

CARACTERIZACION MOLECULAR DE *Thecaphora frezii*, AGENTE CAUSAL DEL CARBÓN DEL MANÍ

Conforto¹, C.; Cazón¹, I.; Fernandez¹, F.; Marinelli², A.; Oddino², C. y Rago^{1,2}, A.
1-INTA, IPAVE-CIAP y 2-Fac. de Agronomía y Veterinaria-UNRC
ecconforto@yahoo.com.ar

Introducción

La provincia de Córdoba es la principal productora de maní a nivel nacional siendo responsable del 98% del total de la producción argentina. Actualmente esta actividad agroindustrial es de gran relevancia en la economía regional y nacional, destinándose el 90% a la exportación. En 1995 se observaron los primeros frutos de maní cultivado (*Arachis hypogaea*) afectados por carbón en la Argentina. El agente causal de esta enfermedad fue descrito como *Thecaphora frezii* por Carranza y Lindquist en 1962 sobre maní silvestre (*Arachis* sp.) proveniente de Brasil. Las vainas afectadas presentan hipertrofia y los granos se encuentran parcial o totalmente carbonosos. Desde su primer reporte la enfermedad se diseminó en toda el área manisera de Córdoba, registrándose recientemente en Salta. La enfermedad causa disminuciones en el rendimiento de hasta el 51% en lotes severamente afectados. Al ser Argentina el único país que reporta la presencia del carbón, se planteó como objetivo la caracterización molecular del patógeno para determinar fehacientemente su taxonomía, y como una herramienta básica para desarrollar metodologías de diagnóstico precisas y confiables.

Materiales y métodos

Se amplificó la secuencia D1-D2 de la subunidad ribosomal mayor de *Thecaphora frezii*. La elección de esta secuencia radica en que permite diferenciar las especies dentro de un mismo género. Para este estudio se analizaron cuatro aislamientos de diferentes zonas productoras de maní: dos de General Deheza y una de Charras, en Córdoba, y una de Embarcación, Salta. La extracción de DNA se realizó a partir de teliosporas. Luego se realizó la amplificación del material genético por PCR con los primers NL1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3') y NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'). Se obtuvo un producto amplificado de 650 pb para cada aislamiento (Figura 1), que se purificó y secuenció. Las secuencias obtenidas fueron analizadas y comparadas con otras secuencias del género *Thecaphora*.

Resultados y Discusión

El análisis de las secuencias mostró una identidad del 100% entre los cuatro aislamientos de *T. frezii* y valores de identidad entre 92 y 96,6% con secuencias de otros representantes del género *Thecaphora*. Además, el árbol filogenético construido bajo el método de neighbor - joining demostró que los aislamientos de *T. frezii* forman un grupo particular al ser comparados con 50 secuencias extraídas del banco de genes (NCBI) (Figura 2). Con estos resultados podemos asegurar que el DNA extraído, purificado y secuenciado corresponde a una especie distinta a las publicadas hasta ahora dentro del género *Thecaphora*, y a la vez confirma la clasificación realizada por Carranza y Lindquist basada en características de la enfermedad y morfología de las teliosporas. Disponer de una secuencia específica para *T. frezii*, nos proporciona información básica para el diseño de métodos sensibles y rápidos para el diagnóstico del patógeno mediante la aplicación de técnicas moleculares. Estas metodologías pueden ser utilizadas en la determinación de *T. frezii* en muestras de suelo y de semillas, con las implicancias tecnológicas y económicas que significan precisión y rapidez.

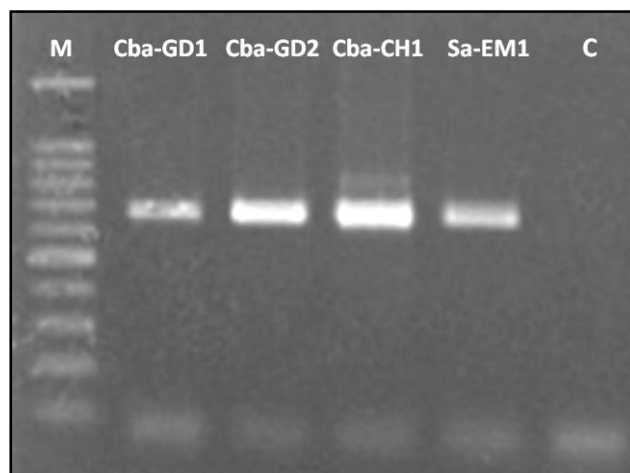


Figura 1: Productos de amplificación por PCR usando los primers universales NL1/NL4 de los distintos aislamientos de *T. frezii* analizados (Cba-GD1/2; Cba-CH1 y Sa-EM1). C: Control negativo de la reacción (sin DNA) y M: marcador de peso molecular 100pb DNA Ladder (NEB).

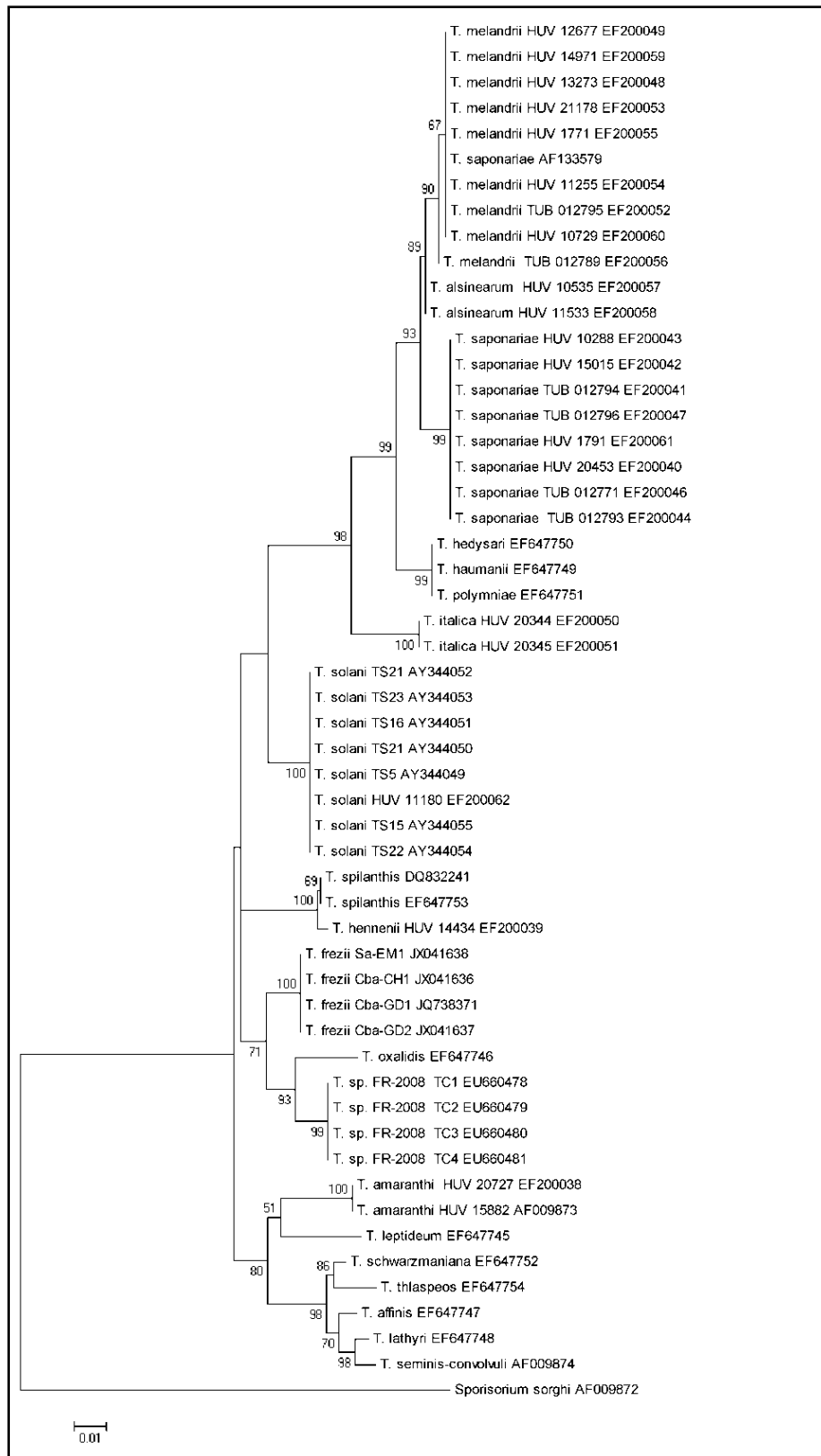


Figura 2: Árbol filogenético construido bajo el método NJ a partir de la secuencia parcial de la subunidad ribosomal mayor (D1-D2) a partir de 50 representantes del género *Thecaphora*, *Sporisorium sorghi* como extragrupo y las secuencias correspondientes a los asilamientos de *T. frezii*.