

# Identificación de *Botrytis allii* en semillas y bulbos de cebolla producidas en la region de Cuyo, Argentina

Valdez, J.G.; Caligiore Gei, P.F. y Tarnowski, C.G.

INTA La Consulta, Mendoza, Argentina. valdez.jorge@inta.gob.ar

## Introducción

Se cultivan aproximadamente 700 ha de cebolla para semillas en Cuyo (Fig 1). La pudrición del cuello es una enfermedad que afecta la producción y además, se transmite por semillas. Esto puede generar barreras parancelarias afectando ingresos del orden de 15 M U\$S al sector. El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia de *Botrytis* sp. en semillas de cebolla, (Fig 2. y Fig 3) determinar su patogenicidad e identificar las especies presentes.

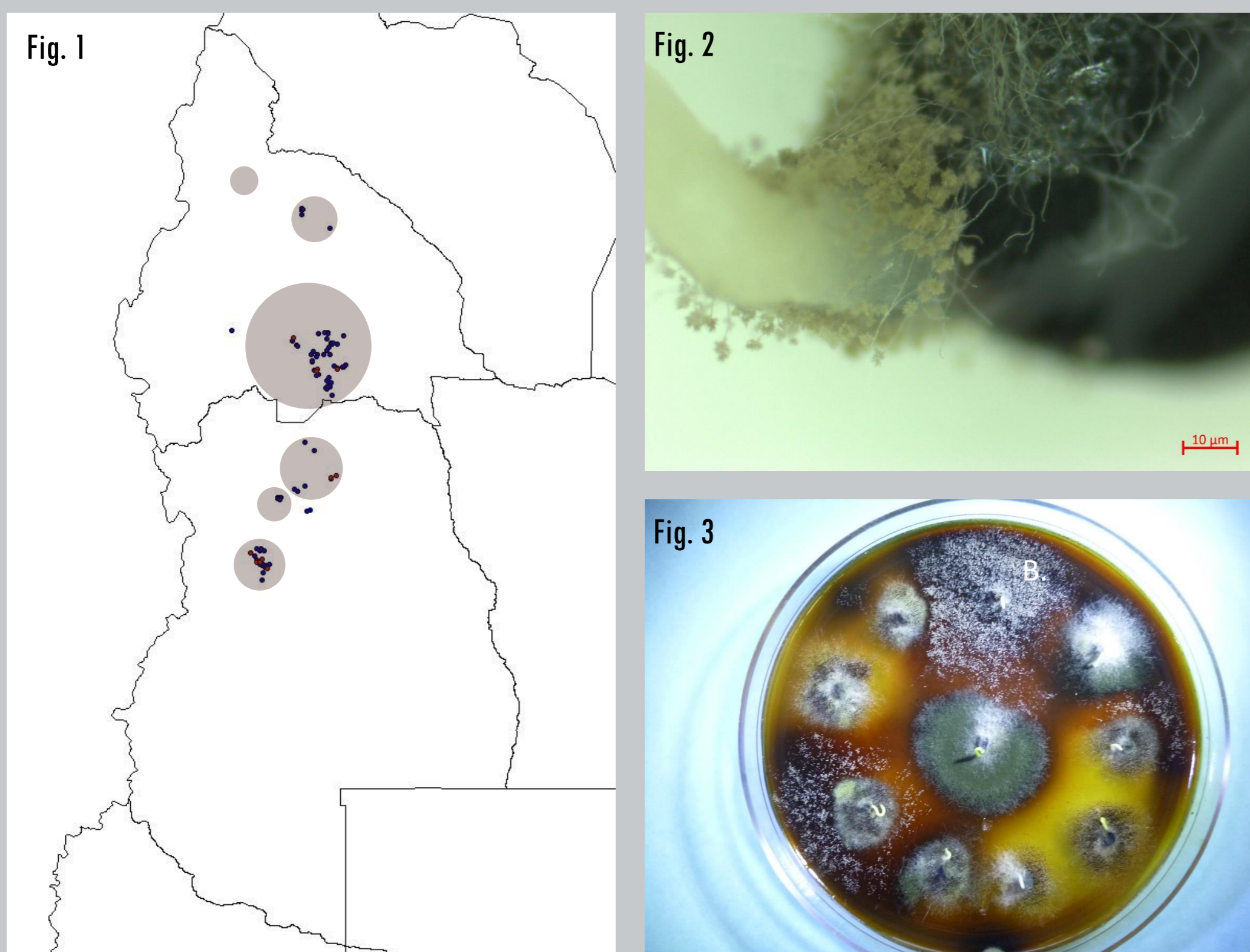


Fig 1: Puntos de muestreo (azules) y muestras con *Botrytis* (rojas). Los círculos son proporcionales a la superficie de producción.

Fig 2: Detalle de colonia de *Botrytis* desarrollándose en una plántula de cebolla.

Fig 3: Medio de Kritzman, con colonias de *Botrytis* (B), *Penicillium* y otros hongos.

## Materiales y Métodos

- Patología de semillas DFB y medio de Kritzman. Dos campañas, 2015/2016 y 2017/2018, 130 muestras.
- Inoculación en bulbos Cv. Tinta, reisolamiento.
- Extracción de DNA: método CTAB modificado. Lavado previo con buffer TE. Disgregado con micelio liofilizado o fresco congelado a  $-80^{\circ}\text{C}$ .  $\beta$  mercaptoetanol. Cloroformo isoamilico 24-1. Acetato de potasio 3M<sup>1</sup>
- Amplificación de ITS (ITS1 e ITS4, Macrogen) y SCAR 413 bp<sup>2</sup>
  - BA2f: GTGGGGGTAGGATGAGATGATG
  - BA1r: TGAGTGCTGGCGGAAACAAA
- Digestión de SCAR 413 con XapI 5' RIA A T T Y 3'
- Visualización: Agarosa 2%, 90 V x 100 min. Gel Green x 30 min.

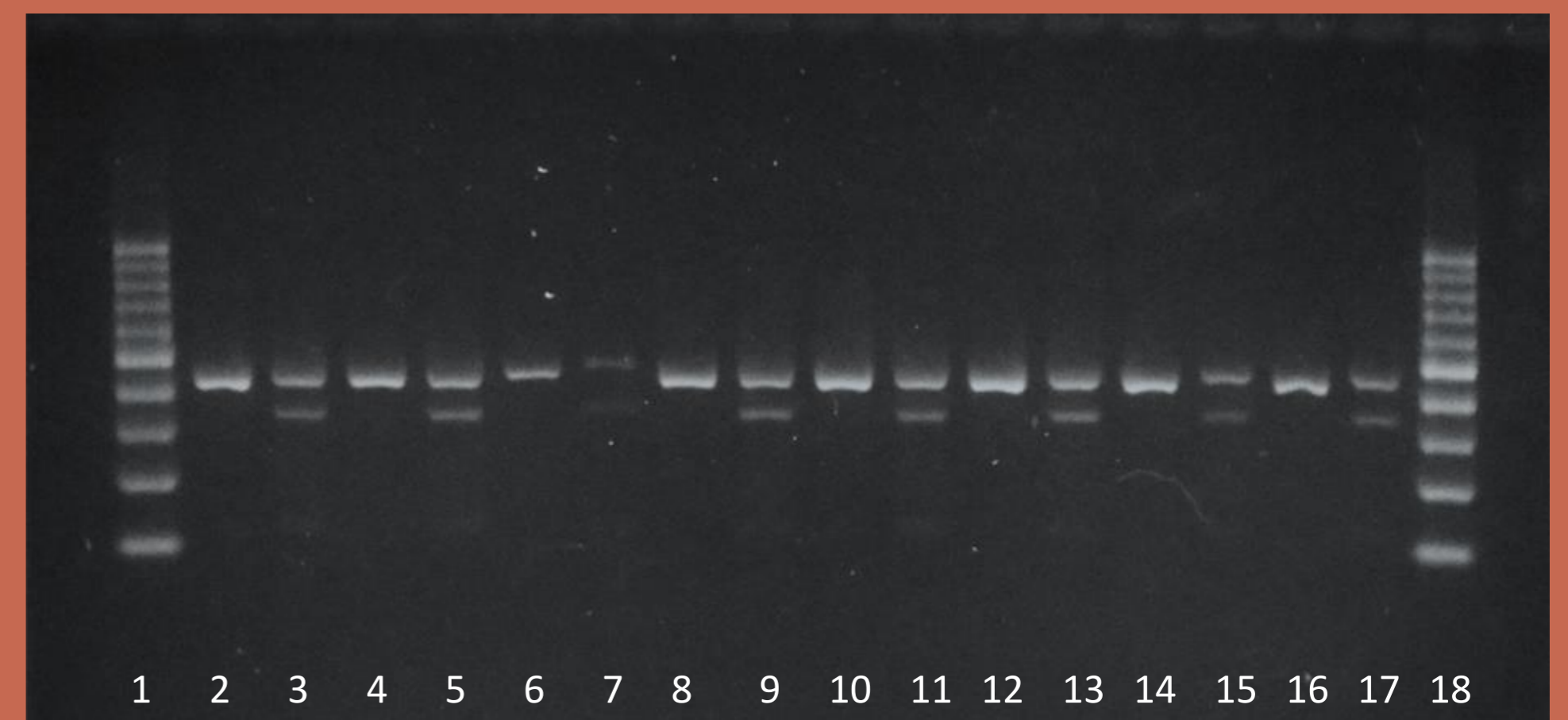


Fig. 4. Calles 1 y 18: M 100 pb. En los siguientes, la primer calle es el producto PCR de 413 pb y la segunda es la digestión con XapI de la misma muestra. Calles 2 y 3: LJC 10633; 4 y 5: LJC 10634; 6 y 7: LJC 10597; 8 y 9: LJC 10535; 10 y 11: LJC 10629; 12 y 13: LJC 10599; 14 y 15: LJC 10635; 16 y 17 LJC 10595(\*).

\*: LJC 10595 Aislada a partir de bulbo infectado.

## Resultados y Discusión

De las 130 muestras analizadas, se detectaron 9 con infecciones de *Botrytis*; tres de la campaña 2015/16 y seis de la campaña 2017/2018. La digestión con XapI generó en todos los aislados un fragmento de 298 pb, coincidiendo con la identificación de *Botrytis allii* propuesta por Nielsen et al (2002). Las secuencias de ITS (Fig 5.) no pudieron discriminar especies. Todas las cepas fueron patógenas (Fig 6).



Fig. 6. Ensayo de patogenicidad. LJC 10597 Pos 16 (S); *B. cinerea* LJC 10524, Pos 17, 18 y 20; LJC 10595 Pos 19 (B). Detalle de LJC 10597 partido.

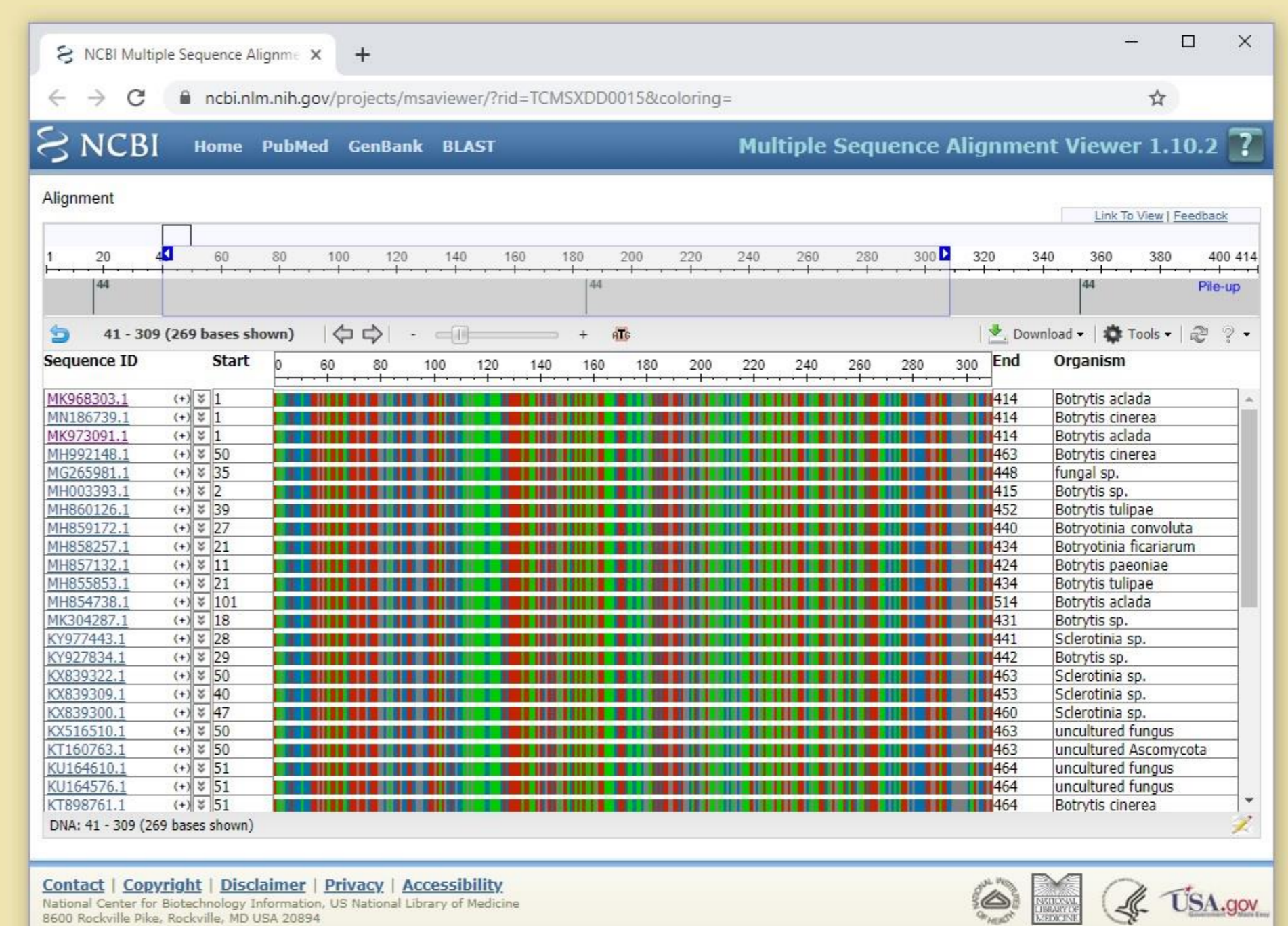


Fig. 5. Alineamiento múltiple (MSA, NIH) de secuencias ITS correspondientes a las cepas LJC 10595, (MK968303.1) y LJC 10597 (MK973091.1). No se observan diferencias nucleotídicas entre distintas especies de *Botrytis*.

## Referencias

- 1: Fontana, Lorena. 2019. Tesis de Licenciatura en Genética. FCEQN, UNaM
- 2: Nielsen et al. 2002. DOI: 10.1094/PDIS.2002.86.6.682