

IDENTIFICACIÓN DE GENES EXPRESADOS EN FRAGARIA CHILOENSIS EN RESPUESTA A BOTRYTIS CINEREA

GLORIA ROSSANA GONZÁLEZ SILVA
DOCTOR EN CIENCIAS MENCIÓN INGENIERÍA GENÉTICA VEGETAL

RESUMEN

Uno de los problemas más importantes de la post-cosecha en frutilla comercialmente cultivada, lo constituye la enfermedad pudrición gris, causada por el hongo *Botrytis cinerea* Pers. la que se encuentra ampliamente distribuida en más de 200 especies de importancia económica. Desde hace tiempo a *Fragaria chiloensis*, se le ha conocido por poseer una alta tolerancia a un gran espectro de enfermedades, incluyendo Botritis. Considerando lo anterior, se desarrolló un estudio de diversidad génica en esta especie que consistió en analizar individuos de *Fragaria chiloensis* provenientes de las zonas de Contulmo (región del Bio Bio), Chillán (región del Bio Bio) y Vilches (región del Maule) y compararlas con la especie comercial *Fragaria x ananassa* cv. Chandler, usando para ello, partidores ISSRs (inter simple secuencia repeat). De las formas estudiadas de *Fragaria chiloensis* (Contulmo; Chillán y Vilches) la que presentó una mayor similitud fue la accesión de Contulmo (88 al 100%), seguido de Vilches y Chillán (70 al 100%). Para el caso de las muestras de *Fragaria x ananassa*, el grado de similitud varió desde los 50 a 100%. La diversidad genética fue representada por el coeficiente PhiPT (0,54337), el cual explica una diferenciación completa entre poblaciones. Paralelamente se realizaron ensayos de infección con *Botrytis cinerea*, observando que los poblaciones de *Fragaria chiloensis* provenientes de Chillán y Vilches al igual que *Fragaria x ananassa* cv. Chandler presentaron las primeras lesiones necróticas tres días post-inoculación con un 2 a 4% de cubrimiento del área foliar. Por el contrario, la accesión proveniente de Contulmo presentó las primeras lesiones al quinto día post-inoculación con un 3% de cubrimiento, siendo este más homogéneo genéticamente y mostrando una mayor tolerancia a *Botrytis cinerea*. En base a esto, se realizó una clasificación individual de las plantas del grupo Contulmo en donde se analizó a los 13 días post-inoculación la respuesta de *F. chiloensis* a la infección por *B. cinerea*. Se encontraron diferencias

significativas ($p \leq 0.01$) en cuanto a respuesta, diferenciándose cinco categorías, las cuales se denominaron: altamente resistentes (AR), resistentes (R), tolerantes (T), moderadamente tolerante (MT) y susceptible (S), destacándose que la mayor parte del grupo presentó la respuesta de tolerancia (50%), seguido de la respuesta moderadamente tolerante (25%). Lo anterior, se confirma que *F. chiloensis* (Contulmo) posee una capacidad de tolerar la infección por parte del patógeno en estudio. A partir de estos resultados en una segunda parte se estudió los genes involucrados en la respuesta patogénica y que son expresados en *F. chiloensis*. Para ello, a través de la técnica HSS (hibridación substractiva por supresión) se identificaron tanto secuencias asociadas previamente a respuesta a patógenos, como también algunas de función desconocida, o que podrían alterar la expresión de la planta en respuesta a *B. cinerea*. Del grupo de transcritos descritos, se encontraron dos proteínas relacionadas a patogénesis tales como, Thaumathin – like protein (*FcPR5*) y Mal d 1 (*FcPR10*). *FcPR10* se expresó tanto en hojas como en frutos de *Fragaria chiloensis*, pero el más alto número de transcritos, se observó en los últimos. Por otra parte, *FcPR5* se expresó en frutos y hojas de *Fragaria chiloensis*, encontrándose una mayor inducción en el número de transcritos en hojas.

ABSTRACT

One of the most important post-harvest problems in the commercial strawberry is gray mold, caused by the fungus *Botrytis cinerea* Pers. This pathogen has a wide host range, affecting more than 200 cultivated species. For a long time it has been known that *Fragaria chiloensis* has higher tolerance against to number of diseases, including Botritis. According to this a genetic diversity study was performed in this species, analyzing individuals from three different *Fragaria chiloensis* zone (Contulmo, Chillán and Vilches). These were compared to *Fragaria x ananassa* cv. Chandler using anchored primers or ISSR (inter simple sequence repeat). Among them, Contulmo presented the higher similarity (88 to 100 %) followed by Chillán and Vilches (70 to 100%). In *Fragaria x ananassa* the degree similarity of was between 50 and 100%. The genetic diversity was represented by the PhiPT coefficient (0.54337) which complete explains differentiation between populations. At the same time infection assays were developed, where the *Fragaria x ananassa* and *Fragaria chiloensis* plants from Chillán and Vilches developed the first necrotic lesions three days after inoculation, covering 2 to 4% of the leaf area. On the other hand in the *Fragaria chiloensis* group from Contulmo, the first necrotic lesions appeared five days after inoculation, covering 3% of the leaf area. This group was genetically more homogeneous and tolerant to gray mold. According to this response, the plants of this group were classified in five categories: highly resistant, resistant, tolerant, moderately tolerant and susceptible. Most of the individuals were categorized in the third (50%) and fourth (25%) group. In the second part of this study some of the genes related to the response to the pathogen in Chilean strawberry were studied. Using the Suppressive Subtractive Hybridizing technique, different sequences were identified, not only associated to pathogen response but also to plant expression changes. Two of them were studied in detail, which presented a high homology to Thaumathin –like proteína (FcPR5) and Mal d 1 (FcPR10). FcPR10 was expressed in leaves and fruit of *Fragaria chiloensis*, but the higher number of transcripts was determined fruits. On the other hand FcPR5 was expressed in fruit and leaves of *Fragaria chiloensis*, but in the leaves the transcript induction was highest.