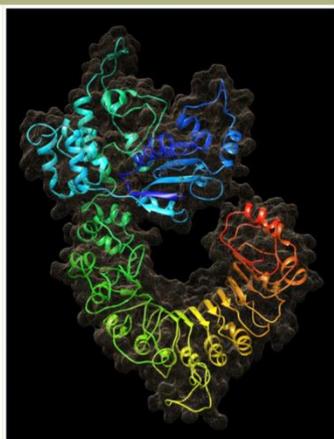
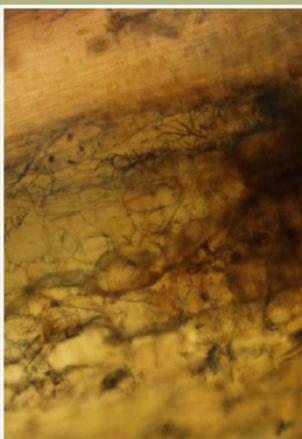


Defensa en plantas contra Fitopatógenos

Programa Nacional de Protección Vegetal

AVANCES PNPV 1135024

Bella Vista, Corrientes - Diciembre 2015



AVANCES PNPV 1135024

**“DEFENSA EN PLANTAS CONTRA
FITOPATÓGENOS”**

1ra Edición

Bella Vista: Ediciones INTA

ISBN: 978-987-521-671-6

100 Ejemplares

Editores: Gochez Alberto M.; Gasoni A. Laura.; Haelterman Raquel M.; Barrera Viviana A. Truol Graciela; Pérez Beatriz A.

Compilación: Gochez Alberto M.; Oviedo Rene E.

Correcciones y Compaginación: Pérez Beatriz A.

Impresiones: La Imprenta Digital SRL. Melo 3711, Florida, Buenos Aires

Diciembre 2015

FOTOS DE TAPA: (IZQUIERDA) Árbol con declinación severa afectado por el síndrome de la “rama seca” del olivo (*Olea europaea* L.) “Arauco” (izquierda) (Guzmán, 2015-IPAVE-CIAP-INTA). (CENTRO) Corte longitudinal de tejidos de tallo de soja colonizados por *Diaporthe caulivora* luego de su inoculación con micelio. Hifas teñidas con azul de tripano (100X) (Montoya, 2015-EEA Balcarce- INTA). (DERECHA) Renderización en 3D (SWISS Model Chimera 1.8 + Pymol v1.8.) de proteína putativa R de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) de resistencia a enfermedad del tipo CC-NBS-LRR (949 a.a. y 109.226 kDa HHMER/Pfam) (Debat, 2015- IPAVE CIAP- INTA).

El presente libro de avances del Proyecto Especifico (PE) 1135024 ha sido publicado gracias al apoyo de los siguientes Proyectos Nacionales (PN) y Proyecto Regional con Enfoque Territorial (PRET):

Integrador PNPV 1135021. Generación de conocimientos para el manejo de enfermedades para una producción agroecológica.

PE PNPV 1135022. Identificación y desarrollo de protocolos para la detección de patógenos de importancia agrícola.

PRET CORRI-1243204. Aportes para el desarrollo sustentable de los departamentos de Bella Vista, Saladas, San Roque, Concepción y Mburucuyá, en la provincia de Corrientes.

Programa Nacional Protección Vegetal

Coordinador de Programa: Dr. Daniel A. Ducasse.

Integrador 1135021:

Generación de conocimientos para el manejo de enfermedades para una producción agroecológica.

Coordinadora: Dras. Graciela Truol y Amelia Laura Gasoni

Proyecto Específico 1135024:

Defensa en plantas contra fitopatógenos.

Coordinador: Dr. Alberto M. Gochez

Prólogo

Se presentan en este libro los avances logrados en diferentes líneas de investigación que componen el Proyecto Específico PNPV1135024 del Programa Nacional de Protección Vegetal del INTA. El eje principal de este proyecto, es el análisis de las interacciones planta/patógeno en diversos patosistemas con la mirada puesta en los mecanismos mediante los cuales las plantas pueden defenderse de los fitopatógenos. En algunos casos se tiende a caracterizar poblaciones de patógeno a fin de evaluar su diversidad o las interacciones de estos entre sí en infecciones mixtas, en otros a comprender los mecanismos de defensa de la planta o inclusive a la interacción del patógeno con su vector. Es un proyecto que apunta a generar conocimientos para su ulterior aplicación al manejo racional y sustentable de las enfermedades que es en definitiva un objetivo fundamental del PNPV.

Nuestro aporte al conocimiento en el área disciplinaria específica de la interacción planta/patógeno puede ser modesto pero sin dudas intenta abordar un gran desafío en la ciencia y la tecnología nacional que implica un gran esfuerzo de los profesionales de la Institución.

Para ellos todo mi reconocimiento y mis felicitaciones.

Daniel Ducasse
Coordinador Programa Nacional
de Protección Vegetal

Introducción

La República Argentina posee una superficie de 376 millones de hectáreas con el 9.5% dedicadas a la producción agrícola (Censo Nacional, MAGyP, 2011). El aporte económico de las producciones primarias y manufacturas de origen agropecuario respecto a las exportaciones abarca 58% del total (INDEC, 2013). A nivel mundial, los microorganismos patógenos producen pérdidas entre 10 y 20% en rendimiento de los cultivos (Oerke, 2006)¹. En Argentina se pierden anualmente entre 4 a 7 millones de ha de producción por enfermedades, lo cual pone de relieve la importancia de identificar y generar fuentes de resistencia a enfermedades, vía priorizada mundialmente para un manejo integrado sustentable para el control de patógenos. Atento a prioridades y demandas de las regiones que necesitan mantener el status competitivo de sus cultivos sin poner en riesgo la sostenibilidad ambiental, surge el **Proyecto Especifico (PE) 1135024** “Defensa en planta contra fitopatógenos”. Este proyecto, incluido en el **Programa Nacional de Protección Vegetal** (PNPV), Cartera de Proyectos 2013 de INTA y parte del **Proyecto Integrador (I) 1135021** Generación de conocimientos para el manejo de enfermedades para una producción agroecológica. El **PE 1135024** focaliza conceptualmente en el estudio de la interacción patógenos-cultivos de importancia económica y ambiente-manejo para cada región.

Objetivo General

Caracterizar genética y molecularmente la interacción planta-patógeno, los mecanismos de resistencia en cultivos de importancia regional y seleccionar genotipos resistentes a fitopatógenos.

¹Oerke EC. 2006. Crop losses to pests. The Journal of Agricultural Science 144(1):31-43.

Objetivos Específicos

Estudiar la interacción planta-patógeno y agentes vectores de virosis en cultivos de hortalizas, frutales, trigo

Evaluar e identificar genotipos con resistencia a fitopatógenos y a productos fitosanitarios en cultivos de hortalizas, frutales y trigo.

Estructura del PE

Las propuestas fueron consensuadas con los Centros Regionales y de Investigación. En base a ello se estructuraron las líneas de acción que a su vez tuvieron un correlato con las demandas de Programas Nacionales y PReTs como se detalla más adelante.

El PE se estructura fundamentalmente sobre tres metas:

- a-** Obtener información sobre genes y proteínas relacionadas con la interacción planta-patógeno-ambiente y determinar los mecanismos de resistencia de microorganismos frente a fitosanitarios
- b-** Caracterizar molecularmente las poblaciones de microorganismos patógenos y vectores
- c-** Identificar/obtener genotipos para resistencia/tolerancia a patógenos y generación de fuentes de resistencia no convencionales.

Los cuales engloban a los tres productos que posee este PE y que servirán de marco para separar en capítulos los avances presentados en este libro:

Productos

P1. Información sobre genes y proteínas relacionadas con la interacción planta-patógeno obtenida. Mecanismos de resistencia de fitopatógenos a productos fitosanitarios determinados.

P2. Poblaciones de fitopatógenos e interacciones con sus vectores caracterizadas molecularmente.

P3. Evaluación de genotipos resistentes a fitopatógenos y generación de fuentes de resistencia no convencionales.

INDICE DE RESUMENES

Sección 1. Información sobre genes y proteínas relacionadas con la interacción planta-patógeno obtenida. Mecanismos de resistencia de fitopatógenos a productos fitosanitarios determinados.

CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA Y GENÉTICA DE AISLAMIENTOS DE *Grapevine leafroll associated virus 2* PROVENIENTES DE MENDOZA, ARGENTINA.

LANZA VOLPE, M., MOYANO, S. y GOMEZ TALQUENCA, S..... 13

ESTUDIOS SOBRE RESISTENCIA A CANCROSIS, BLACK SPOT, CVC, Y HLB EN EL GERMOPLASMA CÍTRICO DISPONIBLE.

GOCHEZ, A. M.; CANTEROS, B. I.; LEZCANO, C.16

ESTUDIOS DE LOS MECANISMOS GENÉTICOS INVOLUCRADOS EN LA RESISTENCIA DE LAS PLANTAS A *Plum pox virus* (Sharka).

DEBAT, H. J.; DAL ZOTTO, A.
.....19

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GENES DE DEFENSA EN YERBA MATE.

DEBAT, H. J.; LOPEZ LAMBERTINI, P.; DUCASSE, D. A. 22

DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS POTENCIALMENTE INVOLUCRADAS EN LA INTERACCIÓN DE PATÓGENOS CON SU HOSPEDANTE. MODELO DE ESTUDIO: FITOPLASMAS.

SAAVEDRA PONS, A. B.; GUZMÁN, F. A.; FERNÁNDEZ, F. D.; PÉREZ GROSSO, T.; LUQUE, A.; CONCI, L.R.24

ESTUDIOS COMPARATIVOS DE NIVEL DE EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON RESISTENCIA EN OLIVO (*Olea europaea* L.) cv "ARAUCO" INFECTADO Y NO INFECTADO CON *Xylella fastidiosa*.

GUZMÁN, F. A.; HAELTERMAN, R. M.; TOLOCKA, P. A.; OTERO, M. L.;
PACCIORETTI, M.27

CARACTERIZACIÓN DEL TIPO DE INTERACCIÓN EN
INFECCIONES MIXTAS DE BEGOMOVIRUS EN TOMATE.
BORNANCINI, V. A.; VAGHI MEDINA C. G.; RANIERI, V. V.; PUYANÉ, N.;
LÓPEZ LAMBERTINI, P.M.30

Sección 2. Poblaciones de fitopatógenos e interacciones con
sus vectores caracterizadas molecularmente.

DIVERSIDAD GENÉTICA DEL *Wheat streak mosaic virus*
(WSMV) Y DE SU VECTOR *ACERIA TOSICHELLA* KEIFER EN
ARGENTINA.

ALEMANDRI, V.; LÓPEZ LAMBERTINI, P.M.; TRUOL, G.33

AVANCES EN LA DETECCIÓN DE BACTERIAS
ENDOSIMBIOTES DE *Bemisa tabaci* (Gennadius), PARA EL
ANÁLISIS DE SU INTERACCIÓN CON VIRUS (GEMINIVIRUS Y
CARLAVIRUS), ESPECIE DE MOSCA BLANCA, CULTIVAR DE
POROTO E INSECTICIDA.

MATTIO, M. F.; TAPIA, S.; ALEMANDRI, V.; TRUOL, G.....36

IDENTIFICACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS VIRALES
INVOLUCRADAS EN LA INDUCCIÓN DE SÍNTOMAS
PRODUCIDOS POR POTYVIRUS EN ALLIACEAE.

CELLI, M. G.; PEROTTO, M. C.; LUCIANI, C.; MERINO, M. C.; STRUMIA,
G.; POZZI, E.; CONCI, V. C.....39

DIVERSIDAD MOLECULAR Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE
POBLACIONES DE *Watermelon mosaic virus* Y SU ASOCIACIÓN
CON LA PATOGENICIDAD Y SEVERIDAD DE LOS SÍNTOMAS.

PEROTTO, M. C.; CELLI, M. G.; POZZI, E.; LUCIANI, C.E.; MERINO, M. C.;
CONCI, V.C.42

INTERACCIÓN SOJA-SMV-B. *japonicum*: DEFENSA,
METABOLISMO PRIMARIO Y ESTADO REDOX CELULAR.

RODRIGUEZ, M.; ANDREOLA, S.; LASCANO, R.....45

Sección 3. Identificación/obtención de genotipos frente a fitopatógenos y generación de fuentes de resistencia no convencionales.

RESPUESTA DE OLIVO (*Olea europea* L.) FRENTE A INFECCIÓN NATURAL POR MICROORGANISMOS.

PÉREZ, B. A.; MEMA, V.; OTERO, M. L.; HAELTERMAN, R.; ROCA, M.; MATÍAS, C.; BERRETTA, M.F.; FARINON, M.O.; GALLO, S.; MARTÍN, D.....49

REACCIÓN DE OLIVO (*Olea europea* L.) “CAROTINA” FRENTE A *Pestalotiopsis* (AMPHISPHAERIAEAE) Y *Phoma* cf. *glomerata* (Peyronellaea).

PÉREZ, B. A.; MEMA, V.; OTERO, M. L.; HAELTERMAN, R.; ROCA, M.; MATÍAS, A. C.; BERRETTA, M.F.; FARINON, O.M.; GALLO, S.; MARTÍN, D.51

EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN LA INTERACCIÓN DE CULTIVARES TOLERANTES Y SUSCEPTIBLES DE AJO (*Allium sativum* L.) AL *Allexivirus Garv-A*.

GARCÍA LAMPASONA, S.; CONCI, V.; MERINO, M. C.; GIMENEZ, M., CELLI, M., STRUMIA, G.53

CARACTERIZACIÓN POBLACIONAL DE *Pyricularia oryzae* EN ARGENTINA Y EVALUACIÓN DE LA VIRULENCIA DE AISLAMIENTOS DEL PATÓGENO CON RESPECTO A GENES DE RESISTENCIA EN ARROZ.

PEDRAZA, M.V., ASSELBORN, M.N., BOUVET, M., BURDYN, L., MAUMARY, R.55

EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE GENOTIPOS DE ARROZ FRENTE A AISLAMIENTOS DE *Pyricularia oryzae* NATIVOS.

ASSELBORN, M.N., BOUVET, M., MAUMARY, R.; BONELL, L.; GALVÁN, F.; BURDYN, L., PEDRAZA, M.V.58

CANCRO DEL TALLO POR *Diaporthe caulivora*: ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LAS VÍAS DE INFECCIÓN DENTRO DE PLANTAS DE SOJA.

MONTOYA, M.61

Sección 1.

Información sobre genes y proteínas relacionadas con la interacción planta-patógeno obtenida. Mecanismos de resistencia de fitopatógenos a productos fitosanitarios determinados

Caracterización biológica y genética de aislamientos de *Grapevine leafroll associated virus 2* provenientes de Mendoza, Argentina

LANZA VOLPE, M.; MOYANO, S.; GOMEZ TALQUENCA, S.
511000 - EEA Mendoza INTA.gomez.talquenca@inta.gob.ar

El enrollado de la hoja de la vid es una de las enfermedades virales más importantes que afectan al cultivo de la vid en el mundo. Uno de las 5 especies virales asociadas a esta enfermedad es *Grapevine leafroll associated virus 2* (GLRaV-2) perteneciente al género *Closterovirus*. Esta especie viral tiene dos características remarcables: una muy alta variabilidad genética (al día de hoy se han descrito seis linajes genéticos distintos) y la capacidad de ser transmisible mecánicamente por inoculación por savia a huéspedes herbáceos, específicamente, del género *Nicotiana*. Esta característica es única entre todos los virus asociados a la enfermedad del enrollado de la hoja. La presencia de este virus en viñedos de Mendoza, Argentina, ha sido descrita previamente, pero no se disponía de información referida a la variabilidad genética de los aislamientos locales, como así tampoco respecto de su comportamiento biológico. A partir de una colección de aislamientos de campos, se realizó una caracterización genética por secuenciación de un fragmento del genoma de los mismos. Mediante RT-PCR se amplificó el fragmento correspondiente a la región correspondiente a los ORF codificantes para la cápside proteica (CP) CP, la proteína de 19 KDa (p19) y la proteína de 24 KDa (p24). Los datos de secuencia y las inferencias filogenéticas obtenidas de los mismos demostraron que los aislamientos locales se podían asignar a cuatro de los seis grupos monofiléticos descritos en el mundo. Para determinar características biológicas de estos aislamientos, fueron transmitidos inicialmente a *Nicotiana benthamiana*, y desde ésta a un conjunto de especies que comprendían *N. occidentalis*, *N. rustica*, *N. clevelandii*, y *N. tabacum* cv. White

Burley y Samsun. Al menos un aislamiento de cada uno de los cuatro linajes genéticos identificados fue transmitido mecánicamente a estos huéspedes, y la progresión de síntomas y el detalle de los mismos fueron registrados. La sintomatología fue muy variable tanto en función de las especies hospederas, como así también de los aislamientos virales. Fue destacable que algunas combinaciones aislamiento/huésped mostraron reacciones incompatibles, proveyendo un sistema interesante para el estudio de mecanismos de resistencia al virus con selectividad hacia distintitos aislamientos, o generales. Adicionalmente a esto, se identificaron por primera vez nuevos huéspedes de GLRaV-2 como son *N. rustica* y *N. tabacum* cv. Samsun y White Burley.

Cuadro 1. Identities entre las secuencias aminoacídicas deducidas de CP, p19 y p24 entre los distintos grupos y dentro de (en negrita) cada uno de los grupos filogenéticos identificados en Argentina

	CP			p19			p24		
	93/955	H4	PN	93/955	H4	PN	93/955	H4	PN
RG	90	88	90	78-79	75	76	77	78-79	80-82
PN	95-97	92-94	97-100	94-97	90-91	96-100	88-93	88-91	96-100
H4	93-94	98		91-92	99		88-89	99	
93/955	99-100			99-100			96-100		

Lanza Volpe, M., Moyano, S. y Gómez Talquenca, S. 2015. **Genetic variability of *Grapevine leafroll associated virus 2* isolates from Argentina.** Proceedings of the 18th Congress of ICVG, Ankara, Turkey, September 7-11.

Lanza Volpe, M., Moyano, S., Lijavetzky, D. and Gómez Talquenca, S. 2015. **Partial molecular and biological characterization of *Grapevine leafroll associated virus 2* isolates from Argentina.** Journal of Plant Pathology *in press* DOI: 10.4454/JPP.V9712.002.

Moyano, S., Lanza Volpe, M. y Gómez Talquenca, S. 2013. **Secuenciación parcial de un aislamiento argentino de *Grapevine leafroll associated virus 2*, con características biológicas distintivas.** VIII Encuentro Latinoamericano y del Caribe de Biotecnología, Mar del Plata, 18-22 Noviembre.

Moyano, S., Lanza Volpe, M. y Gómez Talquenca, S. 2013. **Evaluación de genes normalizadores candidatos para análisis de expresión génica en diferentes especies de *Nicotiana*.** VIII Encuentro Latinoamericano y del Caribe de Biotecnología, Mar del Plata 18-22 Noviembre.

Lanza Volpe, M.; Monti, R.; Moyano, S. and Gómez Talquenca, S. 2012. **Host Range and Biological Characterization of Argentinean Isolates of *Grapevine leafroll associated virus 2*.** Proceedings of the 17th Congress of ICVG, Davis, California, USA October 7-14.

Estudios sobre resistencia a cancrrosis, black spot, CVC, y HLB en el germoplasma cítrico disponible.

GOCHEZ, A. M.; CANTEROS, B. I.; LEZCANO, C.

Col.: CHELOTTI, M. L.; HERMOSIS, F.; SOLIZ, J.; BENITEZ, R.; VALLEJOS, A.; VALLEJOS, V.; MONZON, H.432000 - EEA Bella Vista INTA. gochez.alberto@inta.gob.ar

La cancrrosis de los cítricos produce daños considerables en la fruta, pero su importancia se basa principalmente en las condiciones cuarentenarias del agente causal para la exportación de frutas hacia países libres de esta enfermedad. El Laboratorio de Sanidad Vegetal –Fitopatología Citrus (LSV-FC) de la EEA Bella Vista ha mantenido desde su creación en 1934 y, más intensamente desde la epidemia de 1977 a la fecha, un programa de investigación sobre caracterización, manejo y control de la cancrrosis de los citrus en base a utilización de productos químicos como el cobre, bacteriófagos nativos y bacteriocinas. Se realizaron titulaciones de infectividad en hojas de pomelo (*Citrus paradisi* Macf) “Duncan” y lima (*C. aurantifolia*[Christm.] Swingle) “Key” en condiciones controladas de cámara de cría y se compararon los resultados. En base a estos patrones se realizarán titulaciones de infectividad para materiales cítricos promisorios, híbridos no comerciales y cítricostransgénicos, utilizando para este fin una cámara de bioseguridad especialmente acondicionada bajo el marco regulatorio de la CONABIA (2013). En todos los tipos de citrus testados, se observó que la resistencia del mesófilo a la infección se incrementó a medida que las hojas maduraron. Se determinó en qué grado las variedades comerciales de citrus difieren en cuanto a su susceptibilidad a la cancrrosis, el que va desde muy susceptible (lima Key, pomelo) a resistentes (kumquat, lima Tahití, algunas mandarina como satsuma y Ponkan, naranja Cocco); intermedias limón y algunas naranjas y mandarinas. El “black spot” (BS) es una de las enfermedades más limitantes de la rentabilidad del cultivo cítrico. Afecta tanto la calidad como los rendimientos al causar manchas en

frutos, y en casos de infecciones severas, caída prematura de los mismos, pero el principal perjuicio que posee por su carácter de cuarentenaria es el económico. Se realizan ensayos de campo en lotes de mandarina Nova y limón Eureka para evaluar mezclas pulverizables y enmiendas para el control de BS así como ensayos de época de aplicación del compuesto azoxistrobin para el control de “mancha negra” en frutos de limón. Se utilizó la amplificación de ADN por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detección del hongo *Guignardia citricarpa* y *G. mangifera* causante del “moteado negro”, así como también para caracterizar la diversidad poblacional. La “clorosis variegada de los Citrus” (CVC) causada por *Xylella fastidiosa* causó la disminución en la producción de naranjas e imposibilidad de comercialización de frutas frescas debido a la pérdida de calidad. Se logró poner a punto un método de diagnóstico molecular para presencia del organismo causal del CVC utilizando PCR en base a diferentes métodos de extracción de ADN para material vegetal de distintas especies cítricas y se lo comparó con métodos serológicos (DAS-ELISA KIT de AGDIA) estandarizados. Se continúa, además, con los estudios de evaluación de resistencia a la infección con *X. fastidiosa*. Se logró poner a punto un método de diagnóstico molecular de presencia del organismo causal del CVC utilizando PCR en base a diferentes métodos de extracción de ADN para material vegetal de distintas especies cítricas y se lo comparó con métodos serológicos (DAS-ELISA KIT de AGDIA, peroxidase label) estandarizados. Se continúa además trabajos de evaluación de resistencia a la infección con *Xylella* en plantas transgénicas en cámara de aislamiento acondicionada para el caso, realizándose injertos para realizar experimentos de sobre-injerto de yemas infectadas con *Xylella* sobre injertos transgénicos. En los últimos años, el HLB, enfermedad causada por *Candidatus Liberibacter asiaticus*, puso en riesgo a toda la citricultura argentina luego de su detección en la provincia de Misiones. Dada la ausencia de la enfermedad en la zona citrícola de Corrientes, se realizan análisis de muestras mediante PCR para la detección de la bacteria en base a

aislamiento de ADN de material vegetal de citrus mediante protocolo de extracción de ADN desde nervaduras y pecíolos del material vegetal con síntomas característicos de la enfermedad, así como también aislamiento de ADN del psílido *Diaphorina citri* para la detección del organismo causal del HLB.

Gochez, A. M., Minsavage, G. V., Potnis, N., Canteros, B. I., Stall, R. E., & Jones, J. B. 2015. **A functional XopAG homologue in *Xanthomonas fuscans* pv. *aurantifolii* strain C limits host range.** Plant Pathology. doi: 10.1111/ppa.12361.

Moschini, R. C.; Canteros, B. I.; Martíneza, M. I. De Ruyvera, R. 2014. **Quantification of the environmental effect on citrus canker intensity at increasing distances from a natural windbreak in northeastern Argentina.**Australasian Plant Pathology. DOI 10.1007/s13313-014-0305-8.

Canteros, B. I.; Solíz, J.; Benítez, R.; Hermosís, F.; Vallejos, A.; Vallejos, V.; Monzón, H. 2015. **Variación natural de la infección de cancrrosis, sarna y black spot en limón "Eureka" en parcelas sin pulverizaciones en Corrientes.**VIII Cong. Argentino Citricultura. p. 173. ISBN: 978-987-33-8390-8.

Chelotti, M. L.; Canteros, B. I. 2015. **Efecto de la concentración de ADN bacteriano en la eficacia del diagnóstico de HLB mediante PCR convencional y Q-RT PCR de una muestra positiva de citrus.**VIII Cong. Argentino Citricultura. p. 177 - 178. ISBN: 978-987-33-8390-8.

Chelotti, M. L.; Solíz, J.; Hermosís, F.; Benítez, R.; Canteros, B. I. 2015. **Incidencia de plantas con síntomas de clorosis variegada de los citrus (CVC) en un lote mixto de diversas variedades cítricas y diagnóstico mediante PCR.**VIII Cong. Arg. Citricultura. p. 179 - 180. ISBN: 978-987-33-8390-8.

Estudios de los mecanismos genéticos involucrados en la resistencia de las plantas a *Plum pox virus* (Sharka).

DEBAT¹ H. J.; DAL ZOTTO¹, A.

Colaboradores: MARINI² D.; FARRANDO² R.; PORCEL³ L.

1-151000- IPAVE INTA, 2 514000- EEA Junín INTA, 3 513000- EEA Rama Caída INTA. debat.humberto@inta.gov.ar; dalzotto.angelica@inta.gov.ar

La enfermedad de “Sharka”, causada por el *Plum pox virus* (PPV), es la más importante de los frutales de carozo por las pérdidas económicas que produce. En cultivares susceptibles puede provocar una disminución del 100 % de la producción, por la caída prematura de frutos antes de cosecha. Al ser el PPV un patógeno cuarentenario, el empleo de variedades de *Prunus* resistentes al virus es el único método de control definitivo de la enfermedad. Sin embargo, después de décadas de estudio en todo el mundo, solamente unos pocos genotipos resistentes han sido encontrados. Un mejor conocimiento de la interacción PPV-hospedero, permitiría identificar los factores requeridos por el virus para que exista infección y ayudaría a desarrollar futuros planes de búsqueda de resistencia genética. En la Región de Cuyo existen cultivares de ciruelos, japonés y europeos, que se comercializan para la industria, consumo fresco y algunos como portainjertos que son susceptibles a PPV, si bien algunos de sus aislamientos ya han sido diagnosticados y parcialmente caracterizados, resulta imprescindible determinar cuáles de esas variedades se comportarían resistentes o tolerantes al virus para asegurar la oferta en calidad y sanidad al mercado nacional e internacional. Nuestro objetivo se centra en la búsqueda de cultivares de ciruelos de la Región de Cuyo, resistentes a PPV, mediante el estudio de los mecanismos genéticos involucrados, basados en la presencia y generación de los microRNAs que intervienen en la defensa de la planta frente al virus, y a las variaciones de respuesta que se producen en el hospedante específico de esa

región, variedad y a la raza de PPV. La estrategia de estudio de la respuesta en plantas hospedantes, implicó desarrollar 17 juegos de sondas (“primers”) que hibridan en los genomas de *Prunus persicae* y *Arabidopsis thaliana*. Se comenzaron estudios de transmisión viral e interacción planta-patógeno-ambiente utilizando como inóculo tejido de hojas de ciruelo infectadas con PPV y plantas de *Arabidopsisthaliana* col-0 crecidas en terrinas en un fitotrón bajo condiciones controladas de temperatura, luz y humedad para ser inoculadas. El resultado de las inoculaciones, se confirma por ELISA o PCR y evaluando periódicamente la aparición y severidad de síntomas y la presencia del microorganismo. A su vez se comenzaron purificaciones de RNA total de tejido de hojas de ciruelo infectadas con PPV y de controles negativos (*Prunus* no infectados) para estudios de la expresión de genes y su cuantificación por qRT-PCR. Se utilizan primers que hibridan en la región de la cápside proteica (CP) del genoma de PPV y primers de genes housekeeping (*TEF2*, *UBQ10* y *RPII*) de *Prunus* como control interno para normalizar los niveles de RNAm entre diferentes muestras de frutales. Se realizará la detección y cuantificación de la carga viral por qRT-PCR en plantas infectadas con y sin síntomas y en los respectivos controles, para correlacionar los niveles de expresión con carga viral y determinar la capacidad del patógeno de multiplicarse y distribuirse en forma sistémica en la planta. El desafío de este estudio es poder conocer los mecanismos genéticos involucrados en la interacción PPV-hospederos, las nuevas fuentes de resistencia natural al virus de sharka que puedan ser utilizadas en futuros planes de mejoramiento de frutales de carozo, y la posibilidad de caracterizar la resistencia al virus *Plum pox*.

Marini, D.; Rosini, M.; Dal Zotto, A.; Porcel, L.; Arroyo, L. 2015. **Capítulo 5. Frutales de carozo: *Plum pox virus* (Sharka).** En Plagas cuarentenarias de frutales de la República Argentina. Eds: M. Rossini, Juan P. Agostini , D. Dummel. Edición INTA 2015. ISBN 978-987-521-627-3

Marini, D.; Farrando, R.; Porcel, L.; Ojeda, M. E; Picca, C.; Fuentes,C., Dal Zotto, A., Teich, I. 2015.**Monitoring of *Plum pox virus* concentration at different plant heights throughout the year in prunes (*Prunus domestica*) in Argentina.**ISHS Acta Horticulturae 1063. ISSN 0567-7572.

Dal Zotto, A.; Balzarini, M.; Raigón, J. M.; Rosini, M., Ducasse, D.A. 2014. ***Plum pox virus* in Japanese plum from Argentina: Serological detection and molecular characterization of an isolate from cv. Red Beauty.** Journal of Phytopathology vol. 162 (1): 55-60. ISSN: 1439-0434.

Marini D.B., Farrando R. J., Ojeda M.E. Dal Zotto, A. 2013. **Preliminary results on Studies of resistance to *Plum pox virus-D* in *Prunus* in Argentina.** PETRIA 22 (3): 399-404. ISSN: 1120-7698.

Identificación y caracterización de genes de defensa en yerba mate

DEBAT, H. J.; LOPEZ LAMBERTINI, P.; DUCASSE, D. A.
151000- IPA VE INTA. debat.humberto@inta.gob.ar

La yerba mate (*Ilex paraguariensis*) es una planta no-modelo, particularidad que ha limitado el uso de técnicas de biología molecular en la evaluación de los recursos genéticos disponibles y en el mejoramiento de caracteres de importancia agronómica de la especie. Hasta hace muy poco tiempo se carecía de información de secuencias de ADN. Recientemente se realizó una secuenciación del transcriptoma de yerba mate mediante el uso de la tecnología de secuenciación masiva NGS. Esta información se convierte en un recurso valioso para el mejoramiento genético y proporciona un marco de referencia para conducir nuevos estudios dirigidos a definir el rol de cada transcripto, como por ejemplo el conjunto de genes de resistencia a patógenos de la yerba mate. Este trabajo exploró y descubrió una vasta colección de transcriptos de *I. paraguariensis* (Debat et al. 2014) utilizando como germoplasma la línea Pg538, material elite desarrollado por el INTA EAA-Cerro Azul de Misiones (Pg538/90 se conoce como progenie "biclinal" por el cruzamiento entre los cultivares CA 8/74 INTA (♂) y CA 1/74 (♀)), ambos progenitores fueron los primeros seleccionados, evaluados e inscriptos en el INASE.

Los genes de resistencia a patógeno (genes R), generalmente "NBS-LRR" (nucleotide-binding-sites and leucine-rich-repeats,) juegan un papel central en la defensa de las plantas contra enfermedades. Numerosos genes R se han clonado y caracterizado y transferido a partir de diferentes especies de plantas durante las últimas décadas y conforman la mayor fuente durable de resistencia a enfermedades utilizada en programas de mejoramiento tradicionales y no tradicionales. Estos genes NBS-LRR codifican proteínas con un dominio amino-terminal variable, un sitio de unión a nucleótidos central

(NBS) y un dominio carboxi-terminal rico en repeticiones de leucinas (LRR). El objetivo fue la identificación y comparación de genes asociados con la defensa en una librería de expresión de yerba mate. En este escenario se ha iniciado el censado de esta biblioteca y se han identificado una decena de potenciales genes R. Es importante destacar que no existe en la actualidad ningún registro en la literatura global sobre este tipo de genes en yerba mate. Entre los candidatos obtenidos, se anotó estructuralmente y se identificaron dos genes con gran similitud al clásico gen RPM1 de *Arabidopsis* que confiere resistencia a bacterias como *Pseudomonas syringae* y al gen N que confiere resistencia a virus en tabaco y tomate. Se proyecta avanzar con el censado y el análisis molecular-estructural de los genes candidatos.

Debat, H. J., Grabiele, M., Aguilera, P. M., Bubillo, R. E., Otegui, M. B., Ducasse, D. A., & Marti, D. A. 2014. **Exploring the genes of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) by NGS and de novo transcriptome assembly.** PloS one, 9(10), e109835.

Detección y caracterización de proteínas potencialmente involucradas en la interacción de patógenos con su hospedante. Modelo de estudio: Fitoplasmas

SAAVEDRA PONS, A. B.; GUZMÁN, F. A.; FERNÁNDEZ, F. D.; PÉREZ GROSSO, T.; LUQUE, A.; CONCI, L. R.

Colaboradores: ARCE, W.; BRANDIMARTE, S.

151000- IPAVE-INTA. saavedrapons.amalia@inta.gob.ar

El genoma de fitoplasmas presenta genes que codifican, en base a la presencia de péptidos señal N-terminal (SP), proteínas que son secretadas. En el fitoplasma *Aster yellows witches' broom* (AY-WB, 16SrI-B) se identificaron 56 proteínas secretadas (SAP), algunas con señal de localización nuclear. Estas SAP son proteínas efectoras putativas, potencialmente implicadas en la interacción con los componentes de la planta y de células de insectos. Con el objetivo de identificar proteínas efectoras de fitoplasmas nativos se tomó como referencia SAP11 de AY-WB, potencial proteína efectora que se dirige a los núcleos de las células hospedantes vegetales. Para determinar si un gen homólogo para SAP11 (AYWB_370) se expresa en plantas infectadas con el fitoplasma nativo *Aster yellows-Argentinean Catharanthus Little Leaf* (AY-ACLL, 16SrI-S), se realizó RT-PCR a partir de RNA total para la detección de transcritos en plantas infectadas de vinca. Se detectaron bandas del tamaño esperado lo que sugiere que un gen homólogo a AYWB_370 se expresa durante la infección con AY-ACLL. El análisis bioinformático de la secuencia inesperadamente mostró la presencia de un codón de parada ubicado en la señal de localización nuclear. Eliminando dicho codón y a partir de la secuencia de este gen, se produjo en un sistema bacteriano la proteína recombinante SAP11ar con la cual se inoculó un conejo para la obtención del antisuero específico. Con este antisuero, en ensayos de reconocimiento por NC-ELISA, se detectó la proteína SAP11ar de interés en plantas infectadas, sin reacción con planta sana. Así mismo, el análisis mediante

western blot permitió detectar la proteína SAP11ar en extractos proteicos provenientes de raíces de plantas de vinca infectadas con el fitoplasma AY-ACLL, no así con planta sana. El antisuero generado fue probado, en ensayos de reconocimiento mediante NC-ELISA, frente a plantas infectadas con otros grupos de fitoplasmas nativos (16SrIII, VII y XIII). Se observó reacción con plantas de vinca infectadas con los fitoplasmas en estudio, no así con planta sana. En vista a los resultados obtenidos, se intentó develar la identidad de la proteína efectora detectada en cada fitoplasma analizado. Para ello, los fragmentos amplificados mediante RT-PCR a partir de RNA total de plantas infectadas con cada fitoplasma nativo empleando cebadores específicos para el gen que codifica SAP11ar, fueron secuenciados y analizados bioinformáticamente. Mediante BLASTN se encontró homología entre la secuencia obtenida con el grupo 16Sr III (X-disease) y secuencias de proteínas efectoras. El análisis mediante BLASTP de la proteína codificada por dicho gen mostró una identidad comprendida entre 49 y 56% en un porcentaje de cobertura del 90-100% con proteínas del mismo grupo. Las proteínas efectoras deben cumplir con dos requisitos fundamentales para ser consideradas como tal, la presencia de SP y ausencia de dominios de transmembrana en la proteína madura. Así, la secuencia aminoacídica fue analizada con los programas iPSORT y SignalP, detectando un SP en los 30 primeros aa y un sitio de clivaje entre las posiciones 32 y 33, respectivamente. Mediante los programas TMHMM y TMPred se confirmó la carencia de secuencias transmembrana. De esta manera es posible concluir que se ha identificado una nueva proteína efectora perteneciente a un fitoplasma nativo del grupo 16Sr III. Mediante el estudio de proteínas efectoras se pretende contribuir al entendimiento de los mecanismos relacionados con la patogenicidad de los fitoplasmas exclusivos de nuestra región y su interacción con sus hospedantes. Este proyecto fue financiado por el PICT 2010-0604.

Conci, L.; Saavedra Pons, A.; Guzmán, F.; Fernández, F.; Galdeano, E.; Pérez Grosso, T.; Torres, L.; Meneguzzi, N. 2014. **Advances in knowledge about phytoplasma diseases in Argentina.** En **“Phytoplasmas and phytoplasma diseases management: how to reduce their economic impact.** Chapter 2: The phytoplasmas and phytoplasma vectors in COST FA0807 international Countries. A. Bertaccini (ed.). Bologna, Italy. ISBN 978-88-909922-0-9.

Conci, L.; Guzmán, F.; Fernández, F.; Galdeano, E.; Pérez Grosso, T.; Saavedra Pons, A.; Torres, L.; Meneguzzi, N. 2013. **Advances in knowledge about phytoplasma diseases in Argentina.** 30 de septiembre al 1 de octubre: COST Action FA0807 Final Meeting. Integrated Management of Phytoplasma Epidemics in Different Crop Systems dentro del programa de la European Cooperation in the Field of Scientific and Technical Research (COST). Lisboa, Portugal.

Guzmán F.; Saavedra Pons A.; Conci L. **Obtención de un antisuero específico para la detección de la proteína efectora SAP11ar del fitoplasma AY-ACLL.** 2015. Tercera Reunión Conjunta de Sociedades de Biología de la República Argentina. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina. 9 al 11 de septiembre.

Estudios comparativos del nivel de expresión de genes relacionados con resistencia en olivo (*Olea europaea* L.) cv “Arauco” infectado y no infectado con *Xylella fastidiosa*

GUZMÁN, F. A.; HAELTERMAN, R. M.; TOLOCKA, P. A.; OTERO, M. L.; PACCIORETTI, M. Colaboradores: ARCE W.; BRANDIMARTE, S.151000- IPAVE INTA. guzman.fabiana@inta.gov.ar

Xylella fastidiosa, bacteria exclusiva del xilema, ha sido encontrada en más de 150 especies de importancia agrícola. En Argentina, fue hallada en almendros de la provincia de Catamarca y en cítricos del noreste del país. A fines del año 2013, esta bacteria también fue encontrada en plantaciones de olivo de las provincias de La Rioja y Córdoba, asociada al complejo de la “rama seca”, en el cual se encuentran involucrados diferentes patógenos (hongos de suelo en su mayoría) y condiciones ambientales. Los síntomas observados en este síndrome fueron, declinamiento súbito, ramas secas en el extremo y hojas basales con el ápice necrosado denominado punta de flecha; este último atribuible a *X. fastidiosa*. En el país, la gran mayoría de los olivares, corresponden a plantaciones tradicionales, siendo el cultivar Arauco el predominante por sus atributos de alta producción, gran tamaño del fruto y doble aptitud, aunque en la actualidad se están implantando otras variedades. La severidad del declinamiento, ha aumentado considerablemente en los últimos años, poniendo en serio riesgo los cultivos de otras zonas olivícolas del país. El objetivo de este trabajo, consiste en identificar genes relacionados con resistencia, que se expresan en olivo, en respuesta a la infección con *Xylella fastidiosa*. En el período comprendido entre enero/abril de 2015, se realizaron muestreos en plantaciones de olivo, que manifestaban un marcado declinamiento, en fincas ubicadas en Cruz del Eje (Córdoba) y Aimogasta (La Rioja). Para mantener un inóculo estable del

patógeno, se realizaron injertos con púas de olivos infectados por *X. fastidiosa*, sobre pie de plantas de olivo cv Arauco de un año. Las plantas donde ha prendido el injerto, están siendo analizadas periódicamente por DAS-ELISA y PCR utilizando cebadores específicos para la bacteria. En la selección de genes que se expresan diferencialmente en el hospedante en respuesta a la infección con *X. fastidiosa*, se realizó una búsqueda en base de datos correspondientes a genomas de plantas (Phytozomev10.2: <http://phytozome.jgi.doe.gov>), además de considerar genes citados para especies “modelos” como *Citrus clementina* y *Arabidopsis thaliana*. Las secuencias fueron analizadas utilizando Blast/Blastn. Los genes seleccionados, corresponden a proteínas con dominio LRR-RLK (ricas en repeticiones Leucina) y CC-NBS-LRR (sitio de unión a nucleótidos-ricas en repeticiones leucina). El análisis de expresión de estos genes, se realizará mediante RT-qPCR; para lo cual se está ajustando un protocolo de purificación de ARN total a partir de nervadura central de hoja y pecíolo de plantas enfermas y planta sana (control negativo), con el fin de obtener ARN en concentración, pureza y calidad adecuada. Para validar este ensayo, se optó por cuatro genes de referencia (GAPDH, EF1- α , PP2A y OUB2) teniendo en cuenta su estabilidad en la expresión en tejidos de olivo. Se realizarán tres réplicas independientes de plantas infectadas y no infectadas con la bacteria. La cantidad de transcritos de cada gen normalizado al control interno será analizada utilizando el método $2^{-\Delta\Delta C_t}$. El síndrome de la “rama seca” en olivo, tiene un importante impacto social en la región olivícola argentina, debido a que constituye una fuente de trabajo sustancial para pequeños y medianos productores. El conocimiento generado por esta línea de investigación, permitirá a futuro, incursionar en el estudio de otras variedades de olivo cuya respuesta frente a la

infección de *X. fastidiosa* actualmente se desconoce. Esto constituirá un aporte fundamental para poder responder a las demandas de los productores, mediante la transferencia de resultados; la búsqueda de estrategias eficaces de control de la enfermedad a través de su manejo integrado y la utilización de variedades resistentes.

Haelterman, R.M., Tolocka, P.A., Roca, M.E., Guzmán, F.A., Fernández, F.D. and Otero, M.L. 2015. **First presumptive diagnosis of *Xylella fastidiosa* causing Olive scorch in Argentina.**Disease Note Journal of Plant Pathology 97 (2) 393 (DOI:10.4454/JPP.V97I2.023).

Caracterización del tipo de interacción en infecciones mixtas de begomovirus en tomate

BORNANCINI, V. A.; VAGHI MEDINA C. G.; RANIERI, V. V.; PUYANÉ, N.; LÓPEZ LAMBERTINI, P.M.

151000- IPAVE INTA. lopezlambertini.pao@inta.gov.ar

Los begomovirus incluyen patógenos de plantas con genoma de DNA simple cadena empaquetado en partículas gemelas que infectan plantas dicotiledóneas y son transmitidos por la mosca blanca, *Bemisia tabaci*. Su genoma puede ser monopartito (de 2.7-2.8, kb) o bipartito con dos componentes genómicos de tamaño similar denominados DNA-A y DNA-B (2,5 y 2,7 kb). Los begomovirus distribuidos en América poseen en general genoma bipartito. Estos virus no poseen una eficiente inoculación mecánica por lo tanto una de las alternativas para su estudio es la inoculación mediante biobalística. Los primeros trabajos en tomate demostraron la presencia de una gran diversidad de especies en Argentina. Además, se comprobó que las infecciones mixtas de diferentes especies de begomovirus son una situación común en todas las regiones productoras de tomate. Un virus puede influir de tres maneras sobre otro virus ya sea en el hospedante y/o en el vector aumentando (sinergismo), disminuyendo (antagonismo) o no produciendo cambios en la replicación, el movimiento, la expresión de síntomas y/o la transmisión. Las infecciones mixtas de begomovirus tienen implicancias biológicas y epidemiológicas ya que contribuyen a que diferentes especies de estos virus recombinen favoreciendo la emergencia de nuevas especies más adaptadas a condiciones ambientales cambiantes. Para caracterizar la interacción de begomovirus en infecciones simples y mixtas se inocularon plantas de tomate con *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV), especie prevalente en nuestro país, *Tomato dwarf leaf virus* (ToDfLV) y *Tomato mottle wrinkle virus* (ToMoWV) por ser dos nuevas especies identificadas en el NOA y *Solanum mosaic Bolivia virus*

(SoMBoV) por ser un begomovirus identificado en malezas pero que infecta tomate en Argentina. Se obtuvieron los genomas completos a partir de clones portadores de las secuencias ADN-A y ADN-B de cada begomovirus digeridos con las enzimas de restricción utilizadas para el clonado respectivamente, autoligados y amplificados mediante círculo rodante (RCA) con el kit TempliPhi (GE). Con los productos de RCA del ADN-A y del ADN-B de cada uno de los begomovirus generados se inocularon plantas de tomate mediante un acelerador de micropartículas Biolistic PDS-1000/He, Biorad) según protocolos optimizado en laboratorio. Se realizaron ensayos de infecciones simples con ToYLCV, ToDfLV, ToMoWV y SoMBoV. El ensayo de infección mixta se realizó con la combinación del ToDfLV y el ToMoWV. Para cada tratamiento con sus controles se inocularon 10 plantas. Con el fin de determinar el comportamiento frente a infecciones simples y mixtas se evaluó severidad de síntomas y actualmente se está analizando la concentración viral y la localización en los tejidos mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH).

López Lambertini, P. M. 2014. **Redes de infección de begomovirus en tomate y pimiento ¿Hay alternativas de control basada en la defensa de la planta?**. Jornadas “Plagas y enfermedades en Cultivos Hortícolas de Salta y Jujuy”. Proyecto Regional Pedemonte Yungas”. 26 de agosto. EEA-INTA Yuto.

Sección 2.

Poblaciones de fitopatógenos e interacciones con sus vectores caracterizadas molecularmente

Diversidad genética del *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y de su vector *Aceria tosichella* Keifer en Argentina

ALEMANDRI, V.; LÓPEZ LAMBERTINI, P.M.; TRUOL G.
151000- IPAVE INTA.alemandri.vanina@inta.gob.ar

El virus del mosaico estriado del trigo o *Wheat streak mosaic virus* (WSMV), especie tipo de *Tritimovirus* en los *Potyviridae*, es el agente causal de una de las enfermedades virales más importantes en trigo. Su genoma está constituido por un fragmento de ssRNA sentido positivo de aproximadamente 9.384 nucleótidos, traducido como poliproteína, con una organización genómica similar a la de los *Potyvirus*. El único vector conocido del WSMV es el eriófido *Aceria tosichella* Keifer (Wheat Curl Mite=WCM). En plantas infectadas se presenta como poblaciones heterogéneas con variantes genéticas, no idénticas, pero relacionadas entre sí. La secuenciación de última generación (next-generation sequencing, NGS) permite realizar estudios con nuevos enfoques sobre diversidad de las poblaciones virales dentro de su hospedante. Uno de los objetivos fue reconstruir haplotipos del genoma completo del WSMV y conocer su frecuencia a partir de secuencias generadas por pirosecuenciación. Otro objetivo fue establecer las relaciones filogenéticas de aislamientos del WSMV de trigo y otras gramíneas. Se recolectaron plantas con síntomas de mosaico estriado en cultivos de trigo (*Triticumaestivum*), *Avena fatua*, triticale y *Digitaria sanguinalis* en Buenos Aires, Entre Ríos y Córdoba. Se diseñaron iniciadores y se ajustaron los parámetros de la reacción de RT-PCR para la amplificación del genoma completo del virus. Los productos de PCR de 13 aislamientos obtenidos en gel de agarosa fueron secuenciados mediante 454/Roche GS FLX. Las lecturas fueron sometidas a pre-procesamiento, con eliminación de adaptadores, separación por barcode y filtrado según criterios de calidad. Se emplearon cuatro herramientas de ensamblado para la reconstrucción de haplotipos virales de genoma completo a partir de secuencias generadas por NGS. Se

logró la reconstrucción de haplotipos del genoma completo y la estimación de su frecuencia para todos los aislados de virus con tres de los ensambladores utilizados. Hubo diferencias en el número y frecuencia de haplotipos tanto entre los aislados virales, como entre diferentes programas. Respecto a los análisis filogenéticos, los cuales se realizaron con las secuencias correspondientes a la CP del WSMV, todos los aislamientos argentinos formaron un grupo monofilético dentro del clado denominado D para este virus. Además, los aislamientos argentinos de WSMV compartieron un ancestro común reciente con los aislamientos de Australia y con los del Pacífico noroeste de Estados Unidos. Ningún aislado argentino se agrupó con los aislados de Europa Central. No se observó que los aislamientos de WSMV se agruparan de acuerdo a su hospedante. En relación al ácaro vector, en nuestro país, se han caracterizado las primeras poblaciones de *A. tosichella* recolectadas en trigo, indicando que están presentes dos linajes descriptos. Respecto al vector, fue caracterizada la diversidad genética del ácaro. Fue analizado un mayor número de muestras para investigar en más detalle la variabilidad de *A. tosichella*. Los resultados de los análisis filogenéticos utilizando las secuencias ITS y 16S indicaron que las poblaciones de *A. tosichella* de trigo de Argentina son muy similares entre sí, agrupándose en uno de los dos linajes descriptos anteriormente en América del Sur. Los resultados permitirán conocer acerca de la filogenia del WSMV y de su vector y contribuir a una mejor comprensión de la diversidad genética intra-hospedante del WSMV, información necesaria para el diseño de estrategias de manejo de esta enfermedad en el cultivo de trigo.

Truol, G., López Lambertini, P., Alemandri, V., Mattio, M.F.; Bainotti, C. 2014. INTA Noticias. **Exitoso cierre de proyecto Internacional sobre manejo de virus en cereales de invierno.** INTA-EMBRAPA.

[http://inta.gob.ar/noticias/exitoso-cierre-de-proyecto-internacional-sobre-manejo-de-virus-en-cereales-de-invierno.](http://inta.gob.ar/noticias/exitoso-cierre-de-proyecto-internacional-sobre-manejo-de-virus-en-cereales-de-invierno)

Truol G.; Douglas L. Compilador: Dumón A. Ilustrador: Alemandri V. (Ed.). 2014. **Libro de Resúmenes de las Jornadas de Cierre del Proyecto de Cooperación Internacional INTA-EMBRAPA**. 6, 7 y 8 de Octubre. Córdoba, Argentina. 64 p.

Alemandri, V., López Lambertini, P.M.; Truol, G. 2015. **Reconstrucción de haplotipos del genoma completo del virus del mosaico estriado del trigo (*Wheat streak mosaic virus*, WSMV) a partir de secuencias generadas por técnicas de nueva generación (Next-Generation Sequencing)**. En: XI Congreso Argentino de Virología (CAV), 23 al 26 de junio. CABA. p.46.

Alemandri V., López Lambertini P.M.; Truol G. 2014. **Pirosecuenciación de amplicones: una rápida metodología para obtener el genoma completo de *Wheat streak mosaic virus* (WSMV)**. En: 3° Congreso Argentino de Fitopatología, 4, 5 y 6 de junio. San Miguel de Tucumán. p.486.

López Lambertini, P.M., Alemandri, V.; Truol, G. 2014. **Herramientas moleculares para determinar patrones de diversidad genética del WSMV**. En: Jornadas de Cierre del Proyecto de Cooperación Internacional INTA-EMBRAPA. 6, 7 y 8 de Octubre, Córdoba, Argentina. p.29-30.

Alemandri, V., López Lambertini, P.M.; Truol G. 2014. **Análisis de la diversidad genética intra-hospedante de la secuencia completa del *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) en Argentina**. En: Jornadas de Cierre del Proyecto de Cooperación Internacional INTA-EMBRAPA. 6, 7 y 8 de Octubre, Córdoba, Argentina. p.31-32.

Alemandri, V., Navia, D.; Truol, G. 2014. **Caracterización de la diversidad genética de *Aceria tosichella* en Argentina e identificación morfológica y molecular de ácaros eriófididos asociados a trigo**. En: Jornadas de Cierre del Proyecto de Cooperación Internacional INTA-EMBRAPA. 6, 7 y 8 de Octubre, Córdoba, Argentina. p. 36-37.

Avances en la detección de bacterias endosimbiontes de *Bemisa tabaci* (Gennadius), para el análisis de su interacción con virus (geminivirus y carlavirus), especie de mosca blanca, cultivar de poroto e insecticida.

MATTIO, M. F.¹; TAPIA, S.²; ALEMANDRI, V.¹; TRUOL, G.¹.

¹151000- IPAVE INTA. ²323000- EEA Yuto
INTA.mattio.fernanda@inta.gob.ar

Hasta el 2010, se consideró que *B. tabaci* (Gennadius) estaba conformado por al menos 24 especies crípticas. Recientemente se han identificado otras especies llegando a un total de 39. Entre ellas, MEAM1 y Mediterranean (biotipos B y Q, respectivamente) son conocidas mundialmente como las dos especies más invasivas y destructivas. En Argentina, se han identificado tres especies de moscas blancas en diferentes cultivos y malezas: MEAM1, Mediterranean y New World2. Esta última ha sido detectada sobre poroto en el noroeste argentino. Entre los miembros del complejo *B. tabaci*, características biológicas, tales como la capacidad de transmitir virus, el rango de hospedantes, el poder invasivo, la resistencia a insecticidas y la composición de microbios simbioses son diferentes. Entre los componentes de la comunidad microbiana diversa, se menciona un endosimbionte primario, *Portiera aleyrodidarum*, esencial para la supervivencia de..., conjuntamente con una variedad de endosimbiontes secundarios (ES) que han sido involucrados con alteraciones reproductivas y la habilidad para transmitir virus. Un aspecto que ha atrapado nuestra atención, fue la respuesta diferencial frente a insecticidas, dependiendo de la composición de la comunidad microbiana. Es decir que entre los ES existen géneros, como *Rickettsia*, que han sido relacionadas con una mayor susceptibilidad a insecticidas. En el Noroeste argentino (NOA) la presencia de moscas blancas

representa una gran preocupación para los productores de poroto, ya que los cultivos se ven severamente afectados por la presencia de virus, varios de ellos transmitidos por ese insecto. Es por ello que la aplicación de insecticidas es por momentos excesiva, lo cual impacta sobre el medio ambiente y/o provoca la aparición de insectos resistentes. Por lo expuesto, conocer la diversidad de simbiosites de las moscas blancas de Argentina es de gran interés porque puede permitir identificar candidatos para control biológico, o detectar bacterias que aumenten la susceptibilidad de las moscas blancas a insecticidas. En Argentina, han avanzado los estudios de identificación de especies del complejo *B. tabaci*, sin embargo, hasta el momento se desconoce la microflora de *B. tabaci* y su relación con la resistencia a insecticidas. Por esta razón se propuso conocer la diversidad de endosimbiontes en especies del complejo *B. tabaci* presentes en poroto del NOA. Para ello, se estableció contacto con los profesionales de la EEA Cerrillos-Salta y de la EECT Yuto para coordinar la siembra y preparación de los lotes de poroto sobre los cuales se realizarán muestreos (hojas con síntomas virales y moscas blancas). Se sembraron dos parcelas (150 m²) de poroto “Alubia Cerrillos”, en la EECT Yuto (Jujuy) con semillas frecuentemente utilizadas por los productores de la zona tratadas con insecticida (Thiamethoxam) (100 ml/100 kg) y fungicida (Fludioxonil y Metalaxil) (700 ml/100 kg). Cuando el cultivo tuvo 3 pares de hojas desarrolladas, se recolectaron 30 adultos sobre las parcelas y malezas aledañas. A los 19 días después de siembra, se aplicó una dosis (20 cc/hl) de Deltametrina 10%, en ambas parcelas. Luego de 24 h se realizó una nueva recolección de adultos que fueron conservados en etanol 96% hasta análisis. Se extrajo el ADN de cada mosca para realizar PCR con cebadores específicos para diferentes bacterias mencionadas como endosimbiontes de *B.*

tabaci. Además, se amplificó y secuenció un fragmento del gen COI para identificación a nivel de especie. Los resultados evidenciaron cuatro especies de ES en *B. tabaci* en el NOA. La mayoría de los ejemplares (40%) resultaron positivos sólo para *Rickettsia*, 20% presentaron doble infección (*Halmintonella* y *Cardinium*) y 20% triple infección (*Fritschea*, *Halmintonella* y *Cardinium*). El resto no mostró bacterias debido, probablemente, a la baja concentración de ADN. Resta analizar mayor cantidad de moscas, de todos los tratamientos, para poder observar diferencias entre la microbiota de moscas expuestas y no expuestas a insecticida. Continuar con la caracterización de las poblaciones argentinas de *B. tabaci* según composición de su microbiota, posibilitará desarrollar estudios que permitan optimizar el manejo de esta plaga y de las virosis que transmite, disminuyendo la dosis de insecticida o su frecuencia de aplicación.

Mattio M. F.; Tapia S.; Alemandri V. M.; Truol G. 2015. **Caracterización de la flora microbiana de *Bemisia tabaci* (Gennadius) para la comprensión de sus mecanismos de resistencia a insecticidas.** XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. 7 al 9 de Octubre. Santa Fe, Argentina.

Alemandri, V., García Medina, S., Mattio, M.F., Vaghi Medina, C.G., Dumón, A.D., Argüello Caro, E.B., López Lambertini, P.M.; Truol, G. 2014. **Mediterranean (MED): una de las especies más invasivas del complejo *Bemisia tabaci* presente en poroto y tomate en Argentina.** XXXVII Congreso Argentino de Horticultura. 23 al 26 de Sept. Mendoza, Argentina.

Identificación de regiones genómicas virales involucradas en la inducción de síntomas producidos por Potyvirus en *Alliaceae*

CELLI, M. G.*; PEROTTO, M. C.*; LUCIANI, C.; MERINO, M. C.*;
STRUMIA, G.; POZZI, E.; CONCI, V. C.*
151000- IPAVE INTA *Investigador CONICET.
perotto.cecilia@inta.gob.ar ; concil.vilma@inta.gob.ar

En La Consulta, Mendoza, se llevó a cabo la extracción de RNA total con Qiagen RNeasy Plant RNA kit, a partir de una muestra de hoja de ajo cultivado se hizo El RNA total fue enviado a INDEAR (Plataforma Genómica y Bioinformática, INDEAR Inc., Rosario, Argentina) para Secuenciación de Nueva Generación (NGS – New Generation Sequencing) en Illumina HiSeq 1500 (Illumina). Por medio de los análisis de “ORF Finder” (Open Reading Frame Finder - Buscador de Marcos de Lectura Abierta) y de BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) disponibles en el NCBI, fueron identificados dos contigs (10521 nt y 10257 nt) correspondientes al genoma completo de 2 aislamientos de *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) co-infectando la planta de ajo. En el genoma más largo se detectó un ORF de 10212 nt que codifica una poliproteína deducida de 3403 aa. En el genoma más corto (10257 nt) se detectó un ORF de 9930 nt que codifica una poliproteína deducida de 3309 aa. Este último virus contiene 282 nt (94 aa) menos que el primero. La comparación de los dos genomas alineados en el software Mega 6.1 mostró que la diferencia en el número de nucleótidos entre ambos se debe a una delección en la región HC-Pro. Esta delección encontrada en el genoma de OYDV en ajo fue previamente publicado por Takaki *et al.* (2006) quienes la asociaron con la sintomatología observada. Ellos concluyeron que el virus con el genoma más corto produce síntomas leves en la planta, sin embargo, la obtención de los virus de forma aislada no fue descripta. Es importante considerar que en ajo los virus forman un complejo integrado por numerosas entidades virales diferentes y se podría decir que no existe

naturalmente ajo libre de virus; por lo cual, obtener aislamientos virales es un desafío. En trabajos previos nosotros obtuvimos las secuencias completas de un aislamiento viral de OYDV severo y otro de un aislamiento del virus que produce síntomas leves, ambos provenientes de cebolla. En este caso contamos con cada uno de los virus aislados en plantas diferentes (Fig. 1). Cuando las secuencias completas de ambos virus fueron comparadas no se detectó la delección mencionada y las secuencias genómicas de los aislamientos de cebolla, mostraron un 92,2% de identidad (Celli *et al.*, 2013). En los trabajos a futuro se pretende continuar con el estudio de la región viral involucrada en la inducción de síntomas en OYDV considerando que este virus es el responsable de las mayores pérdidas en el rendimiento de ajo (Conci, 1997; Conci, 2014).

Conci, V.C. 2014. **Garlic viruses: characterization, importance and management.** Summa Phytopathologica. Botucatu, n^o 40 Supplement February 2014.

Celli, M.G., Torrico, A.K., Kiehr, M., Conci, V.C. 2013. **Striking differences in the biological and molecular properties of onion and garlic isolates of *Onion yellow dwarf virus*.** Archive Virology. 158:1377-1382.

Takaki, F., Sano, T., Yamashita, K. 2006. **The complete nucleotide sequence of attenuated *Onion yellow dwarf virus*: a natural potyvirus deletion mutant lacking the N-terminal 92 amino acids of HC-Pro.** Arch Virol 151:1439-1445.

Conci, V.C. 1997. **Virus y fitoplasmas de ajo.** En Burba, J.L. 50 temas sobre producción de ajo. Vol. 3, pp. 267-291. EEA-INTA La Consulta, Mendoza, Argentina.

Celli, M.G.; Perotto, M.C., Conci, V.C. 2015. **Genomas completos de seis aislamientos de virus de ajo argentino**. 3ra Reunión Conjunta de Sociedades de Biología de la República Argentina. Del 9-11/09/2015. San Miguel de Tucumán, Argentina. Resumen seleccionado para presentación oral(Co-01) p. 21. ISBN: 978-950-554-952-8.

Celli, M.G.; Perotto, M.C.; Torrico, A.K., Conci, V.C. 2014. **Primer reporte de *Garlic virus B (GarV-B)* en ajo en Argentina**. En: XXXVII Congreso Argentino de Horticultura (ASAHO). Del 23-26/09/2014. Mendoza, Argentina.

Celli, M.G., Perotto, M.C., Torrico, A.K., Conci, V.C. 2015. ***Garlic virus B (GarV-B)* and *Garlic virus X (GarV-X)*: the same virus**. En: 7th International Symposium on Edible Alliaceae. Del 21-25/05/2015. Nigde, Turkey. Seleccionado para presentación Oral. OP-150123013. pag. 124.

Conci, V.C., Cafrune E.E., Perotto M.C., Torrico A.K., Celli M.G.2013. **Virus que infectan el cultivo de ajo. Aspectos epidemiológicos y manejo de la enfermedad**. In Burba, J.L. (ed). 100 temas sobre producción de ajo. Vol 3. Cap 3: 165-187. La Consulta, Ediciones INTA. ISBN: 978 987 679 224-0.

Perotto, M.C., Lanati, S., Panonto, S., Macchiavelli, R., Di Rienzo, J.A., Cafrune, E.E., Conci, V.C. 2014. **Temporal and spatial spread of *Potyvirus* infections in garlic crops**. Australasian Plant Pathology. 43:623-630.

Torrico*, A.K., Celli*, M.G., Conci, L.R. and Conci, V.C. 2015. **Phylogenetic and recombination analysis of *Garlic common latent virus* and incidence in Argentina**. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 50:363-373. *Ex-aequo.

Diversidad Molecular y Estructura genética de poblaciones de *Watermelon mosaic virus* su asociación con la patogenicidad y severidad de los síntomas

PEROTTO, M. C.^{1,2}; CELLI, M. G.²; POZZI, E.¹; LUCIANI, C.E.¹; MERINO, M. C.¹; CONCI, V.C.^{1,2}

¹ 151000 IPAVE INTA. ² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). perotto.cecilia@inta.gob.ar

En Argentina se cultivan numerosas especies de cucurbitáceas en una diversidad de regiones con características climáticas muy diferentes generando una variada gama de perfiles epidemiológicos. El zapallo es una hortaliza de alto valor social y económico para la Argentina, que tiene la posibilidad de abastecer al mercado nacional durante todo el año. Otro destino importante, por los precios de venta que se logran, es la exportación a los países de Europa, el cual si bien es un mercado pequeño comparado con el interno, las exigencias de calidad e inocuidad del producto son altas. En este contexto, las virosis son un factor importante a tener en cuenta cuando se manifiestan en forma de epidemia severa. Esto se evidenció en varias campañas en las provincias de Santiago del Estero, Mendoza y San Juan, con la pérdida total de la producción de zapallo (Hokkaido, Anco y Tetsukabuto) y melón. El objetivo de este trabajo es determinar la diversidad molecular y estructura genética de poblaciones de potyvirus en cucurbitáceas y su asociación con la patogenicidad y severidad de los síntomas. Para ello se procedió a muestrear las principales zonas productoras del país. A partir de los cuales se observa que el potyvirus *Watermelon mosaic virus* (WMV) es el virus prevalente y con altos valores de incidencia detectado en Argentina en todas las especies de cucúrbitas cultivadas. A partir de una planta infectada naturalmente en campo de zapallo Tetsukabuto (*Cucurbita maxima* x *C. moschata*) se obtuvo la secuencia completa del aislamiento al que se denominó WMV 1 SDE FF. La muestra presentaba síntomas severos de virosis (Fig.1.). La misma provenía de la provincia

de Santiago del Estero, donde la temporada de cultivo para ese año, 2012, se presentó en forma de epidemia severa, ocasionando daños importantes en los cultivos de zapallo y melón. La secuencia completa de WMV fue subida al GenBank (accession no KP164988). Teniendo en cuenta las secuencias de otros aislamientos tomadas de la base de datos del GenBank se realizó un estudio de filogenia y recombinación. La secuencia completa del aislamiento WMV 1 SDE FF de 10027 nucleótidos comparte un 96% de identidad de nt (99% cobertura) y un 98% identidad de aa (100% cobertura) con aislamientos franceses, JF273464.1|C07-014 y EU660581.1|FMF00-LL1. La secuencia del aislamiento WMV-1SDEFF fue alineada con otras 36 tomadas del GenBank con método Muscle proporcionado en el programa MEGA6, para realizar el análisis filogenético. Los análisis de filogenia mostró la presencia de dos grupos principales basados en las distancias genéticas. Grupo B con 5 aislamientos y grupo A con 31 aislamientos. En el grupo A se detectaron 3 subgrupos: G1: CL, G2 and G3:EM, que son los mismos publicados por Desbiesz et al. (2007). Este análisis filogenético muestra que el aislamiento WMV-1SDE FF pertenece al grupo G3:EM de WMV (Fig. 2.). La clasificación de estos grupos tiene una alta correlación con diferencias en la intensidad de los síntomas. Se observó que los aislamientos que causan síntomas severos pertenecen al grupo G3, mientras que los que producen síntomas suaves se incluyen en el grupo G1. Por otra parte se detectaron dos eventos de recombinación mediante el programa RDP4 y ambos resultaron significativos. El evento 1, un fragmento de 830 nt en la región P1 y el evento 2, es un fragmento de 4071nt, que abarca las regiones de HC Pro, P3 and CI. Los posibles parentales para el evento 1 fueron EU660586.1| FBR04-37 (parental mayor) y JF273468.1|C07-284 (parental menor) ambos aislamiento franceses. Los posibles parentales del evento 2 fueron JX079685.1| WMV-ShanXi (parental mayor) y HQ384216.1|Dendrobium (parental menor) respectivamente. Este trabajo presenta por primera vez el genoma completo de un aislamiento argentino de WMV.

Además pone en evidencia la presencia de variantes severas emergentes en Argentina, que son las responsables de las epidemias registradas en los cultivos de melón y zapallo en los últimos años. Las futuras actividades están enfocadas a estudiar el comportamiento en líneas de selección de cucurbitáceas argentinas en cuanto a la resistencia/tolerancia a esta variante severa.

Perotto, M.C.; Mangli, A.; Zicca, S.; Celli, M.G.; Conci, V.C. y Tomassoli, L. 2013. **Evaluación de la Variabilidad Intraespecífica de la Cápside Proteica del *Watermelon mosaic virus***. 46 Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Del 20 al 25 de octubre, Ouro Preto, **Brasil**.

Perotto, M. C., Rodrigues Pardina, P., Nome Docampo, C., Torrico A. K., Cafrune, E. E., Della Gaspera, P., Conci V. C. 2011. **Resultados Preliminares de Identificación de Virus que Afectan los Cultivos de Cucurbitáceas**. 2do Congreso Argentino de Fitopatología. 1, 2 y 3 de junio, Mar del Plata, Argentina. Libro de resúmenes: 156.

Perotto M.C., Celli M.G., Pozzi E., Conci V.C. 2014. **Detección molecular y secuencias genómicas parciales de *Papaya ringspot virus* y *Zucchini yellow mosaic virus* de zapallo**. 3er Congreso Argentino de Fitopatología. Organizado por la Asociación Argentina de Fitopatólogos. Del 4 al 6 de junio San Miguel de Tucumán.

Perotto, M.C., Celli M.G., Meneguzzi, N., Conci V.C., Medrano N. 2014. **Detección de *Cucumber mosaic virus* y *Tobacco mosaic virus* en gerbera (*Gerbera* sp.) en Tucumán, Argentina**. 3er Congreso Argentino de Fitopatología. Organizado por la Asociación Argentina de Fitopatólogos. Del 4 al 6 de junio San Miguel de Tucumán.

Perotto, M. C., Celli, M. G., Pozzi, E., Conci, VC. 2014. **Detección de variantes severas de *Watermelon mosaic virus* en Cucurbitáceas en Argentina**. XXXVII Congreso Argentino de Horticultura (ASAHO). Del 23 al 26 de septiembre, Mendoza.

Interacción soja- SMV-B. *japonicum*: defensa, metabolismo primario y estado Redox celular.

RODRIGUEZ, M.¹; ANDREOLA, S.¹; LASCANO, R.^{1,2}

¹152000- IFRGV INTA. ²Cátedra de Fisiología Vegetal. FCEfyN. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. rodriguez.marianela@inta.gob.ar

La soja, *Glycine max* (L.)Merr., es un cultivo de gran importancia en el mundo y en Argentina. Existen muchas limitantes de naturaleza biótica para el cultivo de esta oleaginosa, tales como las enfermedades virales. Estas últimas causan grandes pérdidas económicas. En Argentina se han identificado nueve virus que infectan soja, siendo el virus del mosaico de la soja (*Soybean mosaic virus*, SMV) el de mayor importancia, debido a su capacidad de transmitirse por semillas y a la severidad de los síntomas que induce su infección. Asimismo, las leguminosas pueden establecer relaciones simbióticas con *Bradyrhizobium japonicum* (Bj). Esta interacción simbiosis leguminosa-rizobio es un proceso sensible que termina en la formación de nódulos. Se ha demostrado que la infección por SMV provoca marcada alteración en el crecimiento y nodulación. Dada la importancia económica del cultivo de soja, es importante estudiar las condiciones ambientales que disminuyen su producción. Estudios realizados por nuestro grupo de investigación con el virus del moteado clorótico del girasol (SuCMoV) un potyvirus que establece interacciones compatibles con girasol, han demostrado aumentos de azúcares solubles (principalmente sacarosa) provocados por la infección de SuCMoV antes de la aparición del síntoma clorótico, e incrementos tardíos de ATP. Asimismo, trabajos previos del grupo han demostrado cambios en el estado redox celular por: aumentos de glutatión reducido

(GSH), activación de enzimas antioxidantes, caída en los niveles de EAO apoplásticas y procesos fotoinhibitorios, medidos como caída en la eficiencia cuántica del fotosistema II y degradación de la proteína D1 tanto en la infección viral compatible como en tratamientos con azúcares solubles (glucosa y sacarosa) (Rodríguez et al., 2012; 2013). Dados estos antecedentes en interacciones virales compatibles, la actividad propuesta planteó estudiar en plantas de soja inoculadas y no inoculadas con Bj los efectos de la infección con SMV sobre las respuestas de defensa con particular interés en el metabolismo primario y estado redox. En el presente período se han estudiado los efectos de la triple interacción soja-*B. japonicum* (Bj)-SMV, evaluando parámetros de crecimiento, nodulación, ureídos y azúcares en hoja, raíz y nódulo en dos secuencias diferentes de interacción SMV-Bj y Bj-SMV. El análisis de componentes principales en raíz y hoja mostró un efecto positivo sobre parámetros de crecimiento y fotosíntesis de Bj, como así también, un efecto positivo de Bj sobre azúcares y ureídos de raíz. Por otro lado, la presencia del virus en el sistema tuvo un efecto negativo sobre estos parámetros. En este sentido, nuestros resultados mostraron que el SMV causó una disminución significativa de peso seco total (PS), superficie foliar y Φ PSII junto con incrementos significativos de azúcares solubles y ureídos totales en la primera hoja trifoliada. Además, se observó un incremento significativo de PS, Φ PSII y ureídos totales en plantas inoculadas con Bj. En el caso de la triple interacción, ambas secuencias de interacción mostraron un incremento significativo de PS respecto del tratamiento con SMV. Sin embargo, la secuencia SMV- Bj solo mostró disminución en el contenido de azúcares solubles foliar respecto de SMV. Mientras que la secuencia Bj-SMV mostró incremento del Φ PSII asociado a un incremento de ureídos

totales en raíz. Estas diferencias en la secuencia de infección sugieren que los mecanismos implicados en ambos tratamientos son diferencialmente influenciados por la presencia de *Bj*. El conjunto de resultados indicaría que *Bj* podría cumplir un rol en la promoción del crecimiento a nivel sistémico y produciría alteraciones metabólicas que mejoran la respuesta de la planta frente a condiciones de estrés biótico.

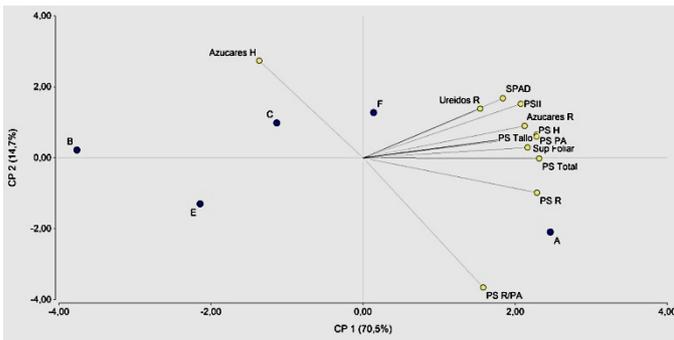


Figura 1. Análisis de componentes principales en hoja y raíz en la interacción. Los tratamientos son: **A.** Plantas Control sin inocular; **B.** Plántulas de 1 día inoculadas con SMV; **C.** Plantas de 7 días inoculadas con SMV en el primer par de hojas verdaderas; **D.** Plántulas de 2 días inoculadas con *Bradyrhizobium japonicum* (*Bj*); **E.** Plántulas de 1 día inoculadas con SMV + inoculadas con *Bj* a los 2 días; **F.** Plántulas de 2 días inoculadas con *Bj* + inoculadas con SMV a los 7 días en el primera par de hojas verdaderas. El muestreo se realizó a los 21 días post germinación en la primera hoja trifoliada. Los resultados son de 3 experimentos independientes con 3 muestras por experimento. R, raíz; PA, Parte aérea; H, hoja. PS, Peso Seco (g); PS R/PA, peso seco Raíz/peso seco parte aérea; sup foliar, Superficie foliar; ΦPSII: “quenching” fotoquímico.

Sección 3.

Evaluación de genotipos resistentes a fitopatógenos y generación de fuentes de resistencia no convencionales

Respuesta de olivo (*Olea europaea* L.) frente a infección natural por microorganismos.

PÉREZ, B. A.¹; MEMA, V. ¹; OTERO, M. L.²; HAELTERMAN, R.²; ROCA, M.³; MATÍAS, A. C.⁴; BERRETTA, M.F.¹; FARINON, O.M.¹; GALLO, S.⁵; MARTÍN, D⁵. ¹IMYZA-Castelar INTA; ²IPAVE INTA; ³SENASA-La Rioja; ⁴EAA Catamarca INTA. ⁵EAA Valle Inferior de Río Negro INTA. perez.beatriz@inta.gov.ar

En los últimos años, varias micosis fueron registradas en olivo (*Olea europaea*) entre las que se encuentran pudrición de raíz y corona, canchros en ramas y tronco, manchas en hojas y frutos, seca parcial del follaje, muerte descendente y verticilosis. Recientemente, IPAVE y SENASA informaron de la presencia de dos variantes de *Verticilliumdahliae*, de una bacteriosis (*Xylella fastidiosa*) y hongos asociados a “rama seca”. Con la finalidad de conocer el estado sanitario de plantaciones añosas y nuevas de olivo y detectar nuevas patologías se realizaron prospecciones en el área olivícola. A fines de agosto 2015, muestras de olivo “Manzanilla” fueron colectadas en Catamarca con síntomas de muerte descendente (1), canchros y lesiones oscuras y húmedas con abundante exudado, “lloro” o “weeping” (2), “verticilosis” (3) y pudrición de raíz (4). En 2014, seca parcial o total (5), lesiones y canchros con abundante exudado en troncos y ramas (6, 7) y pudrición en troncos y ramas (8) fueron notorios en olivo “Arauco” en Aimogasta (La Rioja) y “Frantoio” en Catamarca. Las muestras vegetales fueron analizadas con técnicas de rutina en laboratorio. Parte del material fue colocado en cámara húmeda y otra fue desinfectada superficialmente con hipoclorito de sodio y etanol 70%, colocado sobre agar agua en placas de 6 cm de diámetro e incubadas en condiciones de laboratorio con alternancia de luz/oscuridad. Las colonias fueron purificadas por transferencia de punta de hifa o conidios individuales. Las características morfológicas de fructificaciones de los hongos fueron registradas en cultivos fúngicos en CLA y SNA mientras que las características de las colonias fúngicas (color, tipo,

crecimiento, etc.) en cultivos sobre APG. Las colonias fueron identificadas con un número de IMC y conservadas a 5°C y -20°C en glicerol estéril 20%. Para extracción de ADN, el micelio fue obtenido en medio completo líquido, estacionario, incubado a 20°C en oscuridad por 3 días. Las ramas de “Manzanilla” de 2-4 cm de diámetro, procedentes de Catamarca, presentaban canchros ovalados de aproximadamente 1 cm de longitud con centro hundido (9). Los sucesivos cortes longitudinales efectuados en la zona de la lesión evidenciaron galerías atribuidas a larvas de artrópodos (10) la que posteriormente derivó en pudrición por hongos/bacterias. Entre los microorganismos obtenidos se encuentran *Bipolaris* (IMC 1355), *Fusariumsolani* (IMC 73, NCBI-GenBank JF299258); *Fusicoccum* (IMC 1341), *Pestalotiopsis* (IMC 1256), *Phoma* cf. *glomerata* (IMC 1337), *Phomopsis* (9, NCBI-GenBank JF514346), *Sphaeropsis* (IMC 1326) y *Sordaria* (IMC 1330). El género *Phaeoacremonium* fue obtenido en INTA-IPAVE-Córdoba. Colonias de bacterias desarrollaron frecuentemente en las placas con aislamientos de canchros. Los olivos “Arauco”, “Frantoio” y “Manzanilla” mostraron predisposición a campo a estas patologías.

Otero, L.; Roca, M.; Zapata, R.; Ladux, J.; Ortíz, J.; Zanelli, M.; Matías, A. C.; Pérez, B. A. 2014. **Effect of solarization, organic matter, and *Trichoderma* on the severity of *Verticillium* wilt in olive trees (*Olea europaea* L.) and soil inoculum density.** ACTA HORTICULTURAE 1057(11):121-126.

Pérez, B. A.; Berretta, M. F.; Farinón, O. M.; Otero, M. L.; Roca, M.; Matías, C.; Gallo, S.; Martín, D. 2015. **Variantes patógenas de *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Straminopiles* y microorganismos causantes de canchros en genotipos de olivo en zonas olivícolas de la República Argentina.** En: Libro de resúmenes: Avances PNPV 1135022: Identificación y desarrollo de protocolos para la detección de patógenos de importancia agrícola. 67pp. ISBN: 978-987-521-612-9.

Reacción de olivo (*Olea europaea* L.)“Carotina” frente a *Pestalotiopsis* (Amphisphaeriaceae) y *Phoma* cf. *glomerata* (Peyronellaea).

PÉREZ, B. A.¹; MEMA, V. ¹; OTERO, M. L.²; HAELTERMAN, R.²; ROCA, M.³; MATÍAS, A. C.⁴; BERRETTA, M.F.¹; FARINON, O.M.¹; GALLO, S.⁵; MARTÍN, D⁵. ¹IMYZA-Castelar INTA; ²IPAVE INTA; ³SENASA-La Rioja; ⁴EEA Catamarca INTA. ⁵EEA Valle Inferior de Río Negro INTA. perez.beatriz@inta.gob.ar

Los géneros fúngicos *Pestalotiopsis* (Amphisphaeriaceae) y *Phoma* cf. *glomerata* (Peyronellaea) fueron frecuentemente aislados de olivo con “cancros” en troncos y ramas. Adicionalmente, especies de *Pestalotiopsis* fueron registradas sobre frutales (arándano, olivo) y forestales (álamo, ciprés, eucalipto, pino), entre otros hospedantes. Partes de ramas y troncos de olivo con “cancro” colectadas por SENASA-La Rioja y EEA Catamarca en 2013/2014 (1) fueron analizadas en laboratorio. Los aislamientos fueron obtenidos y purificados agar agua, la caracterización morfológica en SNA y CLA con alternancia de luz/oscuridad, el color y tipo de colonia como crecimiento evaluados en APG en oscuridad (2) y el incremento de micelio para extracción de ADN en medio completo, 20°C y oscuridad (4). El objetivo fue conocer la reacción de hojas separadas de olivo frente a la inoculación con hongos. Hojas separadas de “Coratina” y/o “Manzanilla”, con y sin heridas, fueron evaluadas frente a *Pestalotiopsis* y *Phoma* cf. *glomerata*. Hojas jóvenes y sanas de olivo fueron separadas, lavadas suavemente con agua de canilla, desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% y etanol 70%, lavadas cuatro veces con agua destilada estéril, secadas brevemente bajo flujo laminar y colocadas en placas de Petri de 15 cm con papel de filtro estériles y humedecidos con agua destilada estéril. Las placas con las hojas fueron inoculadas colocando un trozo de agar con micelio en la base de la lámina (cara abaxial) en la unión de la lámina con el pecíolo. Las placas fueron incubadas a 20°C con alternancia de luz/oscuridad hasta observación de síntomas.

Los testigos fueron inoculados con un trozo de agar agua sin micelio de 3 mm². Las placas con hojas fueron observadas diariamente por colonización de pecíolos, nervaduras principales y secundarias y lámina de las hojas. La colonización sobre lámina, nervadura principal y nervaduras secundarias, sin heridas, progresó más lentamente hacia el ápice a partir de los 15 días. Para *Pestalotiopsis*, a los 20 días, se registraron oscurecimiento, producción de masas negras de conidios y seca (5 a 7). La técnica de hoja separada de olivo para conocer la respuesta frente a microorganismos resultó fácil de conducir siempre que se mantuviera la humedad en las placas. Algunas especies de *Pestalotiopsis* son de interés en la industria farmacéutica por la capacidad de producir taxol de importancia en el tratamiento de cáncer. En olivo, las especie *P. fici* y *P. neglecta* fueron citadas causando clorosis de hoja y/o pudrición de frutos. También está citado el teleomorfo *Pestalosphaeria* sobre material vegetal. En proceso de verificación la identificación de *Phoma* cf. *glomerata* (8 a 10) mediante secuenciación de ADN.

Docampo, D.; Pérez, B. A.; Otero, L.; Roca, M.; Oriolani, E.; Brancher, N.; Navarro, P. 2014. **Enfermedades de *Olea europaea* en Argentina.** *ATLAS FITOPATOLÓGICO ARGENTINO* 4(4):1-20.

Pérez, B.A.; Farinón O.M.; Berretta. M.F. 2011. **First report of *Fusarium solani* causing root rot of olive in Southeastern Argentina.** *Plant Disease* 95(11):1476.

Pérez, B. A., Matías, A.C., Berretta, M.F. 2011. **Identidad de un aislamiento de *Phomopsis* de olivo.** 2do Congr. Argentino de Fitopatología. Mar del Plata. 1-3 junio. p. 132

Pérez, B. A., Matías, A. C., BERRETTA, M. F. 2011. **Tipificación del hongo *Thielavia* obtenido de olivo.** 2do Congr. Argentino de Fitopatología. Mar del Plata. 1-3 junio. p. 131.

Evaluación y caracterización de genes involucrados en la interacción de cultivares tolerantes y/o susceptibles de ajo (*Allium sativum* L.) al Alexivirus GarV-A.

GARCÍA LAMPASONA, S.^{1,2}; CONCI, V.^{3, 4}; MERINO, M. C. ^{3,4}; GIMENEZ, M.², CELLI, M.^{3,4}, STRUMIA, G.³

¹ 511000 EEA Mendoza- INTA, ² IBAM-CONICET, Facultad de Ciencias Agrarias, UNCu, ³151000 IPAVE – INTA, ⁴ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas(CONICET). garcia.lampasona@inta.gob.ar

El ajo está naturalmente infectado por un complejo viral que incluye *Potyvirus*, *Carlavirus* y *Alexivirus*. Dentro de estos últimos géneros se han mencionado seis especies diferentes de virus, todas transmitidas por *Aceria tulipae* (ácaro). Dentro de los *Alexivirus* se han citado infectando ajo, *Garlic virus A, B, C, D, E* y *X*. Las interacciones incompatibles entre los virus y sus huéspedes han servido como modelo para investigar la repuesta de defensa de sus huéspedes. La mayoría de las interacciones incompatibles están asociadas con el incremento de la expresión de genes PR y con la acumulación de proteínas mediadas por el ácido salicílico (SA). En general, se requiere un incremento en la producción de SA para que se produzca una acumulación dramática de de transcritos mRNA PR y de proteínas que ocurren como respuesta a una reacción de resistencia, pero no aparecen en las interacciones susceptibles. Sin embargo, se observaron niveles basales de SA que no son alterados en las interacciones virus-huésped compatibles. El objetivo de esta línea de trabajo fue estudiar la interacción GarV-A-ajo y seleccionar materiales con resistencia o tolerancia a este virus con el propósito de caracterizar el o los genes que confieren resistencia al patógeno. En trabajos previos se registró que ajos del cultivar Castaño-INTA presentaban escasa

o ninguna infección con *Garlic virus A* (GarV-A) a pesar de ser altamente susceptible a la infección con *Aceria tulipae*. Se han descrito numerosos genes que están involucrados en los mecanismos de defensa frente a patógenos en plantas, entre los cuales se encuentran los genes de resistencia (genes R), algunos de los cuales con estas características también han sido descritos en ajo. En este proyecto se propone evaluar los genes: AsRGA26, AsRGA29, AsRGA7, AsRGA6, AsRGA11, y AsRGA23 (Rout y col., 2014) en plantas susceptibles y tolerantes al patógeno. Para ello se está trabajando en primera instancia con los cebadores AsRGA29 y AsRGA11, ajustando las condiciones de las reacciones de RT-qPCR. En base a trabajos preliminares estamos desarrollando un modelo biológico que involucra el uso de plantas libres de virus de ajo susceptible y cv. "Castaño-INTA" tolerante al virus. Para ello se están produciendo plantas libres de virus a través de cultivos de meristemas. Las mismas son evaluadas mediante pruebas serológicas, microscopia electrónica y moleculares que permieron establecer su estado sanitario previo a la inoculación del virus. Paralelamente el aislamiento de GarV-A fue obtenido por reinoculación de lesiones locales a plantas de *Chenopodium murale* y re transmitido a plantas de ajo libres de virus para su multiplicación masiva. Cuando las plantas de cv "Castaño INTA" libres de virus estén rusticadas y adaptadas a la condición *ex vitro*, serán inoculadas con el aislamiento viral. Se extraerá parte de una hoja joven a las 2, 4, 6 y 12 horas y luego una vez por día, durante 10 días posteriores a la inoculación, para la detección de los genes involucrados en la respuesta de defensa. Paralelamente se realizará la misma prueba con ajos susceptible a este virus.

Caracterización poblacional de *Pyricularia oryzae* en Argentina y evaluación de la virulencia de aislamientos del patógeno con respecto a genes de resistencia en arroz.

PEDRAZA, M.V.¹, ASSELBORN, M.N.¹, BOUVET, M.², BURDYN, L. ³, MAUMARY, R.²

¹632000- EEA Concepción del Uruguay INTA. ²Facultad de Ciencias Agrarias (UNL). ³431000- EEA Sombrerito INTA. pedraza.maria@inta.gob.ar

El Quemado del Arroz (QA), provocado por el hongo *Pyricularia oryzae*, es la enfermedad más importante que ataca al cultivo de arroz a escala mundial. En Argentina, su aparición es esporádica, pero cuando se presenta, puede provocar la pérdida total del cultivo. La herramienta más eficiente de manejo es la resistencia genética. En arroz, se han identificado, aprox., 80 genes mayores que ofrecen resistencia a diferentes formas de *P. oryzae*. El mejoramiento por resistencia a esta enfermedad requiere información sobre la diversidad poblacional regional de *P. oryzae* y la detección de genes promisorios para ser incorporados a cultivares de interés agronómico. El objetivo del trabajo fue caracterizar el espectro de virulencia de aislamientos de *P. oryzae* del área arrocera argentina recolectados durante las campañas 2013/2014 y 2014/2015, con respecto a 26 genes de resistencia incluidos en los diferenciales del IRRI (International Rice Research Institute-Phillipines). Durante la campaña 2013/2014, se multiplicaron en campo experimental de Corrientes, 32 genotipos diferenciales monogénicos del IRRI, incluyendo 26 genes de resistencia incorporados a la línea IRBL-CL, y un testigo susceptible. Los genes *Pia*, *Piks* y *Pita* estuvieron presentes con dos diferenciales de diferente donante del gen. Durante las campañas 2013/14 y 2014/15, se recolectaron

muestras de arroz con síntomas de QA de cultivos comerciales de arroz de Chaco, Santa Fe y Entre Ríos. Se realizaron cultivos monospóricos y se incorporaron a la Colección de *Pyricularia* del Laboratorio de Fitopatología de la EEA C. del Uruguay-INTA. En invernáculo, se realizaron las pruebas de patogenicidad asperjando plántulas en estado de 5 hojas, con suspensión de conidios de *P. oryzae* (aprox. 10^5 conidios/ml) de dos aislamientos representativos de Chaco (925 y 926), Entre Ríos (930 y 931) y Santa Fe (932 y 929). Las plantas se fertilizaron con urea (120 kg urea/ha), 14 días desde la siembra y un día antes de la inoculación. Diez días posteriores a la inoculación, se registró el número de plantas con síntomas de QA y el tipo de lesión, según la escala del IRRI modificada. Con respecto a los genes *Pia*, *Piks* y *Pita*, los cuales tenían dos diferenciales de diferente donante, el comportamiento no fue el mismo para todos los aislamientos, por ello no se tuvieron en cuenta para el cálculo de virulencia. Considerando los diferenciales conteniendo los 23 genes restantes, los seis aislamientos tuvieron perfil de patogenicidad diferente. Se detectó variabilidad en la virulencia de los aislamientos (Cuadro 1). No hubo similitud ni en porcentaje de virulencia ni en proporción de genes compatibles (con reacción de susceptibilidad), entre aislamientos del mismo origen geográfico. Ningún aislamiento infectó a todos los diferenciales. Ningún gen fue compatible con los seis aislamientos. El diferencial con el gen *Pikm* no manifestó síntomas con ninguno de los seis aislamientos. Se encuentra en marcha la repetición de este ensayo en la EEA Sombrerito, Corrientes.

Cuadro 1. Virulencia, expresada como porcentaje, calculada entre el número de reacciones de compatibilidad con respecto a los 23 genes de resistencia a *P. oryzae* y aislamientos 925 y 926 (Chaco), 930 y 931 (Entre Ríos) y 932 y 929 (Santa Fe).

Chaco		Entre Ríos		Santa Fe	
925	926	930	931	932	929
4.3	43	65	61	78	8.7

Evaluación del comportamiento de genotipos de arroz frente a aislamientos nativos de *Pyricularia oryzae* nativos.

ASSELBORN, M.N.¹, BOUVET, M.², MAUMARY, R.²; BONELL, L.; GALVÁN, F.; BURDYN, L.³, PEDRAZA, M.V.¹

¹632000- EEA Concepción del Uruguay INTA. ²Facultad de Ciencias Agrarias (UNL). ³431000- EEA Sombrerito INTA. pedraza.maria@inta.gob.ar

En Argentina, el Quemado del Arroz (QA), provocado por el hongo *Pyricularia oryzae*, es la enfermedad más temida. La resistencia genética es la herramienta más eficiente de manejo. Sin embargo, la dinámica y complejidad del pato-sistema dificultan la obtención de variedades resistentes. Se han evidenciado diferencias de comportamiento en el campo, para los materiales ofrecidos para la siembra. La mayor parte del área sembrada con arroz se encuentra ocupada por las variedades “Gurí INTA-CL”, “Puitá INTA-CL”, “Cambá INTA-Proarroz”, susceptibles a la enfermedad. Irga-424 y RP2 están caracterizadas como de buen comportamiento a campo frente a QA. “Ñupoti”, variedad liberada por INTA recientemente, carece de años de registro en cultivos comerciales. “EP144” es una variedad antigua y conocida como susceptible. San Javier es una variedad liberada por el Ministerio de la Provincia de Santa Fe, conocida como de buen comportamiento a QA. “Cr 2006” es una línea promisorio del Programa de Mejoramiento Genético de INTA, resistente a QA, y que se encuentra en evaluación para su inscripción como variedad comercial. El objetivo del trabajo fue evaluar el comportamiento de cultivares de arroz frente a aislamientos de diferente origen geográfico. Se evaluaron los cultivares “Cambá, Puitá”, “Gurí”, “Irga-424”, “Ñupoti”, “EP144”, “RP2”, “San Javier” y la línea promisorio “Cr2006”. Se utilizaron

los aislamientos 925 y 926 obtenidos en Chaco, 930 y 931 de Entre Ríos y 932 y 929 de Santa Fe. Se realizaron las pruebas de patogenicidad en invernáculo, asperjando plántulas en estado de 5 hojas, con suspensión de conidios de *P. oryzae* (aprox. 10^5 conidios/ml). Las plantas se fertilizaron con urea (120 kg urea/ha), 14 días desde la siembra y un día antes de la inoculación. Diez días posteriores a la inoculación, se registró el número de plantas con síntomas de QA y el tipo de lesión, según la escala del IRRI modificada. Los resultados se presentan en la Cuadro 1. Se registraron reacciones positivas de la variedad “San Javier” con los aislamientos 925, 930 y 932. Por tal motivo, se realizaron análisis moleculares de identidad genética de las plantas enfermas, y se detectó falta de pureza genética de la semilla utilizada, por lo cual, no se presentan los resultados para esta variedad. “Irga-424”, “Ñupoti” y la línea “Cr 2006” no presentaron reacciones de compatibilidad con los aislamientos evaluados.

Cuadro 1. Reacción de cultivares y línea promisoría de arroz frente a aislamientos nativos de *P. oryzae* procedentes de Chaco, Entre Ríos y Santa Fe.

Genotipo	Aislamientos de <i>Pyricularia oryzae</i>					
	Chaco		Entre Ríos		Santa Fe	
	925	926	930	931	932	929
CAMBÁ	++	-	++	++	++	-
PUITA	++	++	++	++	++	++
GURI	++	++	++	++	++	++
IRGA 424	-	-	-	-	-	-
ÑUPOTI	-	-	-	-	-	-
EP 144	++	+	++	++	++	+
RP2	-	-	+	-	-	-
CR2006	-	-	-	-	-	-

(++): compatible, (+): compatible con menos del 20% de incidencia de plantas enfermas, (-): incompatibilidad

Cancro del tallo por *Diaporthe caulivora*: estudio histopatológico de las vías de infección dentro de plantas de soja.

MONTOYA, M.

Colaboradores: RIDAO, A.; COLABELLI, M.

721000- Balcarce INTA. FCA, UNMdP

Contacto:

montoya.marina@inta.gob.arridao.azucena@inta.gob.arcolabelli.mabl
e@inta.gob.ar.

El cancro del tallo de la soja (CTS) por *Diaporthe caulivora* (*Dc*), se ha convertido en el tipo de cancro prevalente en Argentina, desde el primer reporte en 1999. De la misma manera que para el tratamiento de otras enfermedades, se requiere del uso combinando de varias estrategias de manejo, aunque éste se torna difícil y ofrece desafíos a la investigación. La falta de resistencia genética y la ocurrencia de infecciones latentes en plantas asintomáticas son problemas que resultan en una efectividad escasa o nula de otras medidas de manejo. Con los objetivos de describir las vías de infección y proliferación de *Dc* en los tejidos de plantas de soja y caracterizar la ocurrencia de plantas con infecciones latentes de *Dc*, se han iniciado actividades desde mediados de 2014 que confluirán eventualmente en la obtención de resultados esperados. Para ello se han llevado a cabo actividades para adquirir habilidades específicas, materiales y ajustar ciertas técnicas y procedimientos. Los mismos se enumeran a continuación:

- Genotipos de soja: semilla de tres materiales (dos comerciales y uno precomercial) fueron provistas por el criadero/distribuidor autorizado y serán usados en esta actividad. Los mismos poseen un comportamiento putativo diferente ante la enfermedad estudiada.

- Inoculaciones sin herida que permiten estudiar la invasión del hongo en los tejidos. En plantas del cultivar "DM3810" en estadio V2 se probaron alternativas, entre ellas, variación del tipo y sustrato del inóculo, el material para cubrirlo y

condiciones de incubación post-inoculación. Se ha logrado reproducir la enfermedad en plantas inoculadas sin herir con diferente tipo de inóculo.

- Pruebas de penetración/invasión *in vitro*. Se realizaron inoculaciones, *in vitro* de fragmentos de porciones del tallo (debajo del nudo 1) con micelio para observar estos procesos de manera preliminar. Luego de una semana de incubación se pudo identificar micelio teñido con azul de tripano, en preparados semipermanentes de cortes de tejidos del sitio inoculado.

- Entrenamiento en técnicas de tinciones histológicas tradicionales y estudio de morfología y anatomía vegetal: prácticas de cortes longitudinales y transversales de plantas de diferentes estadíos (Vn y Rn), Uso y ajuste de técnicas de tinción de tejidos vegetales tradicionales para hongos como azul de tripano y azul de anilina (concentración y tiempos de tinción), observación bajo microscopio y registro fotográfico. Para estas actividades se usaron plantas con síntomas de cancro provenientes de inoculación natural en el campo y de ensayos de inoculación asistida en condiciones controladas. Observaciones preliminares han permitido detectar la presencia del hongo en los tejidos internos del tallo de las plantas sintomáticas y asintomáticas. Se planea introducir el gen de la GFP en un aislamiento de *Dc*. Esto permitirá realizar, mediante microscopía de fluorescencia, el seguimiento inequívoco del proceso de infección a través del tiempo en plantas de soja desde el momento de inoculación con un método sin herida.

Montoya, M. 2015. Nota sobre “**Enfermedades de soja**”. Para Hernán Viera, Programa N° 377 de Panorama Agropecuario Canal 2 Balcarce y Canal 8 de Mar del Plata. Emitido 12/03/2015, 13/03/2015 y 14/03/2015 (Canal 8 de Mar del Plata).

Montoya, M. 2015.**Recomendaciones para evitar las pérdidas por enfermedades en la producción sojera.** pag.23. Suplemento Agropecuario Diario El Eco de Tandil, 21/02/2015.

Montoya, M. 2015. **Cómo evitar pérdidas por enfermedades en la producción sojera.** Para Gloria Kaspar y Jorge Barreto Comunicaciones INTA. Fecha: 18/02/2015. <<http://inta.gob.ar/noticias/como-evitar-perdidas-por-enfermedades-en-la-produccion-sojera>>.

Ridao A. del C. y Montoya M. R. A. 2014**Enfermedades Prevalentes de Soja.** En: Ridao A. del C., Montoya M. R. A., Erreguerena, I. A. (Eds.). Enfermedades Prevalentes de Girasol, Soja y Maíz. Guía de reconocimiento en el campo. 2ª Edición. ReTSaVe, Grupo Patología Vegetal, Unidad Integrada Balcarce. INTA. Editorial El Vikingo, Balcarce, Argentina. 50 pp.

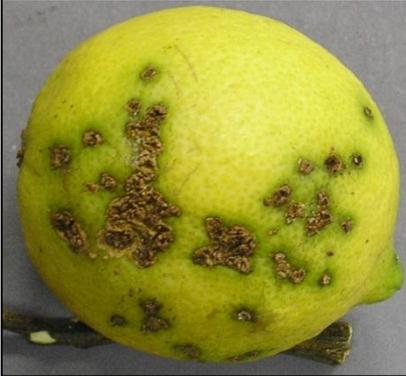
Montoya, M.; Ridao, A. del C. 2014.**Severidad de síntomas causados en soja por aislamientos patogénicos de *Diaporthe caulivora* del sudeste bonaerense.** Libro de Resúmenes del 3º Congreso Argentino de Fitopatología, San Miguel de Tucumán, 4 a 6 junio 2014: 469.

Ridao, A. del C.; Montoya, M. 2014. **Soja: cerca del final... ¿qué enfermedades podemos cosechar? ¿y volver a sembrar?** Visión Rural XXII (101):08-11. ISSN 0328-7009.

Galería de Imágenes

ESTUDIOS SOBRE RESISTENCIA A CANCROSIS, BLACK SPOT, CVC, Y HLB EN EL GERMOPLASMA CÍTRICO DISPONIBLE (A. M. GOCHEZ Y col.).

1



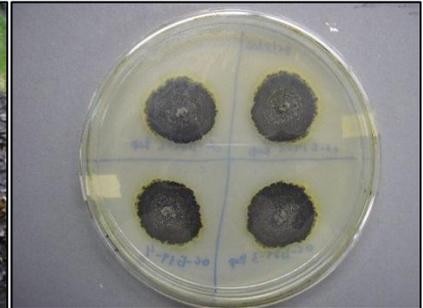
2



3



4



Síntoma de cancrrosis en fruto de limón “Eureka 22” causados por *Xanthomonas citri* tipo A (Xac-A) (1). Inhibición del crecimiento causada por cepas de Xac-A sobre cepa de *X. fuscans* pv. *aurantifolii* (tipo B) patógena de *Citrus* (2). Severo ataque de mancha negra (black spot) en mandarina “Nova” (3). Aislamientos de *Guignardia citricarpa* desde síntomas en mandarina “Nova”.

IDENTIFICACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS VIRALES
INVOLUCRADAS EN LA INDUCCIÓN DE SÍNTOMAS PRODUCIDOS POR
POTYVIRUS EN ALLIACEAE (M. G. CELLI y col.).

1



2



Plantas de cebolla infectadas con *Onion yellow dwarf virus*, (1) aislamiento severo, (2) aislamiento suave.

RESPUESTA DE OLIVO (*Olea europaea* L.) FRENTE A INFECCIÓN NATURAL POR MICROORGANISMOS (B. A. PEREZ y col.).

1



2



3



4



Síntomas observados en infecciones naturales en olivo “Manzanilla” en Catamarca: muerte descendente o seca parcial (1), lesión oscura húmeda con abundante exudado (2), síntomas de “verticilliosis” (3), pudrición de raíz y base de tallo (4).

5



6



7



8



Seca de olivo "Arauco" (5), abundante exudado en corte transversal (6), cancro (7) y pudrición del tronco (8) por hongos en Aimagasta (La Rioja).

9



10



Cancro oval en rama de olivo “Manzanilla” (9) y corte longitudinal mostrando galerías producidas por larvas de artrópodos que luego facilitaron la pudrición por agentes bióticos en Catamarca (10)

REACCIÓN DE OLIVO (*Olea europea* L.) "CAROTINA" FRENTE A *Pestalotiopsis* (AMPHISPHAERIACEAE) Y *Phoma* cf. *glomerata* (Peyronellaea). (B. A. PÉREZ y col.)

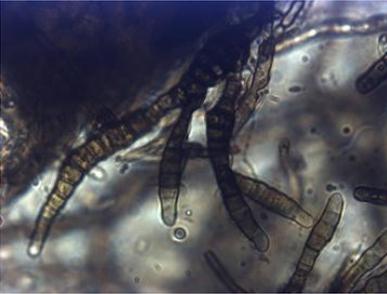
1



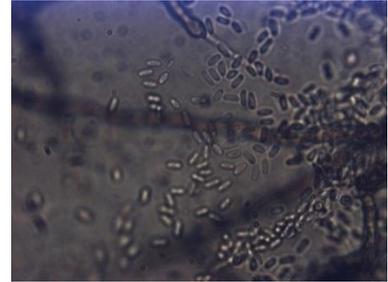
2



3



4



Cultivo de *Pestalotiopsis* con escasas fructificaciones en APG 2% y oscuridad (1). Observación macroscópica de abundante producción de conidios de *Pestalotiopsis* agrupados en masas negras (2). *Dictyoclamidosporas alternarioides*, típicas de la Sect. *Peyronellaea*, de *Phoma* cf. *glomerata* obtenidas en medio AZ luego de 2 meses a temperatura de laboratorio y 14 días a 5°C (3). Picnidio y conidios, obtenidos en medio AZ, de *Phoma* cf. *glomerata* aislada de "cancros" en olivo (4).

5



6



7



Brotos de *Eucalyptus grandis* (5), hojas separadas de *Populus deltoides* (6) y olivo "Coratina" (7) inoculados con *Pestalotiopsis*. Avance de infección/colonización, necrosis en pecíolo, nervaduras y lámina de las hojas. Masas negras de conidios sobre las lesiones.

CANCRO DEL TALLO POR *Diaporthe caulivora*: ESTUDIO

HISTOPATOLÓGICO DE LAS VÍAS DE INFECCIÓN DENTRO DE PLANTAS DE SOJA (M. MONTOYA y col.).

1



2



Síntoma típico del cancro del tallo por *Diaporthe caulivora* en soja (1). Corte longitudinal de tejidos de tallo de soja colonizados por *D. caulivora* luego de su inoculación con micelio. Hifas teñidas con azul de anilina 0.1%, 400X. Microscopio y cámara Olympus (2).

En esta publicación se detallan los avances sobre resistencia genética de cultivos de cereales (arroz, trigo), frutales (ciruelos, cítricos, olivo, vid), hortalizas (ajo, melón, poroto, tomate, zapallo), industriales (yerba mate) y oleaginosas (soja) frente a microorganismos patógenos para los ambientes de influencia de las Estaciones Experimentales e Institutos de INTA en Buenos Aires (Balcarce, IMYZA-Castelar), Corrientes-Entre Ríos-Misiones (Bella Vista, Cerro Azul, Concepción del Uruguay, Sombbrero), Catamarca-La Rioja, Córdoba (IFRGV e IPAVE), Mendoza (Junín, Luján de Cuyo, Rama Caída), Jujuy (Yuto) y Valle Inferior de Río Negro con participación de CONICET, SENASA-La Rioja y las Universidades de Córdoba, Cuyo, Litoral y Nordeste.

Las investigaciones abarcaron interacciones planta-patógeno-ambiente/manejo/vector, caracterización morfo-molecular de microorganismos y sus vectores, resistencia de microorganismos frente a agroquímicos y obtención/identificación de genotipos con resistencia genética frente a patógenos con técnicas de microscopía óptica y electrónica (MET, MEB), biobalística, serológicas (DAS-ELISA, NC-ELISA, marcado con peroxidasa, Western blot) y moleculares (RT-qPCR, secuenciación masiva NGS), bioinformática y filogenia.

ISBN 978-987-521-671-6



Ministerio de
Agricultura, Ganadería y Pesca
Presidencia de la Nación