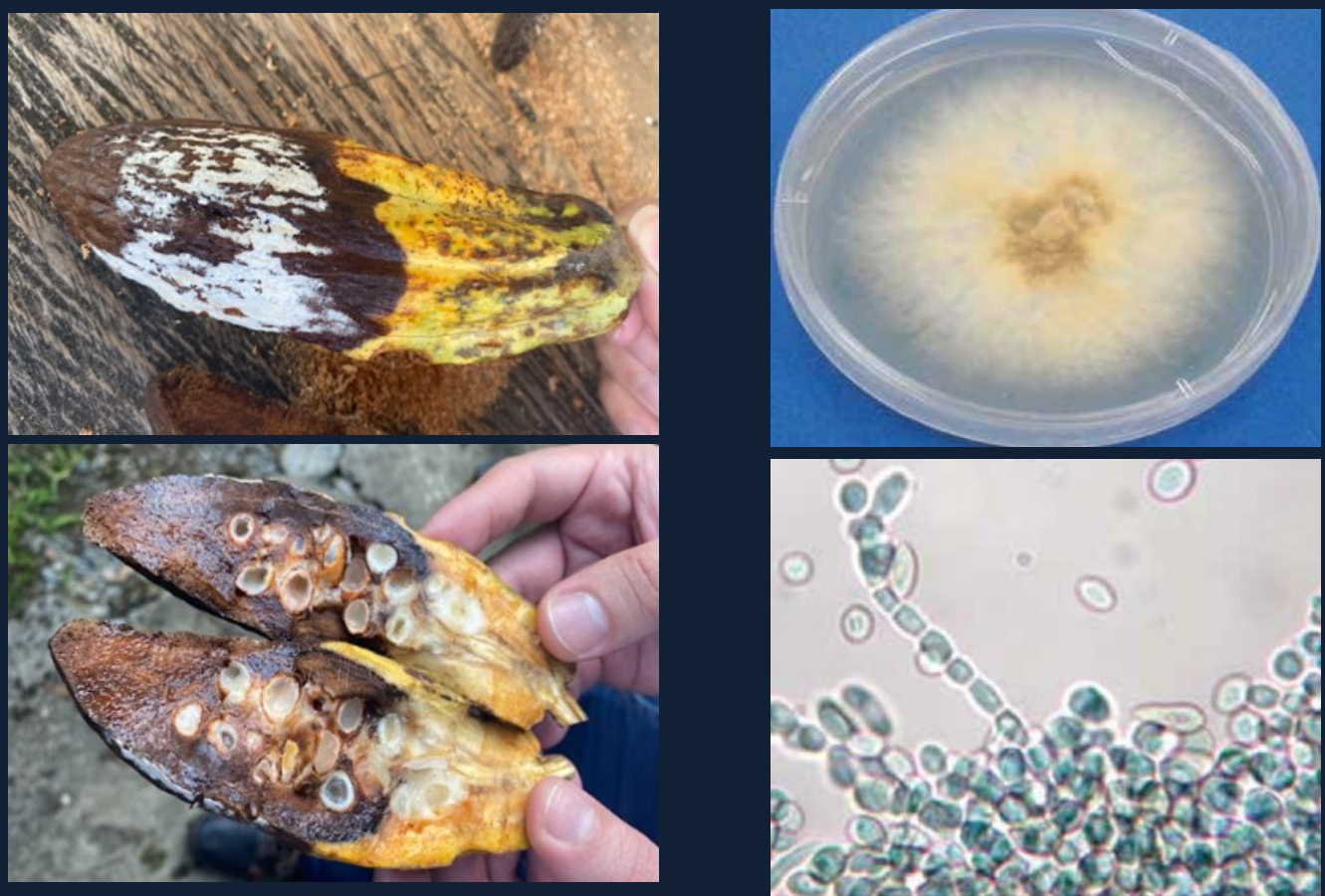
VIGILADO Por el Ministerio de Educación Nacional

Julián Moreno<sup>1</sup>, Sofía Quintero<sup>1</sup>, Sara Rodríguez<sup>1</sup>, María José Valencia<sup>1</sup>, Miguel Pérez<sup>2</sup>, Sara Ramírez<sup>2</sup>, Javier Torres<sup>2</sup>.

1. Estudiante de Biotecnología. Facultad de Ciencias de la Salud, I. U. Colegio Mayor de Antioquia. 2. Docente Facultad de Ciencias de la Salud. I. U. Colegio Mayor de Antioquia. **Autor de correspondencia:** javier.torres@colmayor.edu.co

## INTRODUCCIÓN

La Moniliasis causada por *Moniliophthora roreri* es considerada la principal enfermedad que afecta los cultivos de cacao en Colombia y otros países de América. Los daños ocasionados por esta enfermedad en Colombia alcanzan desde el 40 % hasta el 100% de la producción anual del país.



Nuevas alternativas contra la moniliasis, como las agroinfiltraciones, son altamente atractivas ya que por este método se reduce el tiempo de investigación reduciendo así los costos de producción a largo plazo, se realiza en corto tiempo y es una gran ventaja para posibles modificaciones genéticas.

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar genes de diferentes especies vegetales a través de agroinfiltraciones para determinar las posibles mejoras genéticas que otorguen resistencia a *Theobroma cacao leiocarpum* frente a *Moniliophthora roreri*, mediadas por *Agrobacterium tumefaciens*.

## OBJETIVO ESPECÍFICO

- Obtener cepas de *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 transformadas con el vector pCAMBIA 1302.
- Realizar agroinfiltraciones mediadas por *Agrobacterium tumefaciens* para evaluar los genes que puedan otorgar cierta resistencia.
- Evaluar la sensibilidad de las plantas de *Theobroma cacao leiocarpum* transformadas con modificaciones transitorias mediante *Agrobacterium tumefaciens* con los genes de interés.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, J. C., Martínez, S., & Coy, J. (2014). Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia. *Acta Agronómica*, 63(4), 388-399.
- Du, J., Rietman, H., & Vleeshouwers, V. G. A. (2018). Agroinfiltration and PVX agroinfection in potato and *Nicotiana benthamiana*. *Jove.com*.
- Shi, J., Wan, H., Zai, W., Xiong, Z., & Wu, W. (2020). Phylogenetic relationship of plant MLO genes and transcriptional response of MLO genes to *Ralstonia solanacearum* in tomato. *Genes*, 11(5), 487.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### CONSTRUCCIÓN DEL VECTOR Y PREPARACIÓN



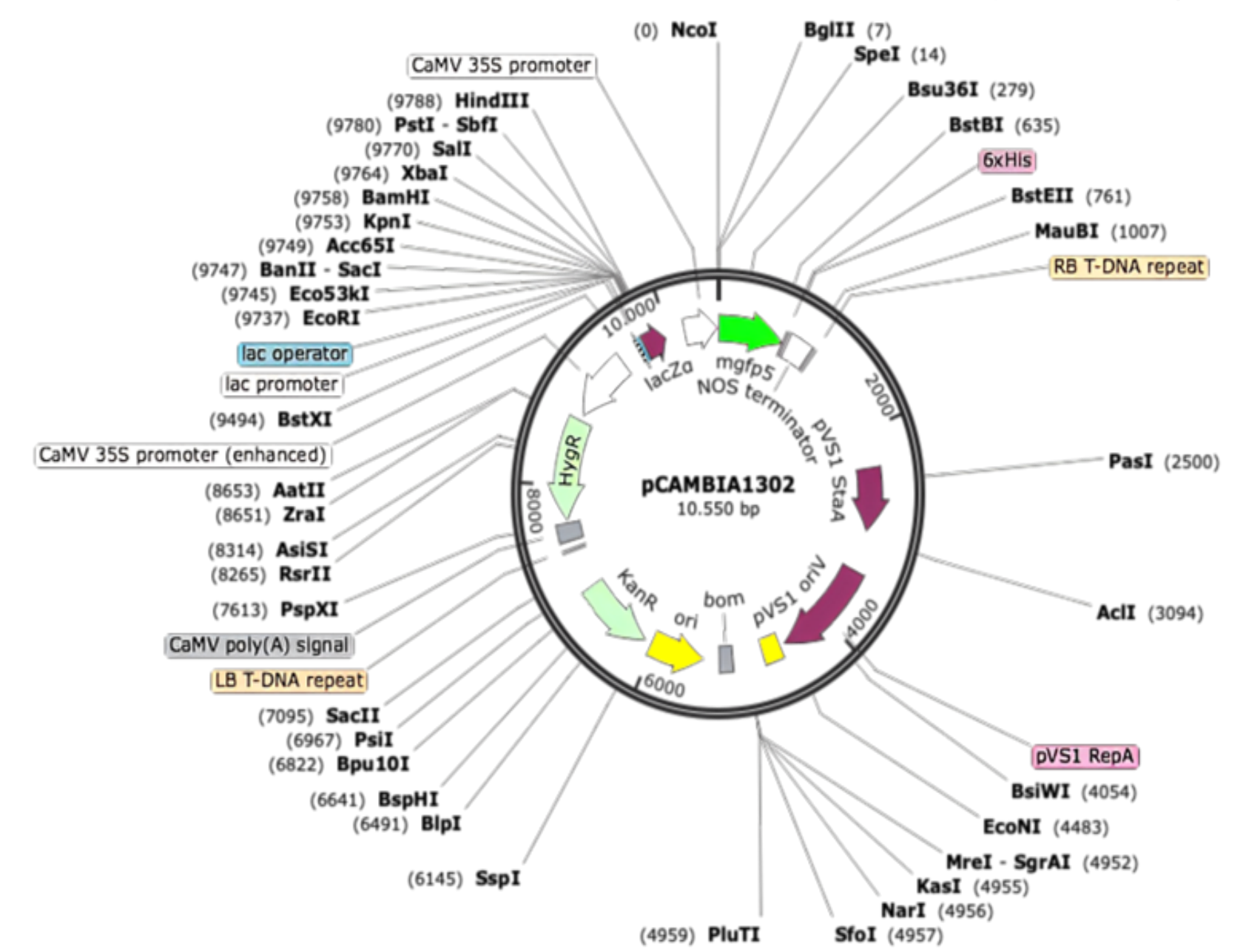
#### Selección de genes

Genes "R" reportados como genes que otorgan resistencia a ciertas plantas frente a diferentes patógenos.



#### Obtención de las cepas LBA4404

Medio LB líquido suplementado con 50 mgL<sup>-1</sup> de higromicina la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404 es transformada con el vector pCAMBIA 1302 mediante electroporación.



#### Vector pCAMBIA1302

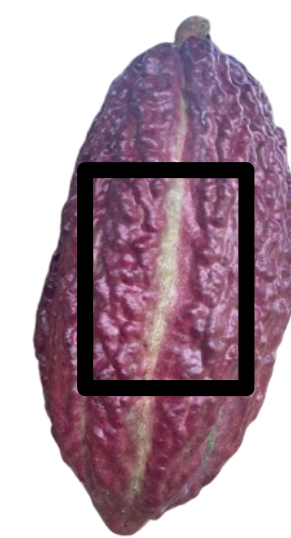
Se obtuvo del repositorio global de plásmidos "Addgene" y se ensambló con los genes de interés mediante "SnapGene".

### AGROINFILTRACIÓN DE *Theobroma cacao leiocarpum*



#### Agroinfiltración por inyección directa

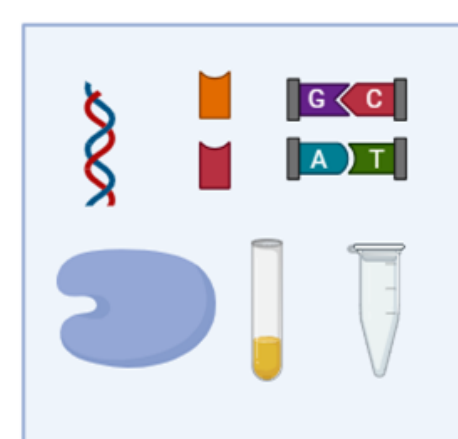
La suspensión con cada plásmido se inyectó en una pequeña incisión del fruto y se dejó durante 5 días para la inserción de los genes.



#### Análisis de la progresión de la enfermedad

Se infectó un área de 4cm x 4cm con *Moniliophthora roreri* para evaluar la resistencia del fruto.

### ANÁLISIS



#### RT-qPCR



#### Microscopía de fluorescencia

### POSIBLES RESULTADOS

- Se espera encontrar GFP en las células. Se observará una fluorescencia débil en frutos no transformados y una intensa en frutos transformados bajo el microscopio de fluorescencia.
- Los resultados de la RT - qPCR confirmaran la presencia de los genes evaluados en los 20 frutos.
- Se realizará un análisis de la progresión de la enfermedad en cada uno de los frutos, esperando que el hongo no crezca en al menos de un fruto que obtendría la resistencia por parte del gen.
- Posterior a la evaluación de cada gen, se construirá un banco de genes con los genes que otorgan la mayor resistencia a *Theobroma cacao leiocarpum* frente a *Moniliophthora roreri*, los cuales podrían ser utilizados en futuras modificaciones genéticas permanentes.

### IMPACTOS

#### Investigativos

- Desarrollo de una rápida metodología de evaluación de genes.
- Construcción de banco de genes para futuras investigaciones.
- Reducción sobre el tiempo en investigaciones de modificación genética.
- Mayor conocimiento frente a la técnica utilizada para su aplicación en otras especies vegetales.

#### Ambientales

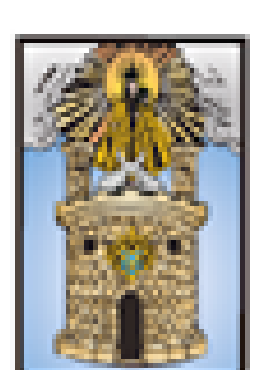
- Desarrollo de plantas genéticamente mejoradas con resistencia a ciertas enfermedades que perjudican los cultivos, evitando pérdidas en las cosechas.



WWW.COLMAYOR.EDU.CO



Acreditados en ALTA CALIDAD



Alcaldía de Medellín  
Distrito de  
Ciencia, Tecnología e Innovación