AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DEL AGENTE CAUSAL DE LA PODREDUMBRE PARDA DE LA RAÍZ DE MANÍ

Reynoso, M.M.; Palazzini, J. Torres, A. y S. Chulze

Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta 36 Km. 601 (5800) Río Cuarto. E-mail: mreynoso@exa.unrc.edu.ar

Introducción

La podredumbre parda de la raíz de maní se detectó por primera vez en la campaña 1992-93 incrementando paulatinamente su dispersión en el área manisera. El patógeno, perteneciente al complejo *Fusarium solani*, produce infecciones a nivel radicular dificultando la absorción y translocación de agua. Las plantas afectadas se marchitan comenzando por la rama central, observándose pérdida de turgencia, opacidad en la coloración (verde seco) y epinastia de hojas. Posteriormente se generaliza al resto del follaje produciendo la muerte de la planta adulta. Esta enfermedad está muy ligada a los factores climáticos, siendo la cantidad y frecuencia de las precipitaciones el factor más importante. En el año 1997, debido a situaciones de sequía prolongada, se presentó con carácter epidémico (March y Marinelli, 1998). En la Provincia de Córdoba, la incidencia de la enfermedad ha sido de importancia en diferentes años, con una incidencia de hasta el 50% en algunos campos comerciales, causando graves pérdidas económicas. En la campaña 2001/02 la aparición de la enfermedad ocurrió durante el mes de enero en General Deheza y Santa Eufemia, a continuación de un período de dos semanas sin precipitaciones. Un período de al menos dos semanas sin precipitaciones o con precipitaciones menores a 5mm fue el factor determinante para el desarrollo de epidemias de la "podredumbre parda de la raíz" (Oddino *et al.*, 2003).

Las especies dentro del complejo *F. solani* están ampliamente distribuidas en el suelo, donde se encuentran cepas fitopatógenas y saprófitas. Las cepas fitopatógenas se pueden dividir en grupos, cada uno con un rango de huésped distintivo. Cada uno de estos grupos es tratado como un taxon infraespecífico llamado "formae specialis" (f. spp.) en base a su patogenicidad en un huésped específico. Hasta el momento se han descripto 11 formae speciales (f. ssp.) dentro del complejo, 7 delas cuales son heterotálicas con un estado sexual en común: *Haematonectria haematococca*.

Las "formas especiales" pueden ser identificadas por **taxonomía clásica**, teniendo en cuenta las similitudes morfológicas, culturales y fisiológicas y, la especificidad de hospedante; por **capacidad reproductiva** determinando las poblaciones de apareamiento; y por relaciones filogenéticas comparando las secuencias de ADN. La falta de sistematización en la taxonomía de los géneros fúngicos, determina que los autores fijen distintos criterios para la clasificación taxonómica (Kérenyi *et al.* 1999), generalmente con fuertes tendencias a una asociación predictiva entre el nombre asignado a las especies (basado primariamente o inicialmente en la morfología) y en la biología de las especies (patogenicidad, hábitat, fisiología etc.). El uso conjunto de técnicas moleculares con metodologías convencionales resultan de gran valor para resolver dichos problemas de sistemática fúngica. Dentro de estas técnicas el análisis de AFLPs permite la diferenciación entre individuos, genotipos y cepas, identificación de especies con bandas conservadas, los resultados son altamente reproducibles y la metodología tiene alta reproducibilidad y resolución.

Hipótesis: Especies dentro del complejo *Fusarium solani*, agente causal de la podredumbre parda de la raíz en maní, son diferentes de *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* y *Fusarium solani* f. sp. *pisi*.

Los objetivos del presente trabajo fueron - Identificar las cepas de *Fusarium* pertenecientes al complejo *Fusarium solani*, causantes de la podredumbre parda del maní en Argentina, utilizando marcadores moleculares (AFLPs).- Comparar genéticamente dichas cepas *F. solani* f. sp. *phaseoli* y *F. solani* f. sp. *pisi*.

Materiales y Métodos

Se obtuvieron 25 muestras de raíces de plantas de maní infectadas a partir de lotes ubicados en diferentes localidades de la provincia de Córdoba donde se detectó una alta incidencia de la enfermedad: Hernando, Etruria, Carnerillo, General Cabrera y General Deheza (5 muestras de cada localidad). Dichas muestras fueron utilizadas para el aislamiento e identificación de las especies de *Fusarium*, por taxonomía clásica siguiendo la metodología propuesta por Nelson y col. (1983).

De 151 cepas, identificadas según su morfología como pertenecientes al compeljo *F. solani*, se eligieron al azar 41 cepas, 4 cepas de *F. oxysporum* aisladas del mismo sustrato y dos cepas patrones identificadas como *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* y *Fusarium solani* f. sp. *pisi* (cepas S-1008 y S-0508, respectivamente). A partir de DNA, de cada cepa, extraído según el método de Murray y Tompson, (1980) modificada por Kérenyi *et al.*, (1999). Se generaron los marcadores AFLPs siguiendo la metodología propuesta por Vos *et al.* (1995) modificado por Zéller *et al.* (2000).

Se determinó la similitud genética usando el método de medias aritméticas UPGMA con el programa SAHN del NTSYS. Los cálculos de similitudes genéticas fueron obtenidos usando el programa SAS, versión 6.11 (SAS Institute, Cary, NC).

Resultados y Conclusiones

A partir de las muestras de raices de plantas de maní con síntomas de podredumbre parda se pudo observar que aquellas provenientes de General Deheza, Carnerillo y Hernando mostraban un 100% de contaminación con especies de *Fusarium*. El porcentaje de aislamientos fue menor para las muestras obtenidas en General Cabrera y Etruria con 86 y 40%, respectivamente. Entre el total de cepas pertenecientes al género se determinó la frecuencia de contaminación con *Fusarium* dentro del complejo *Fusarium solani*. La frecuencia de aislamiento varió entre 23 y 46%, obteniéndose los niveles más bajos de infección en las muestras provenientes de Etruria. El porcentaje de plantas con síntomas de podredumbre parda en las distintas localidades fue de 67%, con valores de 34% en Etruria, dato que coincide con los porcentajes más bajos de infección de las raices con *F. solani*.

El análisis de los AFLPs generados, según el dendrograma UPGMA combinado muestra 2 grupos diferentes (Grupo I y II) con un porcentaje de similitud del 31%. En el grupo I se ubican todas las cepas de *F. solani* ensayadas, mientras que en el grupo II se ubican las cepas de *F. oxysporum*. Dentro del grupo I se observan además dos subgrupos, IA y IB, el primero integrado por todas las cepas de *F. solani* aisladas de raices con síntomas de podredumbre parda y el restante por las cepas de *F. solani* f. sp. *phaseoli* y *F. solani* f. sp. *pisi* (Fig. 1).

Los resultados del presente estudio demuestran que el uso de marcadores moleculares generados por AFLPs permitieron separar las cepas del complejo *F. solani* aisladas de raices con síntomas de podredumbre parda de otras especies de *Fusarium*, particularemente de *F. oxysporum* aislado con frecuencia de raices. También se demostró que las cepas del complejo *F. solani* causante de podredumbre parda en raices de maní, tienen una similitud genética de 60%, y son diferentes a *F. solani* f. sp. *phaseoli* (patógeno de porotos) y *F. solani* f. sp. *pisi* (patógeno de arvejas).

El presente trabajo representa un primer avance en la identificación a nivel molecular del agente etiológico de la podredumbre parda de maní. Se está ampliando el estudio con otras formas especiales. Además, no se puede descartar que la enfermedad sea causada por más de una forma especial.

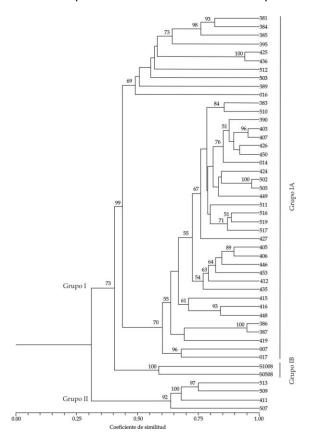


Fig. 1: Dendrograma usando el algoritmo UPGMA de los marcadores moleculares generados por AFLP de las cepas de *F. solani y F. oxysporum*, aisladas de raíces con síntomas de podredumbre parda y, *F. solani* f. sp. *phaseoli y F. solani* f. sp. *pisi*.