

Silenciamiento genético in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* mediante ARN de interferencia exógeno, y evaluación de la estabilidad de la molécula de ARNi en plantas de banano

PROBLEMA

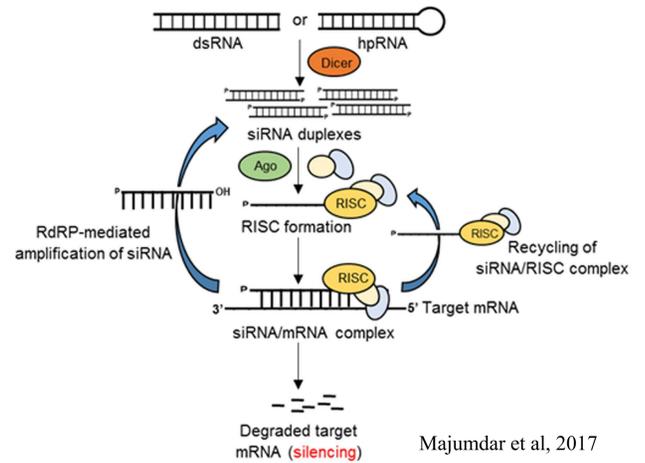
La industria bananera enfrenta una amenaza creciente por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, especialmente con la Raza Tropical 4. Los fungicidas químicos han sido ineficaces y generan resistencia, impactos ambientales y riesgos para la salud. Frente a ello, la tecnología de ARNi surge como una alternativa sostenible, eficaz y legalmente viable.

OBJETIVO GENERAL

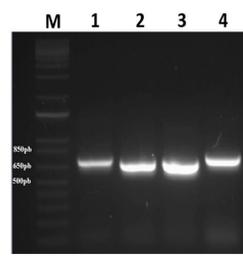
Evaluar el efecto del silenciamiento genético mediado por ARN de interferencia (ARNi) sobre genes esenciales de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, mediante la aplicación in vitro de ARN de doble cadena (ARNdc), y analizar la estabilidad de la molécula de ARNi en plantas de banano, para explorar su potencial como estrategia sostenible de control fitosanitario.

PROPUESTA

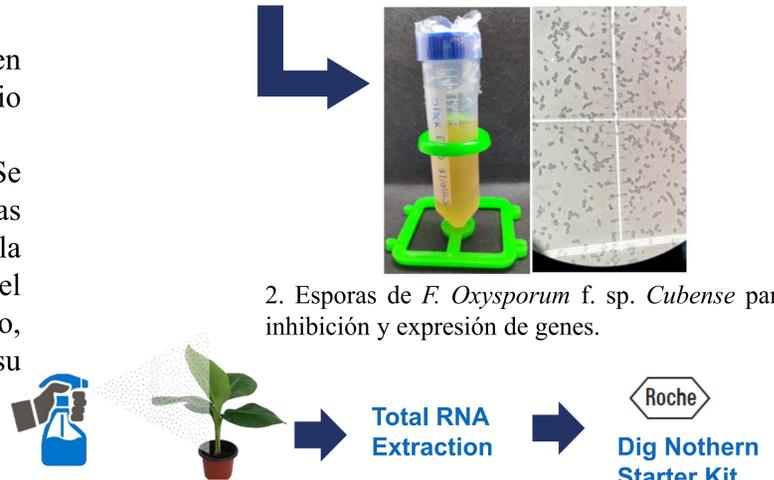
- Diseño de ARNdc específicos:** Se diseñaron moléculas de ARN de doble cadena (ARNdc) dirigidas a los genes *Beta-tubulina (Focβ-tub)*, *C5 desaturasa de esteroides (FocERG3)*, *quitina sintasa 1 (FocChs1)* y *adenilato ciclasa (FocAdey)*, este último utilizado como control positivo.
- Ensayo de inhibición in vitro:** Se evaluó la inhibición del crecimiento de esporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* utilizando los ARNdc a concentraciones de 100, 250, 500, 1000 y 1500 mg/L, con nueve réplicas por gen, determinando el porcentaje de inhibición y el IC₅₀.
- Análisis de expresión génica:** Se midió la expresión del gen *FocChs1* en esporas tratadas con ARNdc-*FocChs1* en medio PDB, a las 24 y 48 horas del crecimiento micelial.
- Evaluación de estabilidad y movilidad del ARNdc:** Se aplicó foliarmente ARNdc-*FocAdey* [500 mg/L] en plantas de banano bajo condiciones de invernadero. Se utilizó la técnica de Northern blot para detectar la presencia del ARNdc-*FocAdey* en diferentes tejidos (hoja, pseudotallo, raíz y cormo) en 4 puntos de tiempo, con el fin de evaluar su estabilidad y translocación dentro de la planta.



Esquema del silenciamiento genético mediado por ARNi en eucariotas. Majumdar et al, 2017



1. Amplicones de genes esenciales para la síntesis de ARNdc



Esquema para la detección de ARNdc por Northern blot

RESULTADOS

Tabla 1. Inhibición de esporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* por ARNdc y valores de IC₅₀

ARNdc	% Inhibición a 1000 mg/L	% Inhibición a 1500 mg/L	IC ₅₀ (mg/L)
<i>FocChs1</i>	100%	100%	156.84
<i>FocAdey</i>	100%	99.37%	243.91
<i>FocERG3</i>	81.30%	80.18%	635.59
<i>Focβ-tub</i>	70.64%	75.87%	532.7

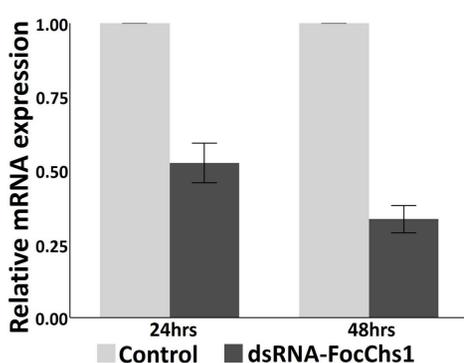


Figura 2. Nivel de expresión del gen *FocChs1* tras el crecimiento de esporas de *Foc* con ARNdc-*FocChs1* a las 24 y 48 horas

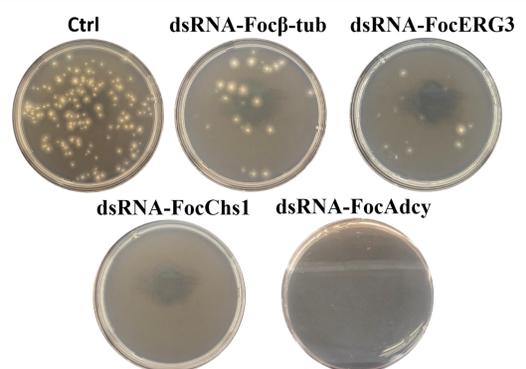


Figura 1. Inhibición de esporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* con ARNdc a 1000 mg/L

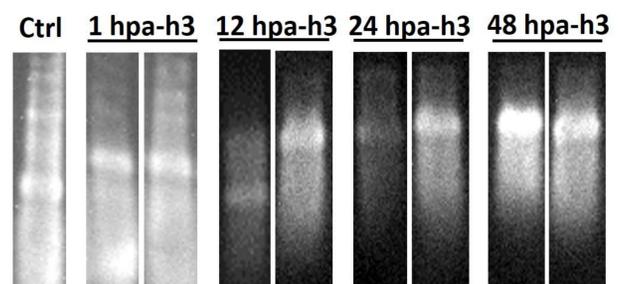


Figura 2. Detección de ARNdc-*FocAdey* mediante Northern blot en muestras de tejido de banano. hpa corresponde a horas post aplicación. h3 corresponde a la hoja #3

CONCLUSIONES

- La capacidad inhibitoria de los ARNdc probados en este estudio varía de acuerdo al gen objetivo del patógeno. El ARNdc-*FocChs1* demostró la mayor eficacia registrando el valor IC₅₀ más bajo (156.84 mg/L), lo que resalta su potencial como candidato para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.
- La expresión del gen *FocChs1* se redujo significativamente tras 24 y 48 horas de exposición con el ARNdc-*FocChs1*, confirmando el silenciamiento genético efectivo inducido por el ARNi.
- El ARNdc-*FocAdey* aplicado foliarmente se mantuvo estable en la hoja tratada hasta 48 horas post-aplicación, pero no se detectó translocación hacia otros tejidos de la planta de banano durante el periodo evaluado.