

Resumen

Tan spot es una importante enfermedad del trigo, capaz de causar una significativa pérdida de rendimiento en varias áreas de cultivo de trigo alrededor del mundo. La enfermedad es causada por el hongo necrotrófico *Pyrenophora tritici-repentis* (Ptr), el cual produce toxinas selectivas del huésped (HST), conocidas como ToxA, ToxB y ToxC. Estos HST son efectores de patogenicidad que interactúan con un gen de susceptibilidad en el huésped de una manera inversa a la teoría del gen por gen para inducir la enfermedad. ToxA es el principal efector de patogenicidad, causa necrosis en genotipos susceptibles y está presente en la mayoría de los aislados en Oklahoma. Debido a la importancia de ToxA en el desarrollo de la enfermedad, examinamos el proceso de infección y colonización de Ptr en diferenciales de trigo susceptibles y resistentes mediante la inoculación de dos aislados de Ptr; un aislado que posee (+) y un aislado que carece (-) del gen *ToxA*. Estos aislados se transformaron previamente para producir proteína verde fluorescente (GFP) y se analizaron mediante microscopía de fluorescencia. Se examinó el RNA de interferencia (RNAi) para silenciar el gen *ToxA* utilizando RNA bicatenario específico (dsRNA). La co-incubación *in vitro* del micelio con un control de dsRNA marcado con Cy3 sugiere que Ptr puede absorber dsRNA exógenos, sin embargo, en los ensayos *in planta* los dsRNA tienen que atravesar la cutícula, la pared celular y la membrana plasmática para poder acceder a la maquinaria de RNAi. No se logró silenciar ToxA porque probablemente los dsRNA no fueron capaces de atravesar estas barreras o una vez dentro de la planta fueron degradados por nucleasas. Se requieren más estudios para determinar la eficacia de RNAi en el patosistema de Tan spot.

Palabras clave:

- TAN SPOT
- RNAi
- ToxA
- TRIGO

Abstract

Tan spot is an economically important disease of wheat that causes significantly yield loss in several wheat-growing areas worldwide. The disease is caused by the necrotrophic fungus *Pyrenophora tritici-repentis* (*Ptr*), which produces host-selective toxins (HST), known as ToxA, ToxB, and ToxC. These HSTs are pathogenicity effectors that interact with the corresponding host susceptible gene in an inverse gene-for-gene manner to induce disease. ToxA is a major pathogenicity effector responsible of necrosis and is present in the majority of isolates in Oklahoma. Due to the importance of ToxA in disease development, we examined the infection and colonization process of *Ptr* on susceptible and resistant wheat differentials by inoculating two *Ptr* isolates; one isolate having (+) and one isolate lacking (-) the *ToxA* gene. These isolates were previously transformed to produce Green fluorescent protein (GFP) and was analyzed through fluorescent microscopy. Additionally, the capacity of interference RNA (RNAi) to silence the *ToxA* gene was examined using specific double-stranded RNA (dsRNAs). Co-incubation of the mycelium with Cy3-labeled long dsRNA control *in vitro* suggests that *Ptr* is able to uptake exogenous dsRNA, however *in planta* the dsRNAs have to cross the cuticle, cell wall and plasma membrane to access the RNAi machinery of the plant. ToxA silencing was not achieved probably due to a fast degradation of dsRNA by nucleases or the dsRNA were not able to travel through these barriers and penetrate inside the tissue to produce a successful silencing. Further studies are required to determine the efficiency of RNAi in the tan spot pathosystem.

Key words:

- TAN SPOT
- RNAi
- ToxA
- WHEAT