

BIOLOGÍA DE LA GERMINACION DE THECAPHORA FREZZI IN VITRO

Marta Mónica Astiz Gasso¹ y Adriana Marinelli²

¹Inst. Fitotécnico Sta. Catalina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP), C.C. 4 (1836) Llavallol, Buenos Aires.
astizgasso@yahoo.com.ar ; ²Laboratorio Oro Verde, Río Cuarto (Córdoba).

Introducción

Thecaphora frezii Caranza & Lindquist, es el hongo produce el carbón del maní y es una de las enfermedades que se ha convertido de relevancia en el cultivo de maní en las aéreas productoras en la Argentina. Desde el año 2000, en el laboratorio de Fitopatología del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina (F.C.A.yF, UNLP), localidad de Llavallol, Buenos Aires, se iniciaron los primeros experimentos de laboratorio y de campo en forma conjunta con la Dra Adriana Marinelli en la problemática de este patógeno que afecta al cultivo maní. Las tareas de investigación realizadas hasta el presente fueron: a) 2003: Se obtuvieron los primeros cultivo axénicos de *T. frezii in vitro*; b) 2008-11: Se evaluó la incidencia y severidad del carbón con infecciones artificiales a campo en maní comercial y silvestre. Los resultados confirmaron la susceptibilidad del maní comercial y que el germoplasma silvestre fue altamente tolerante a la enfermedad. Además, se confecciono una escala para valorar la severidad en las semillas de maní. Estos resultados nos demuestran la necesidad de proseguir en la investigación y búsqueda de fuentes resistentes al patógeno; c) 2010-11: Se evaluó in vitro terapicos para el control del carbón. Los principios activos usados fueron eficientes para inhibir la germinación de las teliosporas y el crecimiento de colonias del hongo. También se realizaron los primeros estudios histológicos de la penetración del hongo *T. frezii* en el hospedante, en el cuales nos permitió reafirmar que la infección se inicia en el clavo en forma local, desde las capas externas y avanza al interior hasta formación de la teliosporas que perpetua la enfermedad en el campo y su dispersión por la semillas.

El objetivo de nuestra investigación fue determinar las etapas de la germinación de las teliosporas del hongo que permitan esclarecer y completar el ciclo biológico *Thecaphora frezii*.

Materiales y Métodos

Las muestras del carbón de maní fueron extraídas de cajas cosechas de campo infectados procedentes de la Localidad de Cabrera (Córdoba). Y fueron analizadas en el laboratorio de Fitopatología del Instituto Fitotécnico Sta Catalina. Para llevar a cabo la experiencia se confecciono un protocolo de laboratorio para lograr la germinación de las teliosporas que se detalla a continuación:

1.- Desinfección de teliosporas: 0,1 g de teliosporas se suspendió en solución al 5% de hipoclorito de Sodio (55gr Cl/I) durante 10 minutos en agitación continúa, luego se centrifugo y se extrajo el sobrenadante. Posteriormente, se re-suspendió la muestra en agua destilada estéril que se agito por un minuto y se centrifugo. Repetir la operación hasta completar tres enjuagues.

2.- Medio de cultivo para la germinación de las teliosporas: Agar 2% + Extracto de clavos Maní 100g + Glucosa 2% + 200 microgramos de antibiótico (cloranfenicol) por litro de agua destilada (A.E.M.G). Ajustar pH= 6.5. Las teliosporas desinfectadas se sembraron sobre 10ml del medio de cultivo (A.E.M.G) en cajas de petri de 9 cm de diámetro y se colocaron en estufa de cultivo en oscuridad a 25°C ±2. Las observaciones se realizaron cada 24 hs utilizando microscopio óptico, y esta tarea se ejecutó hasta la formación de colonia del hongo en el medio de cultivo.

Resultados

En la Figura 1-A, se evidencia la formación de colonias de hongo y teliosporas sin germinar. A partir de los 5-7 días se comenzaron a visualizar las germinaciones de las teliosporas con emisión de metabasidios (Fig. 1-B). Entre los días 10-15 se observaron la presencia de basidiosporas (Fig. 1-C) y en otros sectores de las cajas de petri basidiosporas germinando que corresponde a la fase previa al desarrollo de la hifa infectiva del patógeno (Fig. 1-D). En la Figura 2, se detalla las fases del proceso biológico de *T. frezii*, como acercamiento de hifas compatibles (Fig. 2-A); Fig. 2 B-C: fusión de hifas; Fig. 2 D: basidiosporas compatibles con desarrollo de hifa secundaria dicariótica y formación de apresorio que es la estructura que penetrará en el tejido del hospedante para iniciar la infección y colonización.

Conclusiones

La germinación de las teliosporas de *T. frezii* confirman que corresponden a las típicas del Orden de las Ustilaginales. Esta información es de gran importancia para dilucidar el ciclo biológico del patógeno para establecer pautas manejo de la enfermedad.

Financiamiento: Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP

Figura 1: A: Colonias de *Thecaphora frezii* (Co); y teliospora (Te); Observación con microscopio óptico: B: teliosporas germinadas (10X); C: formación de basidiosporas (40X); D: basidiospora haploide (n) germinando (40X). Fotos de la Ing. Agr. M.M. Astiz Gassó.

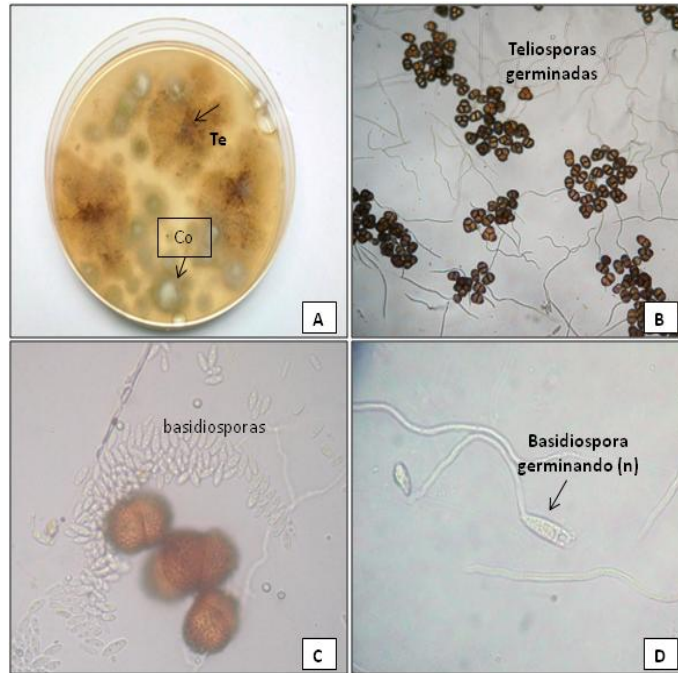


Figura 2: Observación con microscopio óptico de germinación in vitro de *Thecaphora frezii*: A: Acercamiento de hifas haploides compatibles (100X); B-C: Conjugación de hifas compatibles para formar las hifas secundarias dicarióticas infectivas que penetran en el tejido del hospedante (40X); D: fusión de basidiosporas haploides (n), desarrollo de hifa o filamento dicariótico infeccioso (n+n) y formación de apresorio (10X).Fotos de la Ing. Agr. M.M. Astiz Gassó.

