



FORTALECIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN Y DIFUSIÓN DEL CULTIVO DE TRIGO EN PARAGUAY

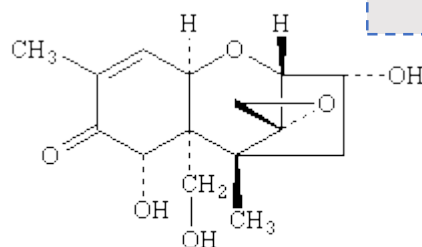
CONVENIO MAG/CAPECO/INBIO



Caracterización polifásica de cepas de *Fusarium graminearum*, aisladas de líneas de trigo de la Región Oriental del Paraguay

Director del Proyecto: MSc. Lic.Biol Christian Dujak

PROGRAMA PROCIENCIA – CONVOCATORIA 2013 - PROYECTO 14inv304



DON



Financiado por



OBJETIVO DEL PROYECTO

Caracterizar cepas *Fusarium graminearum*, en relación a la biosíntesis de tricotecenos, mediante métodos *in vitro* y técnicas moleculares.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Establecer condiciones óptimas de crecimiento *in vitro* de cepas *Fusarium graminearum*.
- Caracterizar molecularmente las rutas biosintéticas del DON y derivados en cepas *Fusarium graminearum*.
- Determinar el efecto del ácido salicílico sobre el crecimiento micelial y producción de DON en cepas de *Fusarium graminearum*.
- Estudiar el efecto del ácido salicílico sobre la expresión del gen *tri5* en cepas *Fusarium graminearum*.

IMPORTANCIA

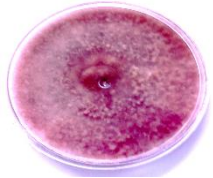
Fusarium graminearum (teleomorfo *Gibberella zeae*), patógeno causante de grandes pérdidas económicas y agronómicas, distribuido en todo el mundo, afecta a varias especies de cereales, causando daños a la planta y desarrollando micotoxinas acumulables en los granos (DON), alterando los parámetros de calidad de los mismos en el momento de exportación. Una de las enfermedades causadas, es la fusariosis de la espiga en trigo (FET) (Bai & Shaner, 2004; Gosman *et al.*, 2005; Walter *et al.*, 2010).

Por tales antecedentes, se han caracterizados las cepas *Fusarium graminearum*, conociendo los caracteres bioquímicos y genéticos sobre los efectos de agentes químicos externos como alternativa de reducción de la acumulación de la micotoxina DON

MATERIALES Y MÉTODOS



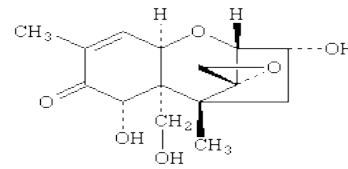
Fusariosis de la espiga en trigo



Fusarium graminearum

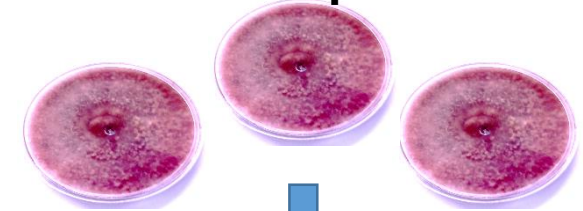


Granos de trigo con DON

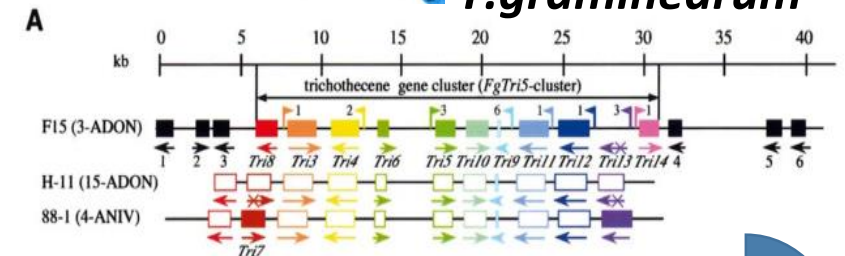


DON
Problema?=??

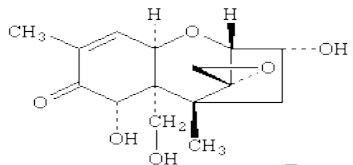
Diseño Experimental



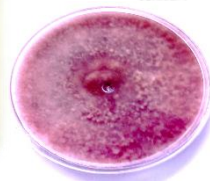
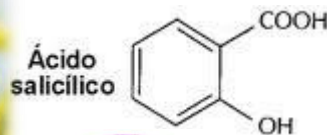
Genoma *F.graminearum*



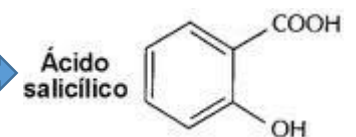
Cluster de genes TRI (Micotoxina) y genes de virulencia



Reducción DON

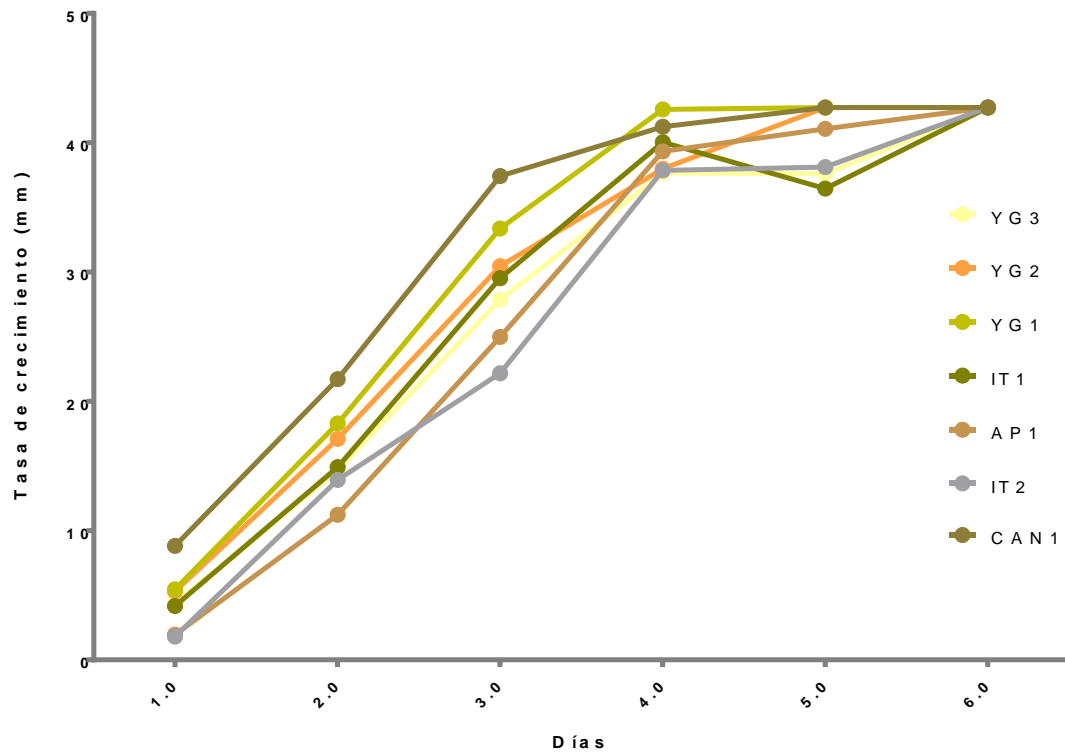


Disminución del crecimiento y reducción de la expresión del DON



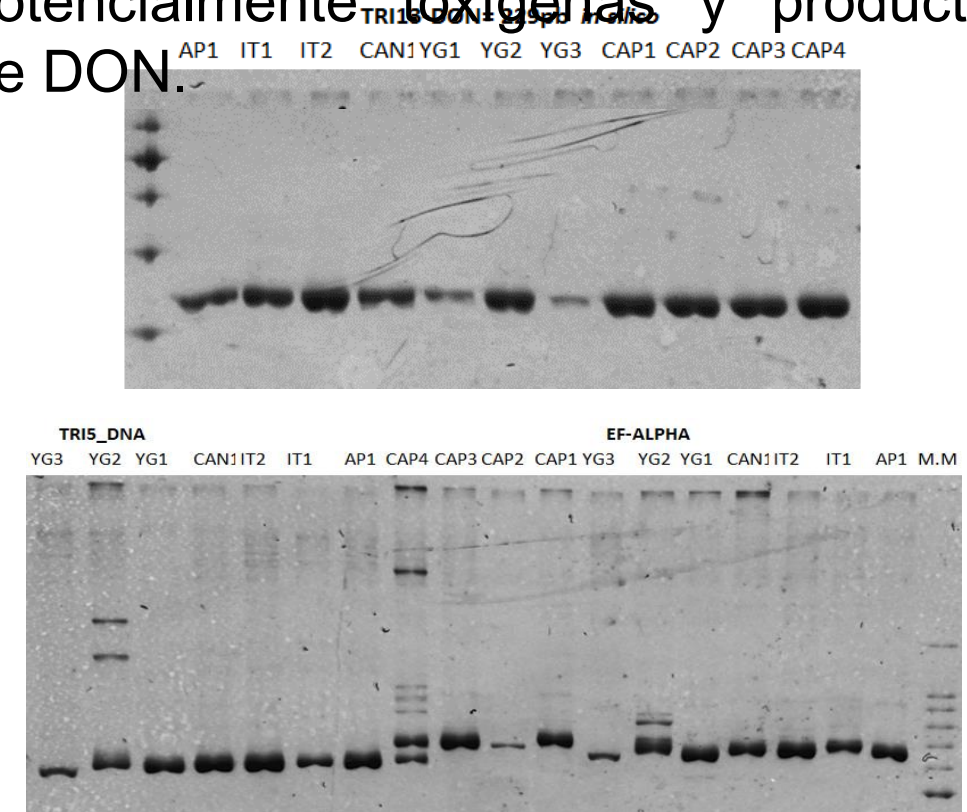
RESULTADOS

Establecimiento *in vitro* de las cepas, cepa **CAN1** mayor rapidez en crecimiento micelial en comparación a las demás cepas.



Tasa de crecimiento de aislados de *Fusarium graminearum* en medio PDA, durante 6 días.

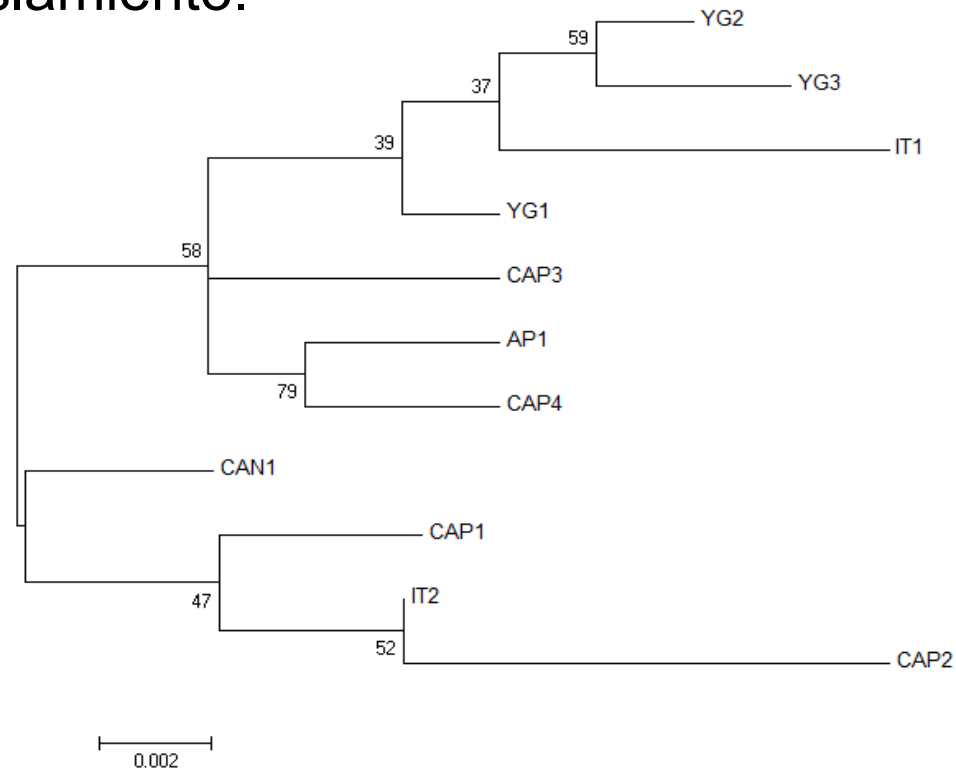
Identificación del cluster de genes *tri*, todas las cepas aisladas son potencialmente toxígenas y productoras de DON.



Detección por PCR de regiones y genes en aislados *Fusarium graminearum*. Gen tricodieno sintetasa *Tri5*, *Tri13DON*, *EF-alpha*.

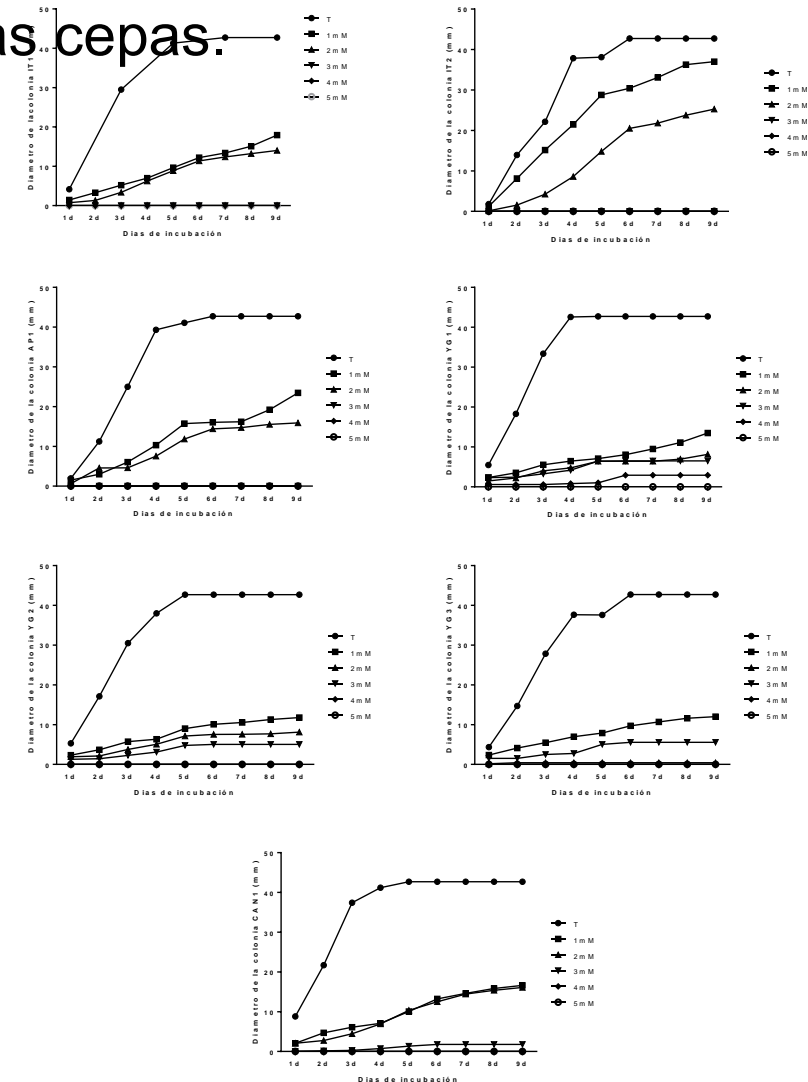
RESULTADOS

La relación genética de las cepas, mediante secuencias del gen *tri5* relacionan la cercanía según localidad de aislamiento.

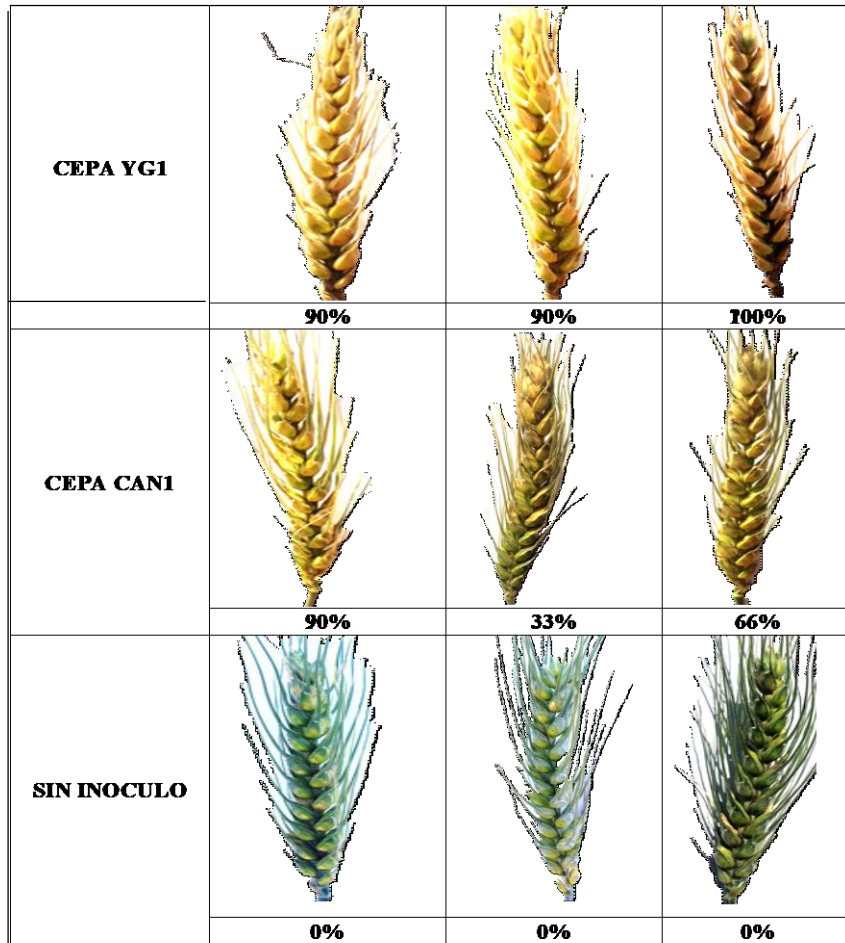


Análisis molecular por método de *Maximum Likelihood* de las secuencias *Tri5* de las cepas.

Disminución del crecimiento micelial *in vitro*, por efecto del Acido Salicílico en todas las cepas:



RESULTADOS

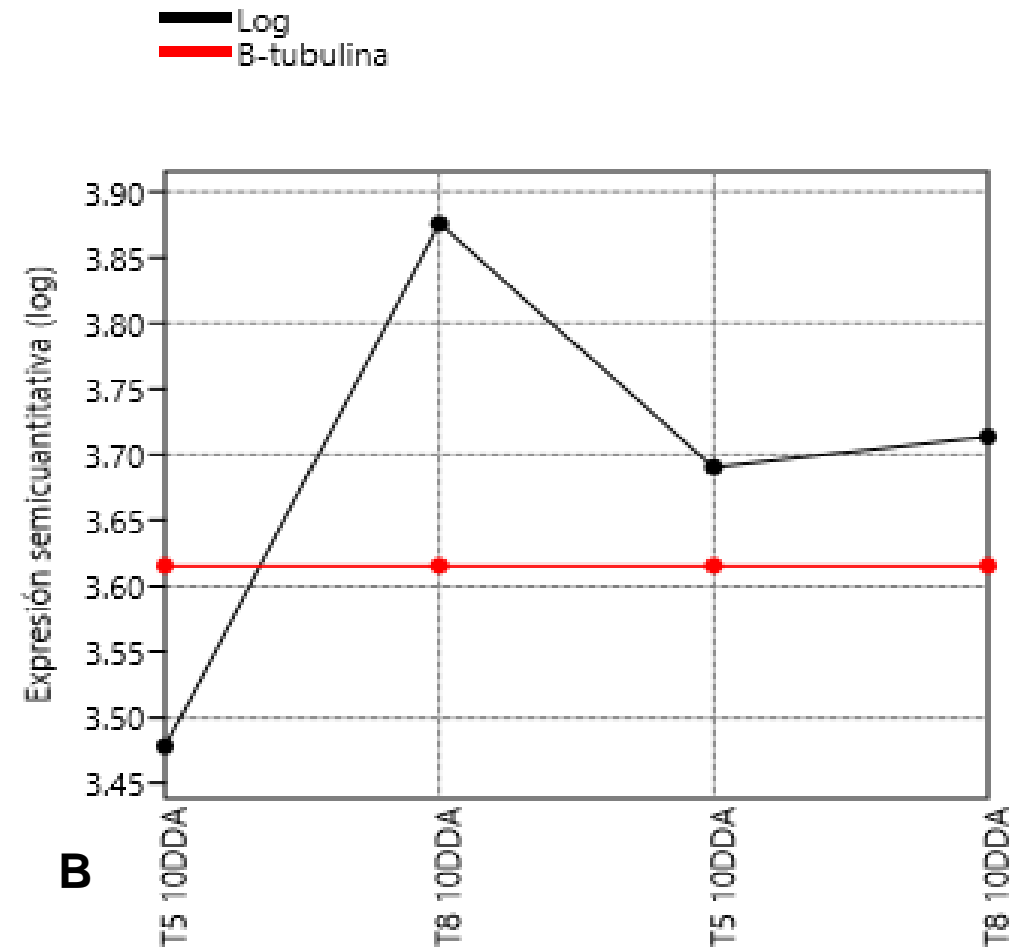
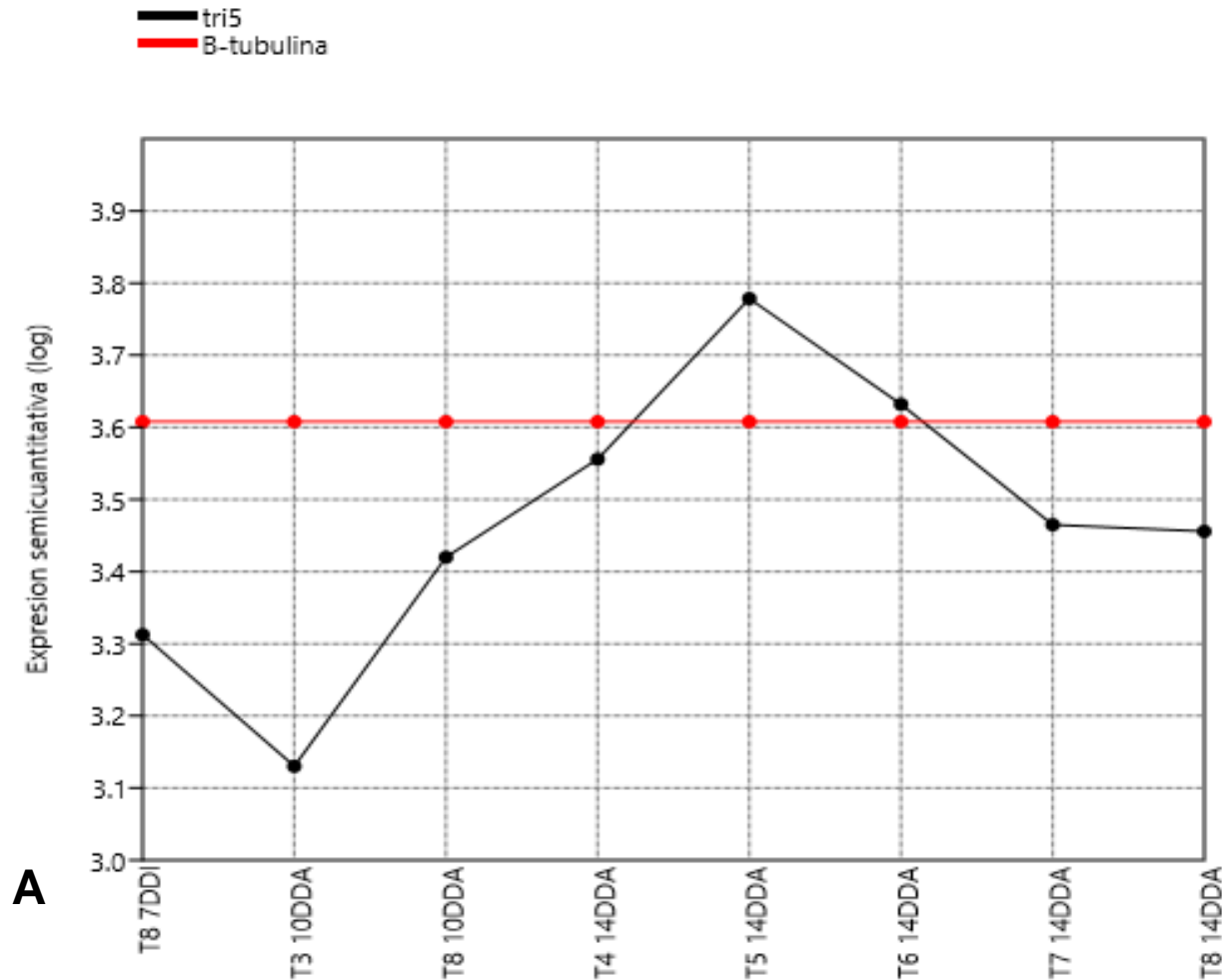


Tratamientos		DON	Tukey 0,05 %					
		Ppm						
T4	CEPA CAN 1 + C1 S.A + F	1,11	A					
T13	CEPA YG 1 + C2 S.A + F	1,13	A					
T7	CEPA CAN 1 + F	1,71	A	B				
T16	CEPA YG 1	1,74	A	B				
T14	CEPA YG 1 + C3 S.A + F	1,9		B	C			
T12	CEPA YG 1 + C1 S.A + F	2,4		B	C	D		
T10	CEPA YG 1 + C2 S.A	2,5			C	D		
T6	CEPA CAN 1 + C3 S.A + F	2,53			C	D		
T3	CEPA CAN 1 + C3 S.A	2,71				D		
T8	CEPA CAN 1	3,65					E	
T2	CEPA CAN 1 + C2 S.A	3,82					E	
T15	CEPA YG 1 + F	3,9					E	F
T9	CEPA YG 1 + C1 S.A	4,1					E	F
T11	CEPA YG 1 + C3 S.A	4,1					E	F
T1	CEPA CAN 1 + C1 S.A	4,56						F
T5	CEPA CAN 1 + C2 S.A + F	9,77						G
Coeficiente de Variación (%)		6,82						

Referencia: Medias con una letra en común, no difieren significativamente entre sí por el Test de Tukey Alfa 0,05% de probabilidad de error.

Resultados del análisis de varianza de Acumulación de micotoxina Deoxinivalenol DON (ppm) en dos cepas de *Fusarium graminearum* YG1, CAN1. Altamente significativo los tratamientos que

RESULTADOS

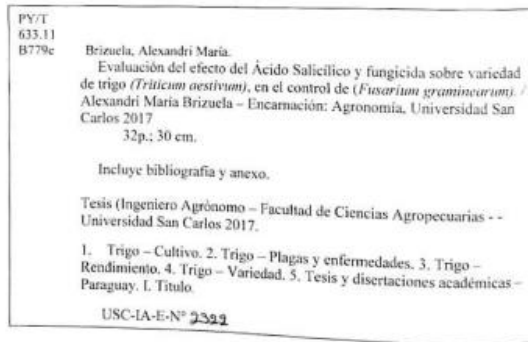


Nivel de expresión semicuantitativa del gen *tri5* en las diferentes días después de la inoculación/aplicación de las muestras colectadas de los materiales. **A**, cepa CAN1. **B**, cepa YC1

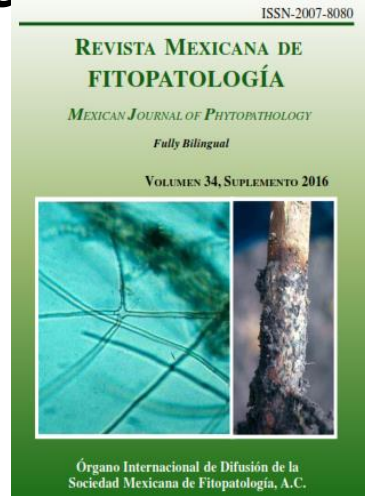
ALCANCE Y DIFUSION

Ensayos in vitro e in vivo, determinaron la reducción del patógeno en su crecimiento y acumulación de DON en los granos de la variedad Caninde 11

DATOS INTERNACIONALES DE CATALOGACIÓN EN LA PUBLICACION (CIP)
BIBLIOTECA CENTRAL DE LA USC



Tesis de grado, culminado y aprobado.
En el marco del Proyecto 14inv304



2 Artículos científicos en resumen,
publicados en la RMF.

- Participación del día de Campo de trigo Zafrá 2016, Mas de 100 personas (Productores y estudiantes universitarios) IPTA-Capitán Miranda.
- Participación en Charlas de Mejoramiento genético en Biotecnología a Estudiantes de Postgrado y grado de Universidades.
- Participación en Eventos Científicos Nacionales e



Caracterización polifásica de cepas *Fusarium graminearum*, aislados de líneas de trigo de la Región Oriental del Paraguay

Dujak Christian¹, Böttger Silvana², Brizuela Alexandri³, Bello Arlene⁴, Kohli M. M.⁵
cedujak@hotmail.com¹, silvana_bottgeroliveira@hotmail.com², sandypw_94@hotmail.com³, arlenebello35@gmail.com⁴, mmkohli@gmail.com⁵

PROGRAMA PROCIENCIA – CONVOCATORIA 2013 – PROYECTO 14inv304



Christian Dujak¹, Silvana Böttger¹, Arlene Bello¹, Delia León¹, Andrea Arrua², Mohan kohli²

¹Biotecnología-Programa de Investigación en Trigo, INBIO-CAPECO-IPTA. ²Programa de Investigación de Trigo, INBIO-CAPECO-IPTA. cedujak@hotmail.com



CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO DEL COMPLEJO *Fusarium graminearum* AISLADOS DE LA REGIÓN ORIENTAL DEL PARAGUAY.

Silvana-Böttger¹, Christian-Dujak², Arlene-Bello³, Martha-Fernández⁴.

¹Iniciación Científica-Biotecnología-Programa de Investigación de Trigo, INBIO-CAPECO-IPTA. ²Biotecnología-Programa de Investigación en Trigo, INBIO-CAPECO-IPTA. ³Iniciación Científica-Biotecnología-Programa de Investigación de Trigo, INBIO-CAPECO-IPTA. ⁴Maestrando en Ciencias en Protección Vegetal, Universidad de Chapingo, México. silvana_bottgeroliveira@hotmail.com



CEPAS POTENCIALMENTE PRODUCTORAS DE TRICOTECENOS, AISLADAS DE VARIEDADES DE TRIGO CULTIVADAS EN PARAGUAY

Dujak-Christian¹, Fernández-Marta², Böttger-Silvana³, Bello-Arlene⁴, Kohli-M M⁴

¹Biotecnología-Programa de Investigación en Trigo, INBIO-CAPECO-IPTA. ²Maestrando en Ciencias en Protección Vegetal, Universidad Autónoma de Chapingo, México. ³Iniciación Científica-Biotecnología-Programa de Investigación de Trigo, INBIO-CAPECO-IPTA. ⁴Programa de Investigación de Trigo, INBIO-CAPECO-IPTA. martifer87@hotmail.com

CONCLUSIÓN

Podemos concluir este proyecto de investigación, mencionando que se ha alcanzado en el cumplimiento de los objetivos trazados, obteniendo resultados esperados de manera exploratoria con las cepas aisladas del país y con un material genético que es empleado por los productores agrícolas. Es de comprender que estos ensayos tienen como fin establecer conocimiento para el control de la FET, buscando alternativas que podrían favorecer.

Estos resultados proveen posibles estrategias en el uso de hormonas como fuente de control a la FET y reducción de la acumulación del DON en granos, los ensayos con concentraciones de SA han jugado un papel importante para determinar que hay una respuesta de defensa en la planta por la inducción de la hormona, actuando como inductor de defensa para la disminución del crecimiento micelial y por ende una reducción en la acumulación del DON en los granos.