



Fundación
Maní
Argentino

Evaluación del riesgo del consumo de maní infectado con *Thecaphora frezii*.

Dr. Héctor R.
Rubinstein. (IR).

Dr. Martín Theumer.

Dr. Daniel Wunderlin.

Dra. Verónica Mary.

Dra. Silvina Arias.

Dr. Santiago Otaiza.

Mic. Pilar Velez.

WWW.
FUNDACIONMANI.
ORG.AR



1. Evaluación toxicológica del consumo subcrónico de dietas contaminadas con *T. frezii*.

INTOXICACIÓN EXPERIMENTAL SUBCRÓNICA DE RATAS WISTAR

Formulación de las dietas experimentales.

Dieta Base control (DBC)

Dieta Maní Control (1 %, DMC)

Dieta Maní con Carbón (1 %, DMC_{Car})

Dieta con Teliosporas de *T. frezii* (0,2 %, DT)



Intoxicación subcrónica de los animales (180 días).

Parámetros nutricionales: Peso corporal, Ganancia de peso corporal.

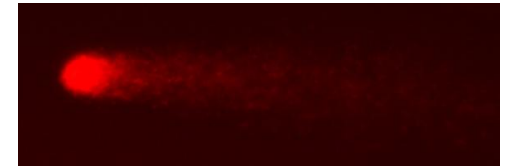
Perfil hematológico: Hemograma

Glucosa, urea, creatinina, proteínas totales, albúmina, Na, K, colesterol total, AST, ALT, FAL, bilirrubina total.

Estudio histopatológico de órganos blanco: Hígado, riñones, pulmones, bazo (120 y 180 días).

Peso de órganos.

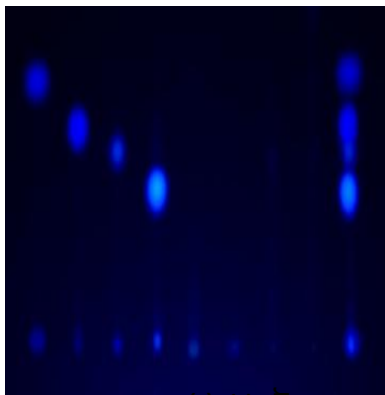
Evaluación histológica: Ligera esteatosis macrovesicular en hígados de DMC, DMCar y DT .



Estudios de genotoxicidad en CMB: (180 días).

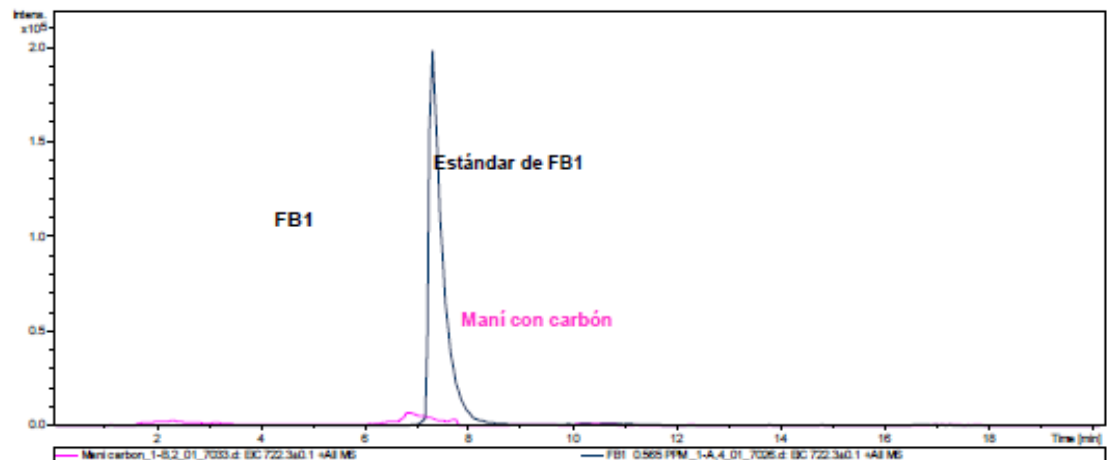
Cometa: Genotoxicidad inducida por DMCar y DT ???

Análisis de micotoxinas en las dietas experimentales y cultivos de *T. frezii*: Aflatoxinas y fumig



DBC
DMC
DMCar
DT

Maní carbón



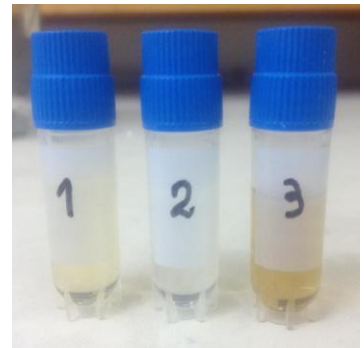
TOXICIDAD *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE *T. frezii*

Preparación de extractos de teliosporas de *T. frezii*.

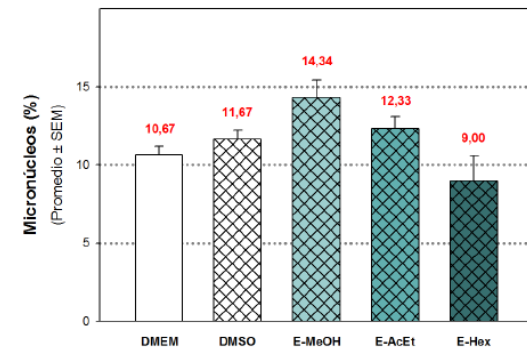
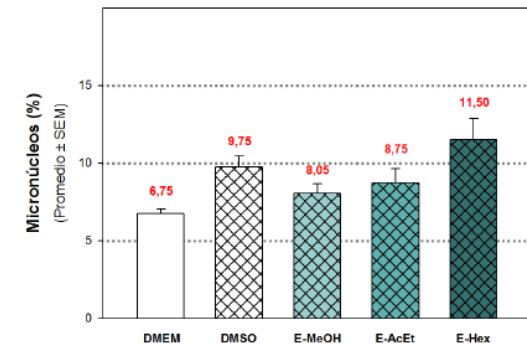
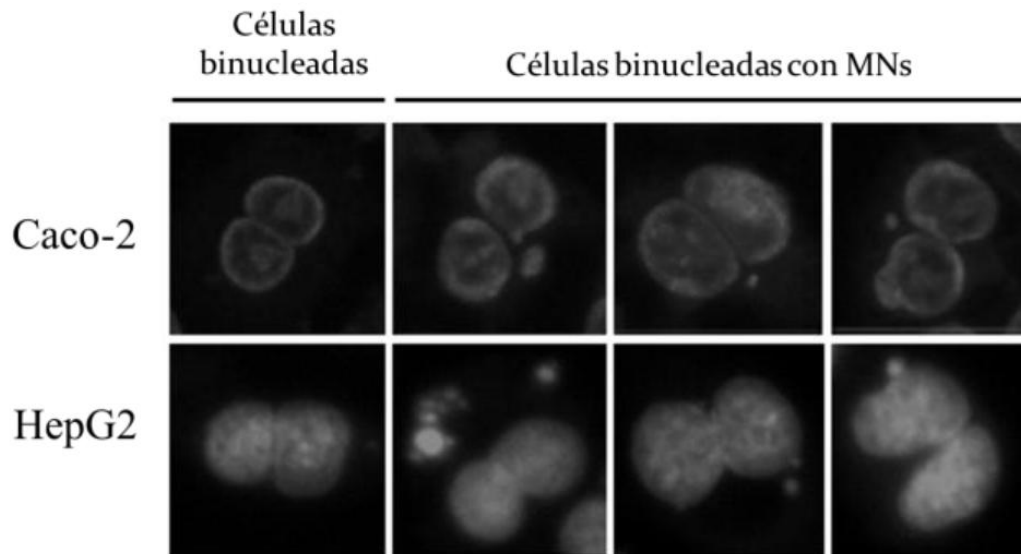
Genotoxicidad:

Test de Ames: +/- S9.

Ensayo de MN:



Hex	AcEt	MeOH
DMSO	DMSO	DMSO



Conclusiones:

Los consumos subcrónicos (180 días) de las dietas contaminadas con *T. frezii*...

- ✓ No causaron alteraciones fisiológicas, nutricionales o degenerativas en órganos seleccionados.

Los extractos de teliosporas de *T. frezii*...

- ✓ No fueron mutagénicos en cultivos de *Salmonella typhimurium*, aún en presencia de un sistema metabólico extracelular.
- ✓ No fueron genotóxicos en líneas celulares de origen intestinal y hepático humanos.

2. Cultivo de maní: Estudio de los mecanismos de infección por *T. frezii*.

Objetivos...

- Caracterizar el perfil de compuestos del “clavo” de *Arachis hypogaea* L., potencialmente inductores de la germinación de las esporas de *T. frezii*.
- Determinar si la presencia de *T. frezii* en el suelo afecta la liberación de compuestos en el “clavo”.

MODELO EXPERIMENTAL

I

	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4
Tierra	+	+	+	+
Teliosporas	-	+	-	+
Semillas de maní	-	-	+	+

S

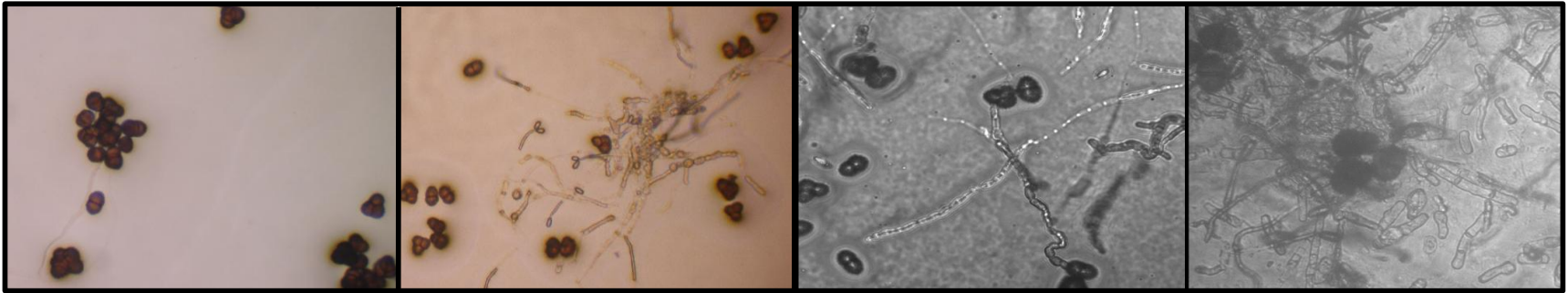
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4
Tierra	+	+	+	+
Teliosporas	-	+	-	+
Semillas de maní	-	-	+	+



Extractos:

Clavos	- MeOH
	- MeOH-H ⁺
Suelo	- AcEt
	- Hex

Screening de extractos con actividad inductora de germinación de teliosporas de *T. frezii*.



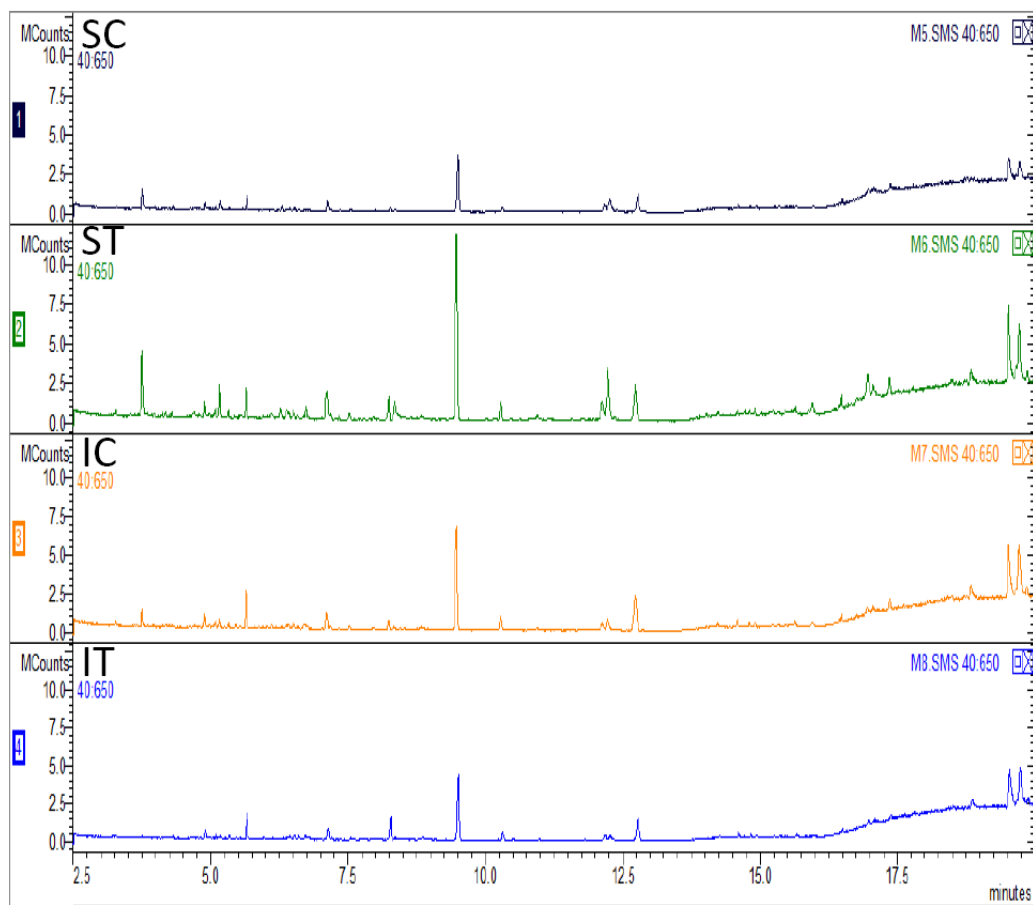
AcEt: Germinación (7 días) + filamentización, sin diferencia entre grupos I vs. S

MeOH: Germinación ($\approx$ 20 días)

Perfil de compuestos mayoritarios en los extractos.

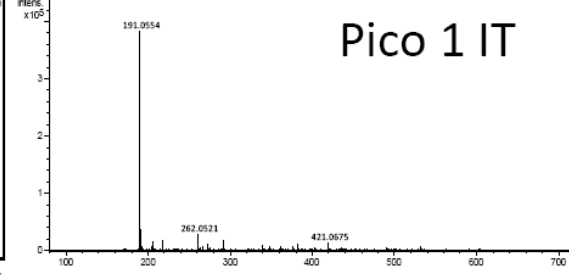
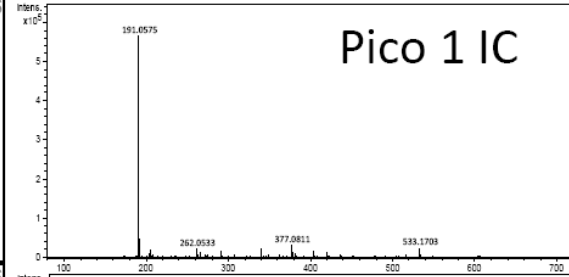
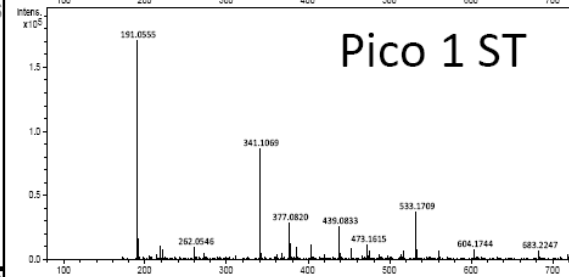
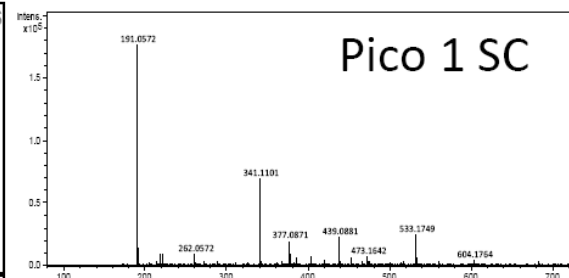
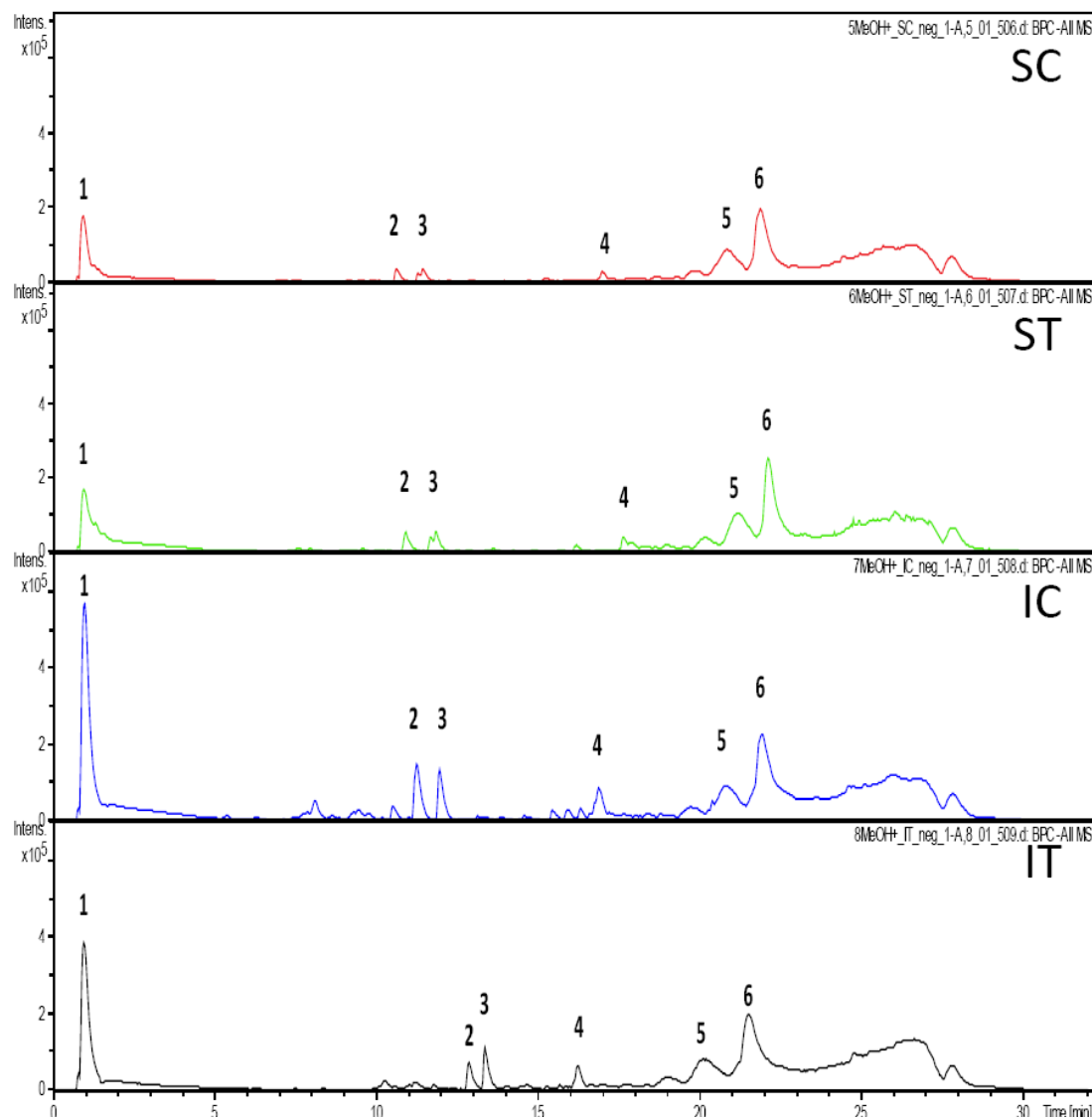
- HPLC-MS (Modo negativo)
- HPLC-MS (Modo positivo)
- GC-MS (post-derivatización con BSTFA)

Análisis de extractos de AcEt por GC-MS post-derivatización con BSTFA.



Tiempo retención tr (min)	Compuesto más probable según NIST MS-Library
3,23	
3,27	Acetic acid, heptyl ester
3,75	Silanol, trimethyl-, phosphate (3:1)/ 2-(4-Methoxyphenyl)-2-(4-trimethoxysilyloxy)propane
4,9	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-
5,1	3-Trifluoroacetoxypentadecane
5,17	x
5,34	Decane, 1-fluoro-
5,47	
5,52	
5,59	
5,65	Dodecanoic acid, trimethylsilyl ester
6,3	Anthranilic acid, N-acetyl-, trimethylsilyl ester
6,75	Azelaic acid, bis(trimethylsilyl) ester
7,12	3-Octadecyne
7,36	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
7,56	9-Eicosyne
7,99	Tetradecanoic acid, 12-methyl-, methyl ester
8,25	Cinnamic acid, p-(trimethylsiloxy)-, trimethylsilyl ester
8,37	n-Hexadecanoic acid
9,5	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester

Análisis de extractos de MeOH-H⁺ por LC-MS, en modo negativo.



Conclusiones:

Actividad inductora de germinación de teliosporas de *T. frezii* :

- Se observó en los dos genotipos de maní, fue extraíble fundamentalmente con AcEt, y probablemente sea inducible por las teliosporas en el suelo.

Análisis químico de extractos:

- **AcEt:** Perfiles químicos similares, principalmente fitoesteroles (campesterol y stigmasterol) y ácidos grasos, que fueron más abundantes en las plantas “susceptibles” expuestas al hongo.
- **MeOH:** Perfil de compuestos similar en ambos genotipos, pero las cantidades relativas de ácido quínico fueron mayores en las plantas “inmunes”.
- ...

Seguimos trabajando...

PICT (A) 2013-0750. Inmunología vegetal: Prevención de infecciones fúngicas en maíz y maní por inducción química de la resistencia sistémica adquirida.

(IR: Martín G. Theumer).

PICT (A) 2015-2810. Bases para una estrategia tecnológica de prevención del carbón del maní por *Thecaphora frezii*.

(IR: Martín G. Theumer).

¡Muchas gracias por su atención!

Martín G. Theumer. Ph.D
Dpto. de Bioquímica Clínica. CIBICI (UNC-
CONICET)

Fac. de Ciencias Químicas. UNC.

mgttheumer@fcq.unc.edu.ar

