

Evaluación de la inducción de respuestas de defensa a *Phytophthora cinnamomi* Rands. en embriones somáticos de encina

Mar Ruiz- Galea

Cristina Celestino Mur, Mariano Toribio Iglesias

Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDRA)



Antecedentes

Phytophthora cinnamomi es el principal agente biótico asociado con la “seca” de la encina (*Quercus ilex* L.). Este oomiceto segrega elicinas durante la colonización de la planta huésped induciendo respuestas de defensa inmediata y a largo plazo. Se podría mejorar la resistencia a éste y otros patógenos tratando previamente con sus elicinas o con compuestos naturales o de síntesis capaces de provocar reacciones similares, denominados elicitores.

La formación de la semilla es el momento adecuado para establecer señales de memoria epigenética. Con la embriogénesis somática de *Quercus sp* se están produciendo de forma recurrente un gran número de embriones genéticamente iguales o “semillas clónicas”, donde aplicar señales con los elicitores.

El cultivo dual del material elicitado con el micelio de *P. cinnamomi* permite una primera evaluación de la efectividad de los tratamientos en la inducción de respuestas de defensa.

Objetivos

Estudio del efecto de la concentración y del tiempo de aplicación de las cinamominas (FILTR) y de varios elicitores: BABA, SA, MeJA y BTH, sobre la producción de embriones y la inducción de cambios detectables en el laboratorio mediante un cultivo dual.

Metodología

Se incorporaron 50 y 100µM de cada elicitor individualmente y 10% y 30% (v/v) de filtrado del cultivo de *P. cinnamomi* (FILTR) en el medio de cultivo SH de los embriones somáticos de tres líneas embriogénicas (Q8, E2, E00). Cada uno de ellos se aplicó a largo plazo (60días) y a corto plazo (3días) seguido del cultivo en medio sin elicitores hasta completar 60 días).

A. Se determinó la PRODUCCIÓN MEDIA DE EMBRIONES POR ENVASE: 5 repeticiones por tratamiento y genotipo, que se cultivaron a 23±2°C, y con fotoperiodo de 16h luz durante 60días (Tabla1).

Tratamiento	Corto plazo			Largo plazo		
	Q8	E2	E00	Q8	E2	E00
CONTROL	5,2 ± 1,4a	0,0 ± 0,0a	3,0 ± 0,3a	7,7 ± 1,0a	3,0 ± 0,8a	3,7 ± 0,4a
MeJa	3,5 ± 1,1a	4,6 ± 1,4b	3,6 ± 1,1a	5,6 ± 1,0a	6,0 ± 1,2a	2,0 ± 0,6ab
BTH	5,0 ± 1,9a	0,0 ± 0,0a	4,2 ± 2,5a	0,4 ± 0,2b	0,4 ± 0,2b	0,6 ± 0,4b
BABA	5,7 ± 0,6a	0,4 ± 0,3a	2,7 ± 1,8a	6,5 ± 1,0a	5,0 ± 1,2a	2,3 ± 0,7ab
SA	6,8 ± 2,3a	1,0 ± 0,7a	4,3 ± 1,0a	2,9 ± 1,1a	2,6 ± 0,8a	3,3 ± 0,8a
FILTR 30%	5,9 ± 1,7a	0,0 ± 0,0a	3,4 ± 0,8a	4,2 ± 0,9a	3,3 ± 1,1a	4,0 ± 0,0a
FILTR 10%	2,6 ± 0,7a	0,0 ± 0,0a	3,1 ± 1,0a	4,7 ± 0,9a	1,3 ± 0,7ab	3,5 ± 0,5a

Tabla1. Efecto sobre la producción de embriones/envase del tratamiento a corto plazo (3días) y largo plazo (60días) con los elicitores (MeJa, BTH, BABA, Filtrado al 30% y 10%) a líneas embriogénicas de tres genotipos de encina (Q8, E2 y E00). Los datos son medias ± error estándar. Seguidas de letras diferentes son significativamente diferentes según la prueba de Rango Múltiple de Duncan, p<0,5

B. Se analizó el CRECIMIENTO DIFERENCIAL MEDIO DIARIO (L-I) DEL MICELIO y LA EVOLUCIÓN DE LA NECROSIS EN LOS EMBRIONES (escala de 0 a 10) EN UN CULTIVO DUAL que se mantuvo a 23±2°C y en oscuridad durante 10días. Se realizó en placas de 90mmØ, con medio SH, colocando 1x1cm de micelio creciendo en PDA-agar y material embriogénico de cada tratamiento de elicitación: 6 y 10 repeticiones por tratamiento y genotipo, incluyendo el “control” de embriones sin elicitar, y un tratamiento “blanco” sin embriones (Figura 1).



Figura 1; CULTIVO DUAL DE EMBRIONES SOMÁTICOS DE ENCINA obtenidos en la Finca de El Encín de Madrid (E00, E2) y Quintos de Mora en Toledo (Q8) tratados con elicitores frente micelio de *Phytophthora cinnamomi* (UEX1) aislada en Valverde de Mérida, Badajoz.

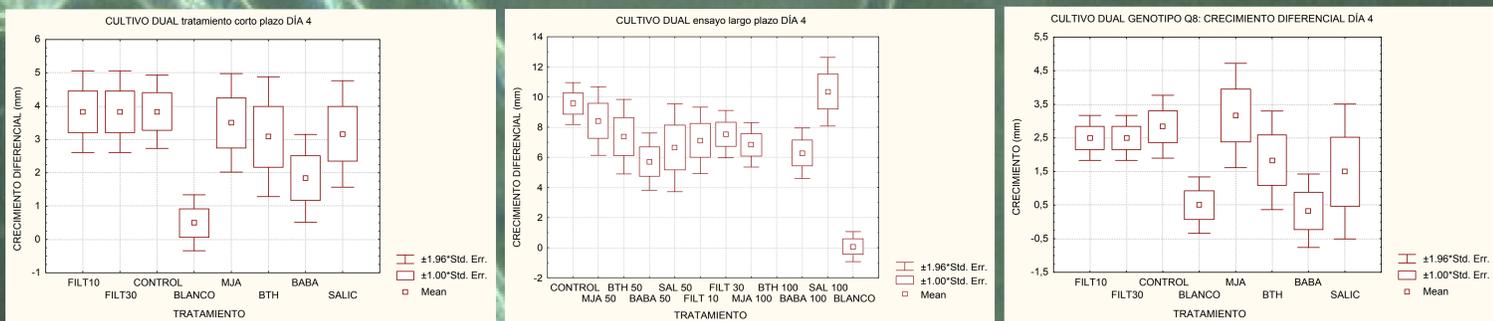


Figura 2. Efecto de los elicitores sobre el crecimiento del micelio de *Phytophthora cinnamomi* en cultivo dual con líneas embriogénicas de encina: Izquierda. Tratamientos de corto plazo; 3 días; Centro. Tratamientos a largo plazo, 60 días. Derecha. Análisis con datos del genotipo Q8 y tratamientos a corto plazo.

Elicitor	Valor medio de la necrosis día7	
	Corto plazo	Largo plazo
4 Control	8,3 ± 0,6 ab	8,9 ± 0,3 a
6 MeJA	7,0 ± 0,6 b	8,5 ± 0,4 ab
8 BTH	8,8 ± 0,4 a	7,7 ± 0,3 bc
BABA	6,7 ± 0,4 b	8,5 ± 0,3 ab
SA	6,7 ± 0,4 b	8,3 ± 0,3 ab
Filtr10%	6,7 ± 0,8 b	7,1 ± 0,4 c
10 Filtr30%	8,0 ± 0,5 ab	7,3 ± 0,4 c

Tabla 2. Efecto del tipo de tratamiento y de los elicitores evaluados sobre el grado de necrosis de embriones somáticos de dos (corto plazo) y tres (largo plazo) genotipos de encina en cultivo dual con *Phytophthora cinnamomi*. Medias seguidas de letras diferentes son significativamente diferentes según la prueba de Rango Múltiple de Duncan, p<0,5

Resultados y Conclusiones

No hubo diferencias significativas entre las dos concentraciones ni entre los dos tiempos de aplicación para la producción de embriones.

Hubo diferencias significativas entre genotipos, y entre los elicitores aplicados a largo plazo. BTH usado 60días necrosó el material y MeJa recuperó la producción del genotipo E2 frente al control.

El cultivo dual detectó un comportamiento diferencial entre genotipos y tratamientos el día 4 del ensayo: 50µM de BABA usado a corto plazo fue el tratamiento que redujo más el crecimiento medio del micelio (Figura2).

Después de llegar el micelio a los embriones, hubo una reducción significativa de la necrosis con los filtrados (FILTR) aplicados a largo plazo y con BABA, SA y FILTR10% aplicados a corto plazo. (Tabla2).

El tratamiento con elicitores genera epítipos o un comportamiento diferente del mismo genotipo frente al cultivo dual con el oomiceto.

El cultivo dual puede considerarse un sistema efectivo de discriminación de respuestas.

Nuestro agradecimiento al Prof. A.Solla de la Universidad de Extremadura (Plasencia) Trabajo financiado por el proyecto nacional AGL2013-47400-C4-1R.

Comunicación disponible en:

