

Presencia de Alcaloides Indólicos en *Alternaria sp*, Endófito de Semillas de *Astragalus garbancillo*

Área del Conocimiento: Agropecuaria

Becario/a: PISTAN, María Elena

Director/a: Schnittger, Leonhard

Facultad: Cs. Agrarias

E-mail: mepistan@gmail.com

Objetivo

El término "locoweed" se ha utilizado para describir una enfermedad ocasionada por plantas del género *Astragalus*, *Oxytropis*, *Ipomea* y *Sida* que contienen como principio activo Swainsonina (sw) (Ríos et al. 2012, Cook et al. 2017, Micheloud et al. 2017). SW es un alcaloide indolizidinico producido por hongos endófitos asociado a estos géneros de plantas mencionadas (Braun et al. 2003, Grum et al. 2013, Cook et al. 2013). En Argentina, Martínez et al. (2019) identificaron en especies del género *Astragalus* (*pehuenches*, *illinii*, y *chamissonis*), al hongo *Alternaria* sección *Undifilum* como productor de SW. Varios hongos (*Alternaria*, *Ulocladium*, micelios estériles, *Acremonium*, *Bipolaris*, *Curvularia* y *Fusarium*) fueron asociados a hojas y tallos de *Astragalus garbancillo*, pero no se determinaron si estas especies de hongos producían SW.

El objetivo de este trabajo fue determinar si los hongos endófitos del género *Alternaria*, aislados desde las semillas de *Astragalus garbancillo* procedente de la provincia de Tucumán, son productores de alcaloides indolizinicos.

Materiales y Métodos

Aislamiento in vitro de endófitos

Se desinfectaron semillas de *Astragalus garbancillo* (Fig 1) según Martínez et al, 2019 y fueron sembradas (10 semillas/caja) en medio de agar papa dextrosa (APD) e incubadas en estufa a 28° C.

Siembra en Caldo Czapeck:

Las colonias seleccionadas se sembraron en medio selectivo Czapeck durante 30 días a temperatura ambiente, con la finalidad de analizar a los hongos endófitos productores de SW.

Extracción e identificación por cromatografía en capa fina (TLC)

Cada una de las seis muestras fue macerada en etanol 96° durante 24 hs. Los extractos obtenidos fueron empleados para la identificación de compuestos indolizinicos mediante TLC, empleándose como fase móvil metanol: acetato de etilo: hidróxido de amonio (4:1:1) y los reactivos de Dragendorff (subnitrito de bismuto, ioduro de potasio) y Ehrlich (p-dimetilaminobenzaldehído, previamente asperjado con anhidrido acético al 10% en benceno) como reveladores.



Fig. 1: *Astragalus garbancillo*

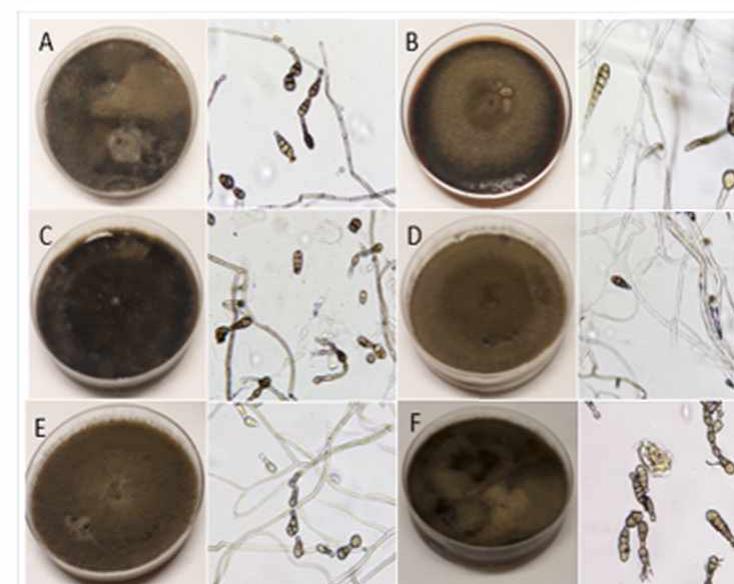


Fig. 2: A-F: Colonias y conidios del género *Alternaria* aislados de semillas de *Astragalus*.



Figura 3. Siembra de extractos de hongos. Se observan manchas purpuras violáceas compatibles con derivados indolizinicos en todos los extractos.

Resultados y Discusión

Se obtuvieron colonias fúngicas pertenecientes a géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Curvularia*, *Bipolaris*, y micelios estériles. La población de hongos identificados es mencionada en *Astragalus variabilis* y *Oxitropis glabra* (Lu et al., 2017) y *Astragalus mollissimus* (Cook et al., 2014). Se seleccionaron 6 colonias pertenecientes al género *Alternaria* cuyas características culturales y morfológicas fueron las siguientes: micelio aéreo algodonoso, color castaño, gris o color humo a verde oliva, y reverso también gris oscuro; conidióforos castaño pálido, simples o ramificados, con conidios catenulados o no catenulados en el ápice, cilíndricos o fusiformes, a menudo con picos cilíndricos, muriformes compuestos por 3-4 (-8) paredes transversales y 1-2 paredes longitudinales(Fig 2 A-F). Dichas colonias, fueron seleccionadas para ser evaluadas mediante TLC.

En el análisis por TLC, observamos que el reactivo de Ehrlich (Fig. 3) donde sí se observaron manchas color púrpuras violáceas compatibles con estos derivados con un Rf calculado de 0,6; como lo indica Molyneux et al. (1991) y Wu et al. (2016).

Por lo tanto, podemos concluir que los hongos del género *Alternaria* aislados de semillas de *Astragalus garbancillo* producen compuestos derivados indolizinicos. Es de nuestro interés realizar estudios posteriores aplicando técnicas más específicas como la espectrometría de masas, que nos permitan determinar si se trata del alcaloide SW.