

# ANÁLISIS ANATÓMICO Y MORFOLÓGICO DEL GINÓFORO DE MANÍ EN PRESENCIA DE *THECAPHORA FREZII*

Flamarique S.S.<sup>1</sup>, Matesevach Becerra A.M.<sup>2,3</sup>, Ortega L.I.<sup>4</sup>, Paredes J.A.<sup>1</sup>, Rago A.M.<sup>4</sup>, Merino M.C.<sup>1</sup>

1-Instituto de Patología Vegetal – Unidad de Fitopatología y Modelización Agrícola. Centro de Investigaciones Agropecuarias. INTA-CONICET. 2-Laboratorio de Morfología Vegetal. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. UNC 3-Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal. Museo Botánico de Córdoba (FCEFN-UNC). 4-Centro de Investigaciones Agropecuarias-INTA  
merino.cecilia@inta.gob.ar

## Introducción

El carbón del maní es la principal enfermedad que afecta a este cultivo en Argentina. El agente causal es el hongo *Thecaphora frezii*, el cual sobrevive en el suelo en forma de teliosporas. El ciclo de infección inicia cuando el ginóforo del maní penetra en el suelo y los exudados del clavo estimulan la germinación de las teliosporas. Las teliosporas forman un probasidio y el basidio da lugar a las basidiosporas, las cuales finalmente dan origen un micelio infectivo que ingresa en el ginóforo, produciendo infección y colonización localizada del tejido. Las células que forman las semillas son reemplazadas parcial o totalmente por una masa carbonosa constituida por las teliosporas del hongo, lo que se traduce en hipertrofia de los tejidos y malformaciones de los frutos. El objetivo del presente trabajo es conocer las características anatómicas y morfológicas del ginóforo en plantas susceptibles y tolerantes inoculadas con *T. frezii*, con énfasis en aquellos componentes relacionados a la defensa tales como lignina, suberina y taninos.

## Materiales y Métodos

Semillas de *Arachis hypogaea* L. de las variedades Granoleico (susceptible) y Ascasubi (altamente tolerante) fueron sembradas en macetas con composición de sustrato 1:1 tierra:arena, las que fueron mantenidas en condiciones controladas de invernadero. En el momento de la floración, las plantas de maní fueron inoculadas con teliosporas de *T. frezii* a razón de 0,5 g en 100ml de agua como fue descrito anteriormente (Paredes *et al.*, 2016). Esta suspensión fue agregada a la superficie del suelo de cada maceta (conteniendo una planta por maceta), aportando una densidad de teliosporas superior a 10000 teliosporas/g de suelo, cantidad de inóculo suficiente para ocasionar la infección. Teniendo en cuenta que la germinación de las esporas del hongo y la consecuente infección localizada del clavo ocurre en las primeras etapas del desarrollo del ginóforo, muestras de ginóforo de 1 cm fueron tomadas a las 72 h luego del ingreso del clavo al suelo, correspondiente al estadio fenológico R2. Se realizaron preparados permanentes y temporarios de ginóforos en desarrollo. Para los preparados permanentes, las muestras fueron fijadas en FAA (formol, ácido acético, alcohol etílico), y luego mantenidas en etanol al 70%. El material fue luego deshidratado empleando una serie ascendente de alcoholes a partir de alcohol 70° hasta alcohol absoluto y posterior clarificación con xileno-etanol. Luego se realizó la inclusión en parafina LEICA PF 56-58°. Los cortes fueron realizados en un micrótopo de rotación LEICA TM 2235 a 8 micrones de espesor. Los preparados fueron observados al microscopio óptico empleando luz UV en algunos casos, o desparafinados, teñidos con Azul de Toluidina (Sigma-Aldrich) al 0,05% por 30 segundos, y observados al microscopio óptico con luz visible en otros casos. Además, se realizaron cortes transversales a mano alzada de clavos en fresco que se observaron al microscopio con luz UV. En todos los casos, se procesaron en forma paralela muestras controles de macetas que no fueron inoculadas, mantenidas en las mismas condiciones. Al finalizar el ciclo del cultivo se analizó en cada maceta inoculada con esporas del hongo, la incidencia, severidad e intensidad como control de la infección y del diferente comportamiento de las variedades frente a la misma.

## Resultados

El análisis del número y porcentaje de plantas y vainas infectadas, así como de la severidad de la enfermedad al final del ciclo del cultivo, mostró que Granoleico y Ascasubi presentan, en invernadero, un comportamiento similar al que fue descrito en otros trabajos a campo (Tabla). La morfología del óvulo y embrión en desarrollo presenta características similares en las dos variedades inoculadas con *T. frezii*. En los cortes teñidos con Azul de Toluidina resalta de color celeste la suberina presente en las paredes celulares externas de la epidermis interna del tegumento seminal (Fig. 1 A, B, D) y la epidermis externa del ginóforo (Fig. 1 B), la lignina (también de color celeste) depositada en las paredes celulares de los grupos de fibras asociadas a los haces vasculares (Fig. A, B, D). Además, se observaron idioblastos que contienen taninos adyacentes al xilema (Fig. 1 C), no encontrándose diferencias morfoanatómicas entre ambas variedades. En los cortes a mano alzada analizados con luz UV se destaca la suberina de color rojo, los taninos de color amarillo-naranja adjuntos a la mayoría de los haces vasculares, y la lignina de color celeste de las fibras asociadas al floema (Figura 2).

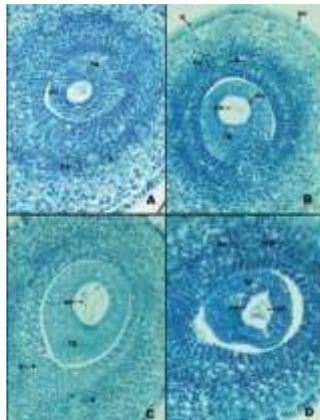
## Conclusión

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que no se observaron diferencias morfológicas y anatómicas, con las técnicas empleadas, entre los ginóforos de las variedades Granoleico y Ascasubi a las 72 h luego del ingreso al suelo inoculado con esporas de *T. frezii*. Estudios futuros incluyendo diferentes tiempos de contacto

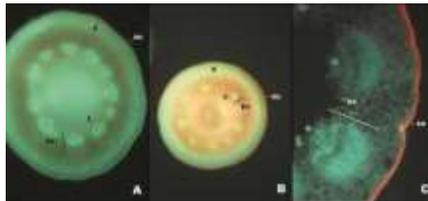
del clavo con las teliosporas serán de gran importancia para conocer similitudes y diferencias en la respuesta frente a *T. frezii* entre las dos variedades mencionadas.

**Tabla.** Incidencia (proporción de las vainas infectadas respecto del total), severidad (proporción del tejido afectado en la vaina) e intensidad de carbón de maní (número de vainas afectadas en cada nivel de severidad/ total de vainas) en las variedades Granoleico y Ascasubi mantenidas en condiciones controladas en invernadero.

	Granoleico	Ascasubi
Nº total de plantas	26	23
Nº de plantas infectadas (porcentaje referido al total de plantas)	25 (96,15%)	6 (26,08%)
Nº total de vainas analizadas	314	186
Nº de vainas infectadas (porcentaje referido al total de vainas)	140 (44,58%)	10 (5,37%)
Nº de vainas con severidad I (porcentaje referido al número total de vainas)	4 (2,85%)	2 (20%)
Nº de vainas con severidad II (porcentaje referido al número total de vainas)	4 (2,85%)	0
Nº de vainas con severidad III (porcentaje referido al número total de vainas)	37 (26,42%)	2 (20%)
Nº de vainas con severidad IV (porcentaje referido al número total de vainas)	95 (67,85%)	6 (60%)



**Figura 1.** Sección distal de ginóforo de maní. Corte transversal con micrótopo luego de 72 h de su ingreso al suelo, teñido con Azul de Toluidina, y observado a 20X. A: variedad Ascasubi, control. B: variedad Ascasubi inoculado con *T. frezii*. C: variedad Granoleico, control. D: variedad Granoleico inoculado con *T. frezii*. Abreviaturas: su: suberina, tg: tegumento seminal, li: lignina, hv: haz vascular, e: epidermis, en: endosperma, t: células productoras de taninos. Muestra representativa de ginóforos de tres réplicas de cada variedad y condición.



**Figura 2.** Sección distal de ginóforo de maní. Corte transversal en fresco a mano alzada luego de 72 h de su ingreso a suelo con esporas de *T. frezii*, observado con luz UV. A: variedad Ascasubi a 10X. B: variedad Granoleico 10X. C: variedad Granoleico a 20X. Abreviaturas: su: suberina, li: lignina, hv: haz vascular, e: epidermis, t: células productoras de taninos. Muestra representativa de ginóforos de tres réplicas de cada variedad y condición.

Financiamiento: Fundación Maní Argentino. Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación. Proyectos INTA.