

Gramíneas y Leguminosas Tropicales... Proyecto IP-5

Año 2, Número 3, diciembre de 1998

Acremonium implicatum: Un Hongo Endofítico en la Gramínea *Brachiaria brizantha* y su Efecto sobre la Mancha Foliar

Segenet Kelemu, Fernando Muñoz y Yuka Takayama*

Resumen

Brachiaria es un género predominantemente africano, que comprende casi 100 especies, algunas de las cuales, como *B. brizantha*, han dado origen a gramíneas forrajeras que son comercialmente importantes en América tropical, donde cubren casi 50 millones de hectáreas. Los hongos endofíticos viven dentro de las partes aéreas de gramíneas y los juncos formando asociaciones completamente intercelulares, pero no-patogénicas. El mayor impacto de los endofitos simbióticos sobre las gramíneas se manifiesta a través de la disminución de la productividad de los animales. Muchas gramíneas infectadas con endofitos presentan aumento en la resistencia a insectos y patógenos. A partir de plantas de *B. brizantha* CIAT 6780, una gramínea apomíctica C4, se aisló el hongo endofítico *Acremonium implicatum* (J. Gilman & E. V. Abbot) W. Gams. Utilizando esas plantas infectadas con el endofito, se propagaron vegetativamente plántulas. La mitad de ellas fue tratada con el fungicida Folicur para eliminar el hongo, mientras que el resto permaneció sin tratar. Ambos grupos de plantas, genéticamente idénticas, fueron entonces infectadas con *Drechslera* sp., agente causal de la enfermedad mancha foliar. Los resultados indican que *A. implicatum* protege a *B. brizantha* CIAT 6780 de infecciones por *Drechslera* sp. Las plantas infectadas con el endofito presentaron un número menor de lesiones, siendo éstas más pequeñas que las presentes en plantas libres del endofito. De la misma forma, la esporulación de *Drechslera* sp. sobre hojas cosechadas de plantas inoculadas artificialmente, fue menor en los tejidos que contenían el endofito que en los tejidos libres de él.

Introducción

Brachiaria es un género predominantemente africano, que comprende casi 100 especies, algunas de las cuales, como *B. brizantha*, han dado origen a gramíneas forrajeras que son comercialmente importantes en América tropical, donde cubren casi 50 millones de hectáreas.

Los hongos endofíticos viven dentro de las partes aéreas de gramíneas y los juncos formando asociaciones completamente intercelulares, pero no-patogénicas. El mayor impacto de los endofitos simbióticos sobre las gramíneas se manifiesta a través de la disminución de la productividad de los animales.

Muchas gramíneas tienen endofitos en las hojas, los tallos y las semillas. Debido a su importancia, en la última década se ha realizado considerable investigación sobre el papel de estos hongos en la interacción entre leguminosas de la zona templada y los herbívoros.

En el caso de las gramíneas simbióticas se ha observado que el mayor impacto está relacionado con la reducción en la productividad de la ganadería. No obstante, muchas gramíneas infectadas con endofitos exhiben un aumento en la resistencia a insectos y patógenos. Las gramíneas infectadas poseen también otras propiedades de valor aplicable; por ejemplo, en algunos sitios de Colombia aparece la mancha foliar en *Brachiaria*, una enfermedad de importancia que es causada por *Drechslera* sp. En *B. brizantha* CIAT 6780 se aisló el hongo endofítico *Acremonium implicatum* (J. Gilman & E. V. Abbot) W. Gams y se estudió su efecto sobre *Drechslera* sp.

* Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT, Apartado Aéreo 6713, Cali, Colombia,

Circular...

Gramíneas y Leguminosas Forrajeras Tropicales... Proyecto IP-5 es un medio de información del Proyecto Gramíneas y Leguminosas Tropicales: Optimización de la diversidad genética para usos múltiples (Proyecto IP-5 del CIAT). Se publica tres veces al año en abril, agosto y diciembre y su objetivo es mantener la comunicación con las personas e instituciones colaboradoras en la identificación y desarrollo de germoplasma de gramíneas y leguminosas con potencial en sistemas de producción en regiones húmedas y subhúmedas del trópico de América Latina.

Director: Carlos E. Lascano, Coordinador del Proyecto IP-5.
Tel. (57-2)445000 Ext. 3036
Fax: (57-2)4450073
E-mail: c.lascano @ CGNET.com

Edición: Alberto Ramírez P.

CIAT
Apartado Aéreo 6713, Cali, Colombia.

Materiales y Métodos

Mantenimiento de cultivos. Los cultivos del hongo se mantuvieron sobre PDA con tetraciclina, fueron liofilizados o crecieron sobre papel filtro estéril y se guardaron en sobres a -20 °C.

Eliminación de los endófitos. Se generaron clones de *B. brizantha* CIAT 6780 libres de endófito usando el fungicida Folicur. A partir de plantas madres infectadas con endófito se propagaron plántulas; la mitad de estas últimas se trataron con Folicur para eliminar el endófito, mientras la otra mitad no se trató. Para el tratamiento, las plántulas se colocaron en una solución 0.1 ml/lt de Folicur (250 g i.a./lt) por 6 h. Los retoños tratados se sembraron individualmente en potes pequeños. Cuatro semanas más tarde, se examinaron las vainas de la hoja y de la lámina foliar para comprobar la presencia del micelio endofítico. Ambos grupos de plantas, genéticamente idénticas, se inocularon con *Drechslera* sp., agente causal de la mancha foliar.

Inoculación y evaluación de la enfermedad. La suspensión conidial se preparó en agua destilada estéril, ajustada a una concentración de 9×10^4 conidias/ml, y se asperjó sobre cortes de tejido vegetal hasta humedecerlo completamente, o se aplicó sobre hojas de papel filtro hasta saturarlas para luego adherirlas sobre la lámina foliar de plantas sembradas en potes. Las plantas se mantuvieron en cámara húmeda por 48 h y se transfirieron al invernadero hasta la aparición de los síntomas de la enfermedad. Los parámetros de las lesiones fueron transferidos sobre transparencias y convertidos a archivos gráficos utilizando un escáner. La longitud y el área de las lesiones se midieron usando el programa analizador de imágenes WinRHIZO, Versión 3.6 D (Regent Instruments Inc., Canadá).

Pruebas de inhibición in vitro. En el centro de un papel filtro estéril se colocó un disco de agar con *A. implicatum*, el cual, a su vez, se pasó a medio papa-dextrosa-agar, que se incubó a 28 °C hasta cuando, aproximadamente, una cuarta parte del área del papel filtro se encontraba cubierta por micelio/conidia. De la misma manera, en el centro de una caja petri con papa-dextrosa-agar fresco se colocó un disco de agar con *Drechslera*. A continuación, se levantó el papel filtro conteniendo *A. implicatum* y con cuidado se colocó sobre el cultivo de *Drechslera* para incubarlo a 28 °C. Las cajas control recibieron tratamientos similares a los anteriores, excepto que no contenían *Acremonium*. Además, en el centro de cada caja, a las cuales se les había removido el papel filtro conteniendo *Acremonium*, se colocó un disco de *Drechslera*.

En un experimento separado, en el centro de una caja de papa-dextrosa-agar conteniendo tetraciclina se colocó un disco de agar con *Acremonium*. Sobre el agar, y totalmente en contacto con él, se colocó un papel filtro estéril del mismo tamaño del fondo de la caja petri. Las cajas fueron incubadas a 28 °C hasta que una cuarta parte del área fue cubierta por micelios y conidias del hongo. Entonces, en el centro del papel filtro se colocó un trozo de agar con *Drechslera* y posteriormente se incubó. Las mediciones se hicieron cuando el micelio de *Drechslera* cubrió las cajas control, utilizando escáner y analizador de imágenes WinRHIZO, Versión 3.6 D (Regent Instruments Inc., Canadá).

Resultados y Discusión

Las especies de *Brachiaria* (Figura 1) son las gramíneas tropicales más ampliamente utilizadas, particularmente en Centro y Suramérica. Solamente en Brasil existen casi 40 millones de hectáreas cubierta con varias de ellas.



Figura 1. Pasturas de *Brachiaria*.

En pasturas de *Brachiaria* aparecen con frecuencia síndromes sanitarios, que han ocasionado la muerte a numerosos vacunos en hatos de Brasil, Colombia y Venezuela. La causa exacta de esto aún no se conoce, pero posiblemente estén involucrados hongos endofíticos. Por el contrario, en la zona templada se ha reportado resistencia a patógenos asociada con infección de endófitos y no se han identificados casos similares a los ocurridos con gramíneas tropicales.

Inhibición in vitro de *Drechslera* por *A. implicatum*. Este ensayo indicó una fuerte antibiosis de *A. implicatum* contra *Drechslera* sp., un importante patógeno de un amplio rango de gramíneas. En la Figura 2 se observa el área de crecimiento micelial de *Drechslera* en presencia o no de *A. implicatum*. En la Figura 3 se observa la inhibición del

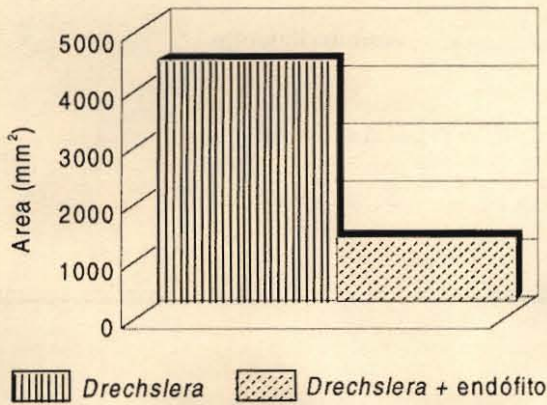


Figura 2. Crecimiento micelial de *Drechslera* sp. en presencia o ausencia de *Acremonium*.

crecimiento del patógeno por uno o varios compuestos del endófito

Reacción a la enfermedad. Los resultados indican que *A. implicatum* protege a *B. brizantha* CIAT 6780 de la infección por *Drechslera* sp. Las plantas infectadas por el endófito tuvieron menos y más pequeñas lesiones que las plantas libres de endófito (Figuras 4 y 5).

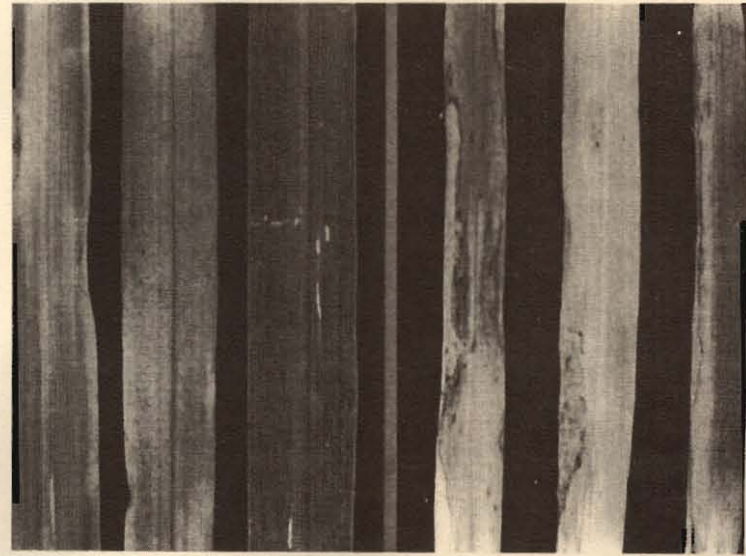


Figura 4. Tejidos de *Brachiaria brizantha* que contienen endófito (izquierda) y sin él (derecha) expuestos al patógeno *Drechslera* sp.

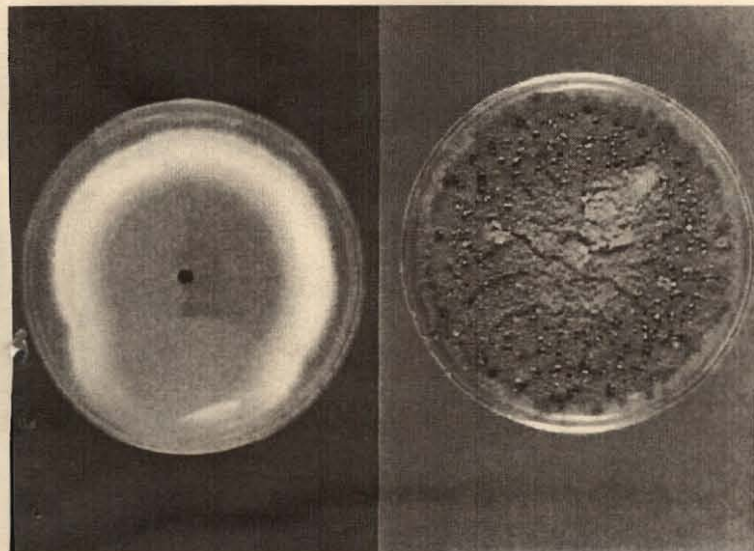


Figura 3. Inhibición del crecimiento de *Drechslera* por componente(s) difundible(s) de *Acremonium*. La caja de la derecha es el control.

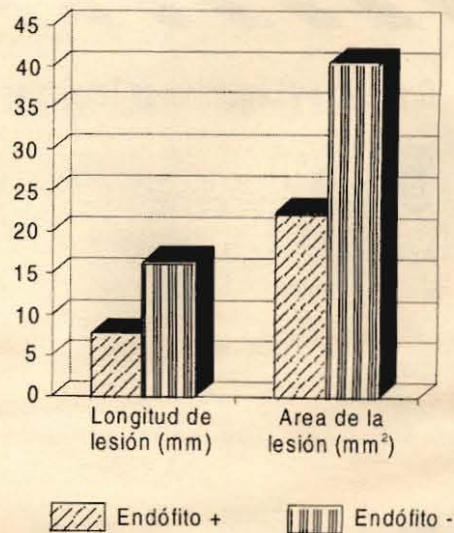


Figura 5. Tamaño de la lesión en plantas de *Brachiaria brizantha* con y sin endófito, inoculadas con *Drechslera* sp.



Figura 6. Vainas foliares con y sin endófito inoculadas con el patógeno *Drechslera* sp. El tejido a la izquierda contiene *Acremonium implicatum*.

Esporulación fungosa sobre tejidos de *Brachiaria*:
Drechslera esporuló más abundantemente sobre los tejidos de *Brachiaria* libres de *A. implicatum* que sobre los tejidos que lo contenían (Figura 6). Hasta donde se sabe, este es el primer reporte sobre: (1) la presencia de un endófito *Acremonium* en *Brachiaria*, una gramínea C4; y (2) el efecto de este endófito sobre un patógeno de esta gramínea.

Actualmente se tienen trabajos en progreso sobre el papel de este hongo endofítico en el control de plagas y enfermedades, resistencia a sequía y otras características.



Agradecimientos

Al Gobierno de Japón
 por el apoyo brindado
 para la realización
 de estos trabajos.

Gramíneas y Leguminosas Tropicales...Proyecto IP-5



Apartado Aéreo 6713
 Cali, Colombia

