

**BV11. Optimización de un diseño experimental para el estudio de la interacción
Citrus - *Candidatus Liberibacter* spp., causante de la enfermedad
HuangLongBing mediante análisis de RNA-seq**

Machado, R. (1)*; Moschen, S.N. (2); Conti, G. (3); González, S.A. (3); Burdyn, L. (1); Hopp, H.E (3); Di Rienzo, J. A. (4); Fernández, P. (3).

(1) EEA INTA Concordia, Argentina (2) EEA INTA Famaillá, Argentina. (3) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), UEDD INTA CONICET. (4) Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina. *machado.rodrico@inta.gob.ar

HuangLongBing(HLB) es la enfermedad más letal de los cítricos y puede ser causada por tres especies de bacterias “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” (CLas), “*Candidatus Liberibacter americanus*” (CLam), y “*Candidatus Liberibacter africanus*” (CLaf), siendo CLas la única registrada en Argentina. Es preciso señalar que la bacteria circula por el floema y al taponar los vasos floemáticos impide la circulación de los nutrientes.

Existen dos vías de transmisión de las bacterias, a través de los insectos transmisores *Diaphorina citri* (psílido asiático), presente en el territorio nacional, y *Trioza erytreae* (psílido africano); o partir de injertos de plantas cítricas enfermas, aunque esto suele ser poco frecuente. Actualmente, el HLB no tiene tratamiento y afecta a todos los cítricos.

Los síntomas en plantas jóvenes aparecen en hojas alrededor de los 6 a 12 meses posteriores a la infección. En árboles mayores a 10 años, la aparición de síntomas puede ser más tardía. Asimismo, algunos sectores de la planta, manifiestan los síntomas y otros permanecen asintomáticos

El método por excelencia actualmente utilizado para la detección de HLB es la PCR en tiempo real basado en la secuencia 16S rDNA. Sin embargo, la distribución irregular de las bacterias en las plantas, genera dificultades en el proceso de muestreo y posterior análisis. Además, excepto que se tomen muestras de raíz, la detección recién se puede realizar en estadíos avanzados de la enfermedad.

Los análisis transcriptómicos permiten la identificación de un gran número de genes que la planta expresa en respuesta a la infección. Los datos generados mediante la implementación de esta estrategia permiten identificar patrones de expresión diferencial génica en plantas cítricas en respuesta a la infección con CLas, durante etapas tempranas de la enfermedad. De este modo, los genes seleccionados pueden ser utilizados como biomarcadores de la enfermedad, aún cuando los síntomas no son detectados visualmente y la bacteria no ha migrado a la copa del árbol.

Por lo que el diseño experimental adecuado es clave para este tipo de estudio de expresión génica.

El objetivo de este trabajo fue establecer, basándose en colecciones públicas de transcriptomas *CLas-Citrus* spp., un protocolo *in-silico* óptimo para el diseño

experimental de un RNA-seq con suficientes réplicas, realizados en una serie temporal determinada y acompañada de una secuenciación con profundidad que responda a nuestro modelo de interacción CLas-*Citrus spp.*

Estos análisis permitieron optimizar los tiempos de muestreo a 12, 16, 20 y 24 semanas a fin de poder detectar los cambios transcriptómicos en etapas tempranas. Además, el análisis exhaustivo de datos nos permitió elegir a mandarina y a naranja como las especies candidatas a ser estudiadas, puesto que, a diferencia de otros cítricos, sus genomas y transcriptomas están secuenciados y anotados, son especies altamente susceptibles a CLas y resultan de gran importancia para la región mesopotámica.