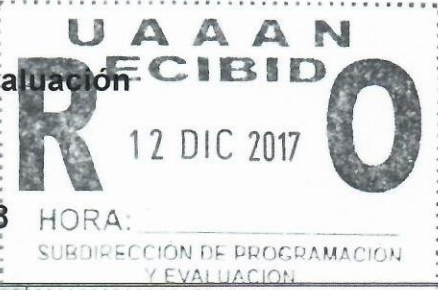




Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dirección de Investigación
Subdirección de Programación y Evaluación



Proyecto de Investigación 2018

Unidad:	Saltillo	División:	Agronomía	Departamento:	Parasitología
Tema estratégico (ANA/PEP):	Biotecnología				
Línea de investigación:	Fitopatología				
Título del proyecto: Compuestos volátiles de soya en respuesta al ataque de mosca blanca.					
Presupuesto solicitado (Máximo \$75,000)	\$75,000	El proyecto es:	Nuevo	Continuación	X
Tipo de investigación:	Básica	<input checked="" type="checkbox"/> Aplicada	Tecnológica	e-mail del responsable	aflooli50@gmail.com
Vinculación:	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> No	Fondos concurrentes:		
Cooperante(s):					
Entidad (es):	Coahuila	Municipio (s):	Saltillo		
Localidades:	Saltillo				
A realizar durante el(los) año(s):	2017-2019				
Participantes	Adscripción (Clave Depto.)	Expediente No.	Firma		
Responsable	Dr. Alberto Flores Olivas	Parasitología	2289		
Colaborador:	Dra. Yolanda Rodríguez Pagaza	Parasitología	100067		
Colaborador:	Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo	Parasitología	2022		
Colaborador:	Dr. José Humberto Valenzuela Soto	CIQA	Externo		
Colaborador:	Dr. Pedro Figueroa López	INIFAP	Externo		
Colaborador:					
	Grado por obtener	Matrícula	Firma		
Tesista:	Jesús Antonio Cantúa Ayala	Doctor en Ciencias	71161434		
Programa Docente:	Doctorado en Ciencias en Parasitología Agrícola				
Tesista:					
Programa Docente:					
Tesista:					
Programa Docente:					
Vo. Bo.			Autoriza		
Firma y sello					
Nombre	Dr. Ernesto Cerna Chávez Jefe de Departamento		Dr. Armando Robledo Olivo Subdirector de Programación y Evaluación		

- Cada Jefe de Departamento deberá dejar copia para su archivo

Protocolo para Proyecto de Investigación 2018

1.-Título del proyecto

Presupuesto solicitado:

Compuestos volátiles de soya en respuesta al ataque de mosca blanca.

\$75,000

2.- Introducción

Originaria de Asia, la soya es la oleaginosa de mayor importancia en el mundo, debido a que la semilla contiene 40-42% de proteína y del 20-22% en aceite; Estados Unidos, Brasil y Argentina son los principales productores en el mundo (250 millones de toneladas), concentran aproximadamente el 80% de la producción; México produce el 7% de la producción que requiere la industria nacional, por lo que en el año de 2013 importó 3.61 millones de toneladas (Schmutz *et al.*, 2010; FAOSTAT, 2016). Los principales factores que limitan la producción en México son las plagas y enfermedades, dentro de las plagas la mosca blanca es de las más importantes, en 1994 redujo el rendimiento de 2.1 a 1.5 ton/ha en 200 mil hectáreas en el noroeste de México (Ochoa *et al.*, 2011). Para el control de la mosca blanca actualmente se utilizan insecticidas químicos, por lo que es necesario el empleo de insecticidas bioracionales como jabones y extractos vegetales. Actualmente existen nuevas áreas del conocimiento como la Ecología Química, que estudia las interacciones bióticas mediadas por compuestos químicos; estos compuestos son denominados Semioquímicos los cuales modulan interacciones de interés entre dos o más organismos. Dentro de los semioquímicos se incluyen a los volátiles, que están altamente involucrados en las relaciones planta-herbívoro y planta-planta, en el comportamiento de los insectos: repelencia, atracción, interacciones tritróficas. En México se han estudiado poco los compuestos volátiles, sin embargo pueden ser la base de una nueva herramienta en el control biológico (Villacide and Corley, 2013; Pickett and Khan, 2016). Por lo anterior el objetivo del presente estudio es "Determinar compuestos volátiles generados por soya y la expresión de genes asociados a la biosíntesis, en relación al ataque de mosca blanca".

Objetivos

- Obtener el perfil de compuestos volátiles liberados de variedades de soya susceptibles y tolerantes infestados con mosca blanca.
- Identificar los compuestos volátiles emitidos en variedades de soya tolerantes a mosca blanca.
- Evaluar expresión de los genes asociados a la biosíntesis de compuestos volátiles en soya.
- Evaluar el efecto de pubescencia y tricomas de hojas de soya, sobre la preferencia de mosca blanca.

Hipótesis

Compuestos volátiles en soya pueden repeler o atraer a mosca blanca.

3.-Revisión de Literatura

La soya es la oleaginosa de mayor importancia a nivel mundial por su gran cantidad de usos, derivado de su alto contenido de proteína y calidad de aceite. En promedio, el grano seco contiene 20 % de aceite y 40 % de proteína. Los principales subproductos obtenidos de la soya son el aceite para el consumo humano y la harina utilizada como ingrediente proteico de alimentos balanceados para animales domésticos (principalmente cerdos y aves). Además, el aceite representa una buena opción para la producción de biodiesel. De acuerdo con datos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, del 2005 al 2009, la producción mundial de soya ha tenido un crecimiento de 13.6%, al pasar de 220 a 250 millones de toneladas. Esta producción se concentra en EU (36 %), Brasil (25 %), Argentina (21 %), China (6 %) y otros países (12 %). México es considerado el cuarto importador más importante de soya a nivel mundial, después de China, la Unión Europea y Japón. Las importaciones de México equivalen a 4.5% de la soya que se comercializa a nivel mundial. En el 2009, se estima que México importó 3.5 millones de toneladas de soya, destinando 98% al sector pecuario (Ochoa *et al.*, 2011; FAOSTAT, 2016). El ácido acético (AA) destaca entre los ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV), por su bajo costo y por considerarse un compuesto de bajo riesgo para humanos, animales y ambiente, así como por tener propiedades fungicidas, herbicidas y de ajustar el pH (Pesticide Action Network North América, 2010). La necesidad de encontrar nuevos productos para combatir plagas y enfermedades, que sean baratos, no riesgosos en su manejo y no peligrosos al ambiente, nos enfoca a evaluar

algunos compuestos como fumigantes o fungicidas, tales como el AA y AGV. Por todo ello, nosotros consideramos que el AA tendrá un efecto fumigante sobre *Bemisia* que dependerá de la dosis y tiempo de fumigación. Por tanto, los objetivos de este trabajo se dirigieron a: evaluar, en el laboratorio, el AA como fumigante de *B. tabaci* variando dosis y tiempos de fumigación; en el campo, evaluar el ácido como fumigante en hojas de cuatro variedades de calabaza; y, determinar la fitotoxicidad del ácido sobre las hojas fumigadas.

Las plantas producen y emiten numerosos compuestos volátiles orgánicos, siempre se ha reconocido el olor que producen, por su importancia comercial y estética, que liberan no sólo de flores y frutos sino también de tejidos vegetativos. Desde hace más de dos décadas se ha establecido la influencia que ejercen los aromas sobre numerosas interacciones, en relación con funciones fisiológicas, ecológicas y más recientemente, atmosféricas. Generalmente estas mezclas están conformadas por terpenos, derivados de ácidos grasos y compuestos aromáticos. La importancia de los volátiles de plantas radica en que pueden actuar como señales para otros organismos, y aún para la misma planta; además, pueden ser exportados y modificar el entorno de las especies que los producen, sus vecinos y sus enemigos. Los volátiles químicos sirven a las plantas para: reproducción, al atraer polinizadores o dispersores de semillas; como defensa para repeler insectos o detener la colonización de bacterias y hongos fitopatógenos; para atraer enemigos naturales de herbívoros; y como mensajeros intra e interespecíficos. Los progresos en las técnicas de análisis, la biología molecular y la bioquímica, han permitido elucidar vías biosintéticas, enzimas y genes involucrados en la producción y emisión de éstos, lo que ha ayudado a conocer parcialmente la razón del porqué se producen este tipo de sustancias, el papel que desempeñan en la interacción con otros organismos y con el medio (Marín y Céspedes, 2007; Pickett and Khan, 2016).

4.- Procedimiento Experimental

Localización. El sitio de experimentación está localizado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en el Departamento de Parasitología.

Material Vegetal. Para el desarrollo de la presente investigación se utilizarán variedades de soya (*Glycine max*) tolerantes y susceptibles a mosca blanca.

Obtención de mosca blanca. La colonia de mosca blanca se recolectó de parcelas comerciales de soya en el noroeste de México; se mantiene en invernadero para su reproducción.

Siembra: La semilla de soya en macetas con capacidad de 1 kg, con una mezcla de sustrato para germinación (Peat Moss), vermiculita y perlita, en relación 4:3:1. Las macetas están puestas en una cámara bioclimática a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ con un fotoperiodo de 12:12 L/O.

Tratamientos: Variedades tolerantes y susceptibles a mosca blanca, Infestación 100 moscas por maceta con cuatro plantas en la etapa vegetativa de V2-V3. Diseño completamente al azar, 2 tratamientos con 3 repeticiones.

Infestación: Infestación 100 moscas por maceta con cuatro plantas, en la etapa vegetativa de V2-V3. La infestación se hará en un medio cerrado (caja de acrílico) para evitar el escape de los compuestos volátiles. La realización de cada tratamiento se hará por separado, para evitar mezclas de compuestos de los otros tratamientos.

Colecta y análisis de los compuestos volátiles: Las plantas de soya en etapa vegetativa serán puestas en cajas de acrílico con tapa que cierren herméticamente. Las cajas serán adecuadas al tamaño de la planta. En la parte superior de la caja se colocará una fibra de polidimetilsiloxano para que absorba los COVs emitidos por la planta de forma natural, por la interacción planta-insecto e interacción planta-insecto-bacteria. La colecta se realizará a las 24 horas, y el análisis se realizará mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

Expresión de los genes asociados a la biosíntesis de compuestos volátiles en soya. Infestación de 100 moscas por planta en la etapa V2-V3. Extracción de ARN total antes y después de la infestación (2 horas), etapa de huevecillo (V5-V6 de la planta) y ninfa de la mosca blanca (V8-V9 de la planta). Utilizando la técnica molecular de RT-PCR, se determinarán los genes que codifican para las cuatro vías metabólicas de compuestos volátiles, mediante primers específicos.

EVALUACIÓN

Identificación de compuestos volátiles: La identificación de compuestos volátiles emitidos por plantas de soya libres e infestadas con mosca blanca se realizará en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS), en el cual se colocará la fibra de polidimetilsiloxano.

Cuantificación de compuestos volátiles: Una vez obtenido el perfil de VOCs, se realizará la cuantificación de los mismos, con el uso de estándares químicos en un GC-MS.

Expresión de los genes asociados a la biosíntesis de compuestos volátiles en soya. Infestación de 100 moscas por planta en la etapa V2-V3. Extracción de ARN total después de la infestación (24 horas), etapa de huevecillo (V5-V6 de la planta) y ninfa de la mosca blanca (V8-V9 de la planta). Utilizando la técnica molecular de RT-PCR, se determinarán los genes que codifican para las cuatro vías metabólicas de compuestos volátiles, mediante primers específicos.

Cronograma de Actividades para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Colecta de COVs			X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Análisis de COVs			X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Expresión de los genes asociados a la biosíntesis de compuestos volátiles en soya			X	X	X	X	X	X	X	X	X	

Cronograma de distribución de presupuesto para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Colecta de COVs												
Análisis de COVs												
Expresión de los genes asociados a la biosíntesis de compuestos volátiles en soya												

Duración total del proyecto

Año de Inicio	2017	Año estimado de conclusión	2019
---------------	------	----------------------------	------

5.-Productos Esperados

- Generar dos artículos científicos para su publicación
- Generar tesis de Doctorado en Ciencias
- Presentar resultados en congresos nacionales y/o internacionales

6.-Literatura Citada

FAOSTAT. 2016. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Estadísticas.
<http://www.fao.org/statistics/es/>

Marín, L. J.C. y Céspedes, C. L. 2007. Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. Revista Fitotecnia Mexicana.

Ochoa, E.X.M., Cantúa, A.J.A., Aguilera, M.N.A. y Montoya, C.L. 2011. Guía para producir soya en el sur de Sonora. INIFAP-CIRNO. Campo Experimental Norman E. Borlaug. Folleto para productores Núm. 41. Ciudad Obregón, Sonora, México. 32 p

Pickett, J. A., & Khan, Z. R. 2016. Review Plant volatile-mediated signalling and its application in agriculture : successes and challenges. <https://doi.org/10.1111/nph.14274>

Schmutz, J., Cannon, S. B., Schlueter, J., Ma, J., Mitros, T., Nelson, W. and Jackson, S. A. 2010. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*, 463(7278), 178–83.
<https://doi.org/10.1038/nature08670>

Villacide, J., and Corley, J. 2013. Manejo Integrado de Plagas Forestales. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA EEA Bariloche, Río Negro. Argentina. Cuadernillo nº 17. Pp. 14