



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Unidad de Posgrado

Evaluación de la expresión de tres genes *aos*, *erf2* y *pr-p2* que participan en la respuesta celular defensiva en plantas de tomate inoculadas con bacterias promotoras de crecimiento vegetal e infectadas con *Alternaria alternata*

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Biología

Molecular

AUTOR

Katty OGATA GUTIÉRREZ

ASESOR

Débora ALVARADO

Doris ZÚÑIGA DÁVILA

Lima, Perú

2016

RESUMEN

El uso de fertilizantes y pesticidas químicos es una práctica común en los agricultores para contrarrestar la baja fertilidad del suelo y proteger los cultivos del ataque de ciertos patógenos. Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) tienen un efecto beneficioso en el desarrollo de la planta, pudiendo influir positivamente en el sistema de defensa de esta. En este estudio se investigaron 15 bacterias con potencial PGPR seleccionadas del banco de cepas del laboratorio con el objetivo de caracterizar y cuantificar la expresión de los genes *aos*, *erf2* y *pr-p2* que están relacionados con la activación de la respuesta celular defensiva en plantas de tomate inoculadas con PGPR durante la infección del patógeno. Las cepas bacterianas se caracterizaron morfológica y bioquímicamente, evaluándose la producción de ácido indolacético, solubilización de fosfatos, antagonismo contra hongos fitopatógenos y porcentaje de germinación y emergencia de la planta. El análisis de la expresión génica tuvo lugar utilizando las cepas Pa15, Ps155 y Ps168 solas y con el hongo fitopatógeno *Alternaria alternata* asperjado. La extracción de RNA de las hojas se realizó a las 24 y 48 h post inoculación (hpi) del patógeno, analizándose la respuesta de los transcritos *aos*, *erf2* y *pr-p2*. De las cepas probadas, todas fueron capaces de producir AIA, siendo 6 de ellas solubilizadoras de al menos 2 fuentes de fosfato. Se encontró además, que 7 inhibieron el crecimiento de *Fusarium solani*, *A. alternata* y *Curvularia lunata*. Las 3 cepas seleccionadas para los ensayos a nivel de plántulas mejoraron la germinación y emergencia de semillas de tomate *in vitro*. De las plántulas inoculadas se observó que la interacción Ps155 – *Alternaria alternata* incrementó la expresión de los genes *aos*, *erf2* y *pr-p2* a las 48 hpi; indicando una mejora de la respuesta de defensa en la interacción PGPR-tomate durante la infección del hongo. Además, las interacciones PGPR-planta presentaron un índice de enfermedad significativamente menor en comparación con las plantas infectadas sólo con el hongo.

Palabras claves: PGPR, qPCR, ISR, SAR, fitopatógenos, transcritos

ABSTRACT

The use of chemical pesticides and fertilizers to counteract low soil fertility and for protecting crops against some phytopathogens is a common practice among farmers. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) are known to exert beneficial effects on plant growth, development and also improve the plant defense mechanism. In this study, fifteen bacterial isolates were selected from the strain repository of the Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología, Universidad Nacional Agraria La Molina and were examined for their PGPR attributes. The aim of the study was to characterize and quantify the expression of the genes *aos*, *erf2* and *pr-p2* which participate in the cellular defense response of tomato plants during the inoculation with selected PGPR strains and the infection of *Alternaria alternata*, a fungal phytopathogen. The strains were characterized morphologically and biochemically. Assays for Indole Acetic Acid (IAA) production, phosphate solubilization, seed germination and emergence percentage along with the antagonistic test against phytopathogenic fungi, were conducted. Genes expression profiling analysis were performed in tomato plants inoculated with Pa15, Ps155 and Ps168 strains and infected with *A. alternata*. Extraction of total RNA from tomato leaves was done at 24 and 48 hours post inoculation (hpi) of the pathogen. The experimental results showed that all strains were able to produce IAA, six of them could solubilize at least two different sources of inorganic phosphate, seven inhibited the growth of *Fusarium solani*, *A. alternata* and *Curvularia lunata* in *in-vitro* assays. Pa15, Ps155 and Ps168 strains enhanced the seeds germination and the emergence of tomato plants. Among all the inoculated plants, it was observed that Ps155 in interaction with *A. alternata* induced the expression of *aos*, *erf2* and *pr-p2* 48 hpi. These results show that interaction between plant and PGPR strains could help to improve the defense mechanism of the plant. Moreover, the plants inoculated with the PGPR strains showed significantly lesser sign of disease symptoms in comparison with the plants infected with the pathogenic fungus.

Key words: PGPR, qPCR, ISR, SAR, phytopathogen, transcript