

DIAGNÓSTICO DE AGENTES BIÓTICOS VINCULADOS AL SÍNDROME DE AMARILLAMIENTO DEL GARBANZO (SAG) EN LAS PROVINCIAS DE SALTA Y SANTIAGO DEL ESTERO, CAMPAÑAS 2021 Y 2022

B. Pugliese, J. Edwards Molina, A. Pérez, A. Fekete, M.E. Maggio, L. Riva, P. Rodríguez Pardina, S. Pastor.



DIAGNÓSTICO DE AGENTES BIÓTICOS VINCULADOS AL SÍNDROME DE AMARILLAMIENTO DEL GARBANZO (SAG) EN LAS PROVINCIAS DE SALTA Y SANTIAGO DEL ESTERO, CAMPAÑAS 2021 Y 2022

Pugliese B.¹⁻², Edwards Molina J. P.³, Perez A. A.⁴, Fekete A. C.⁵, Maggio M. E.⁵, Riva L. A.⁶, Rodriguez Pardina P.¹⁻², Pastor S.¹⁻²

- 1- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Patología Vegetal (IPAVE); Argentina.
- 2- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Unidad De Fitopatología Y Modelización Agrícola (UFyMA); Argentina.
- 3- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Balcarce (EEA Balcarce); Argentina.
- 4- Universidad Nacional de Córdoba (UNC), Facultad de Ciencias Agrarias (FCA); Córdoba, Argentina
- 5- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Estación Experimental Salta (EEA Salta); Argentina.
- 6- Universidad Nacional de Salta (UNSa), Facultad de Ciencias Naturales (FCN); Salta, Argentina.

Contacto: pastor.silvina@inta.gob.ar

Introducción

La principal zona productora de legumbres de Argentina se encuentra en las regiones centro y noroeste del país, incluyendo las provincias de Salta, Jujuy, Tucumán, Santiago del Estero, Córdoba y Santa Fe. El complejo de legumbres posee un perfil claramente exportador ya que, aproximadamente, el 60% de su producción se comercializa en el mercado externo. Durante el primer semestre del año 2022, la exportaciones de garbanzo (*Cicer arietinum*) le significaron al país un ingreso de 29 millones de dólares, el doble de lo registrado en el año 2021 ([BCR, 2022](#)).

Durante la campaña 2022/23, en Argentina, se sembró un 14% menos de superficie, con respecto a la campaña anterior, lo que equivale a 73.617 ha de garbanzo, de las cuales 30.117 corresponden a la provincia de Salta y 15.800 a Santiago del Estero (41% y el 21% de la superficie de garbanzo del país, respectivamente). La producción total obtenida fue de 65.934 tn, un 35% menos que la campaña 2021/22 ([MAGyP, 2023](#)). Dos de las principales causas de la disminución en la superficie sembrada y en el rendimiento del cultivo, son las condiciones ambientales adversas para su desarrollo y las problemáticas sanitarias. Entre estas últimas, las afecciones por marchitez y amarillamiento del garbanzo han tomado protagonismo durante los últimos años ([BCC, 2022](#)).

Típicamente, los síntomas de marchitez y amarillamiento en garbanzo han sido asociados con la presencia del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* ([Aguaysol et al, 2013](#); [Alloosh et al, 2019](#); [Jiménez-Díaz et al, 2015](#)). Sin embargo, los altos niveles de incidencia detectados en la campaña 2018/19 condujeron a sospechar de la participación de otros agentes bióticos, o incluso abióticos, en la manifestación de esta sintomatología. Por este motivo se denominó a la problemática “síndrome de amarillamiento del garbanzo” (SAG) reconociéndola como un conjunto de síntomas en la que múltiples agentes causales, pueden estar involucrados (Pastor et al., 2019; Rodríguez Pardina et al., 2018).

El objetivo del presente estudio fue determinar qué agentes bióticos (principalmente hongos y virus) están asociados a la manifestación del SAG en lotes de producción de las provincias de Salta y Santiago del Estero durante las campañas 2021/22 y 2022/23.

Materiales y métodos

Durante las campañas 2021/22 y 2022/23 se tomaron muestras de 14 lotes de producción de garbanzo ubicados al noreste (Sachayoj y Quimilí), noroeste (Nueva Esperanza y Pozo Hondo) y este (Frías) de Santiago del Estero y del sur (Metán) y norte (Aguaray) de Salta (figura 1).

Sitios muestreados durante 2021 y 2022

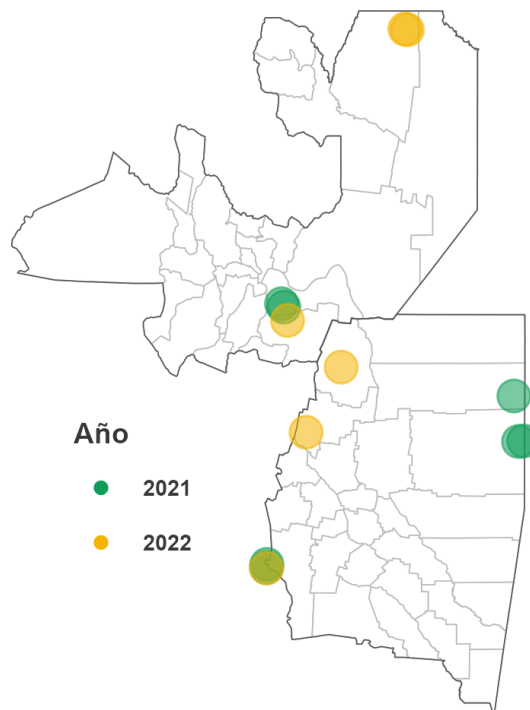


Figura 1: Ubicación de los lotes muestreados durante los años 2021 y 2022.

Para realizar el diagnóstico de los agentes bióticos asociados con la manifestación del SAG, se propuso un muestreo sistemático dirigido, el cual consistió en realizar un recorrido en "V" dentro de cada lote, con cinco estaciones de muestreo equidistantes. En cada estación se recolectó una planta con síntomas de amarillamiento y una como testigo asintomático que se encontraba próxima a la planta sintomática. En total se tomaron 10 plantas por cada lote, cinco de ellas sintomáticas y cinco testigos asintomáticos. Por otro lado, debido a que los virus detectados suelen estar en niveles de incidencia menores y solo en plantas con síntomas, se recolectaron otras 10 plantas con SAG que únicamente se usaron para complementar el diagnóstico de virus.

Para las 140 plantas recolectadas se registraron los síntomas presentes y se tomaron imágenes tanto de su parte aérea, como de su sistema radicular. Además, se realizaron cortes longitudinales a la altura del cuello de la planta para observar el tejido vascular y verificar la presencia de galerías provocadas por insectos. Analizar la zona del cuello de la planta es importante debido a que allí suele observarse una coloración amarronada en el xilema cuando hay una afección por hongos y en el floema para algunas de las especies de virus ([Jiménez-Díaz et al., 1989](#); [Haobing et al., 2015](#)).

Todas las plantas muestreadas fueron analizadas mediante diagnóstico de hongos y virus en paralelo. Para el estudio de hongos, se separó el sector del cuello y raíz de la planta mediante un corte transversal. Luego, se fraccionó este tejido en pequeños trozos los cuales fueron desinfectados exteriormente con hipoclorito de sodio y fueron sembrados en placas de Petri con medio agar papa glucosado (PDA) y antibiótico. Estas placas se incubaron a 24°C durante 7 días con un fotoperíodo de 10 horas de luz blanca y 12 de luz negra (ultravioleta). Una vez completado el tiempo de incubación, se analizaron las colonias de hongos crecidas a partir de los tejidos vegetales las cuales fueron repicadas a nuevas placas de PDA para proceder con su identificación. La observación macroscópica y microscópica de las colonias formadas permitieron su identificación hasta el nivel taxonómico de género. Por último, cada uno de los aislados de hongos obtenidos fueron conservados en la colección de micología del banco de patógenos del Instituto de Patología Vegetal (IPAVE).

A los aislados del género *Fusarium* spp. provenientes de muestras de la campaña 2021/22, se les realizó extracción de DNA con kit comercial. Luego, su material genético fue usado para una reacción de PCR con primers específicos para la especie *F. oxysporum* ([Mishra et al., 2003](#)), con el objetivo de reconocer cuáles de los hongos del género coleccionados en 2021/22 pertenecen a la mencionada especie.

Para el diagnóstico de virus se tomaron, de la parte aérea de la planta, los ápices y su tejido más próximo. Éstos se analizaron mediante técnicas serológicas (PTA ELISA, DAS ELISA o TAS-ELISA, según corresponda) con anticuerpos específicos para todos los virus que han sido reportados en garbanzo hasta el momento: *alfalfa mosaic virus* (AMV), *bean leaf roll virus* (BLRV), *cucumber mosaic virus* (CMV), *tobacco ringspot virus* (TRSV), *tobacco streak virus* (TSV), *tomato spotted wilt virus* (TSWV), *soybean dwarf virus* (SbDV) y el género Potyvirus.

Resultados y discusión

Los resultados de los diagnósticos, considerando la totalidad de las muestras, se encuentran resumidos en el siguiente gráfico (figura 2):

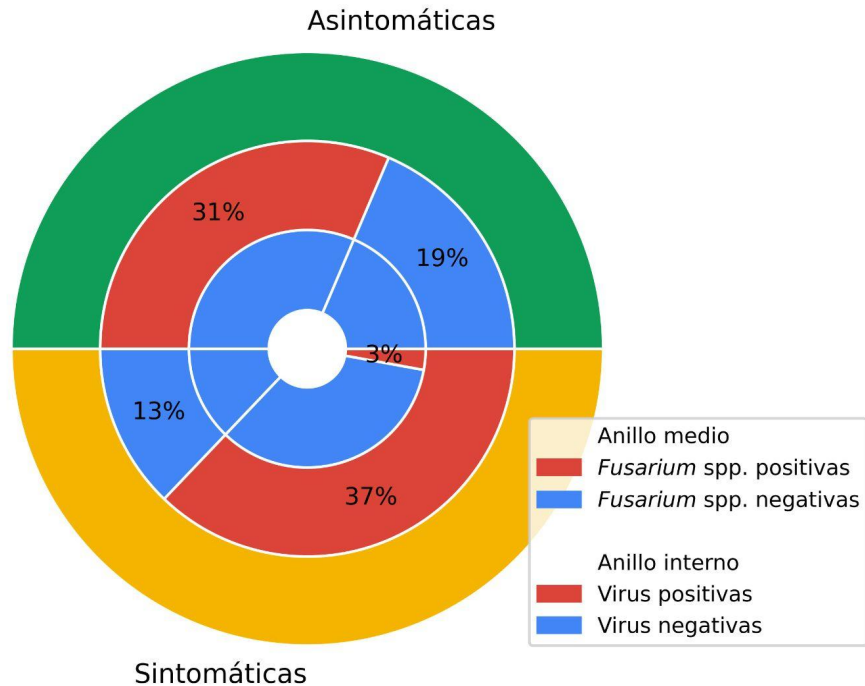


Figura 2: Resultado de diagnóstico de agentes bióticos vinculados al SAG para todas las plantas muestreadas durante 2021 y 2022.

Por la metodología de muestreo descrita, la mitad de las plantas analizadas (50%) fueron asintomáticas y la otra mitad sintomáticas. Al tratarse de un muestreo dirigido, los porcentajes de plantas con síntomas mostrados por el anillo externo del gráfico anterior no expresan la incidencia de SAG.

El género fúngico aislado en mayor frecuencia fue *Fusarium* spp. Éste estuvo presente tanto en muestras sintomáticas como en muestras asintomáticas en porcentajes semejantes, 37% y 31% respectivamente. La frecuente presencia de *Fusarium* spp. en plantas asintomáticas coincide con resultados observados en otras evaluaciones semejantes realizadas en la provincia de Córdoba (Pugliese et al. 2022). Esto puede explicarse de diferentes maneras, una posibilidad es que los aislados presentes en plantas asintomáticas no sean patogénicos, por lo que no generan síntomas en su hospedante. Otra posible explicación es que estos hongos tengan la capacidad de comportarse como endófitos durante una parte del ciclo del cultivo y luego, frente a algún tipo de estrés, se tornen patogénicos. Este comportamiento del género *Fusarium* spp. ha sido reportado en diferentes especies vegetales como, por ejemplo, en maíz (*Zea mays*) (Bacon et al. 2001).

El segundo género de hongos aislado en mayor frecuencia fue *Macrophomina* spp., el cual fue detectado en el 7% de las muestras asintomáticas y en el 19% de las plantas sintomáticas. Este género no se fue detectado en los estudios realizados en la provincia de Córdoba (Pugliese et al. 2022) por lo que se podría inferir que su presencia en garbanzo es característica de la región noroeste del país. También fue detectado, en baja proporción, el género *Rhizoctonia* spp.

Como se mencionó anteriormente, por observación de características macroscópicas y microscópicas de las colonias que crecieron en el medio de cultivo, los aislados fueron

identificados, inicialmente, hasta nivel de género. De la campaña 2021/22 se coleccionaron alrededor de 75 aislados, de los cuales 67 (95%) fueron identificados como pertenecientes al género *Fusarium* spp. Como resultado de la identificación molecular a partir de PCR, se obtuvo que la totalidad de estos hongos pertenecen a la especie *F. oxysporum*. Esto posibilita el avance de otros estudios en desarrollo, como la identificación de razas patogénicas de la especie *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* por métodos moleculares.

En el caso del diagnóstico de virus, solo fue detectado BLRV en un 3% de las muestras analizadas, pertenecientes a lotes cercanos a las localidades de Frías y Horcones y en todos los casos se trató de plantas sintomáticas con infección de *Fusarium* spp. Estos resultados difieren bastante a los reportados en la provincia de Córdoba, en donde se encontró mayor presencia de estos patógenos y una mayor diversidad de especies como, por ejemplo, *alfalfa mosaic virus* (AMV) (Pugliese et al, 2022b).

Al analizar particularmente los resultados del diagnóstico de *Fusarium* spp. de cada lote, se observó una gran diversidad de situaciones (figura 3):

Diagnóstico de *Fusarium* spp. por lote

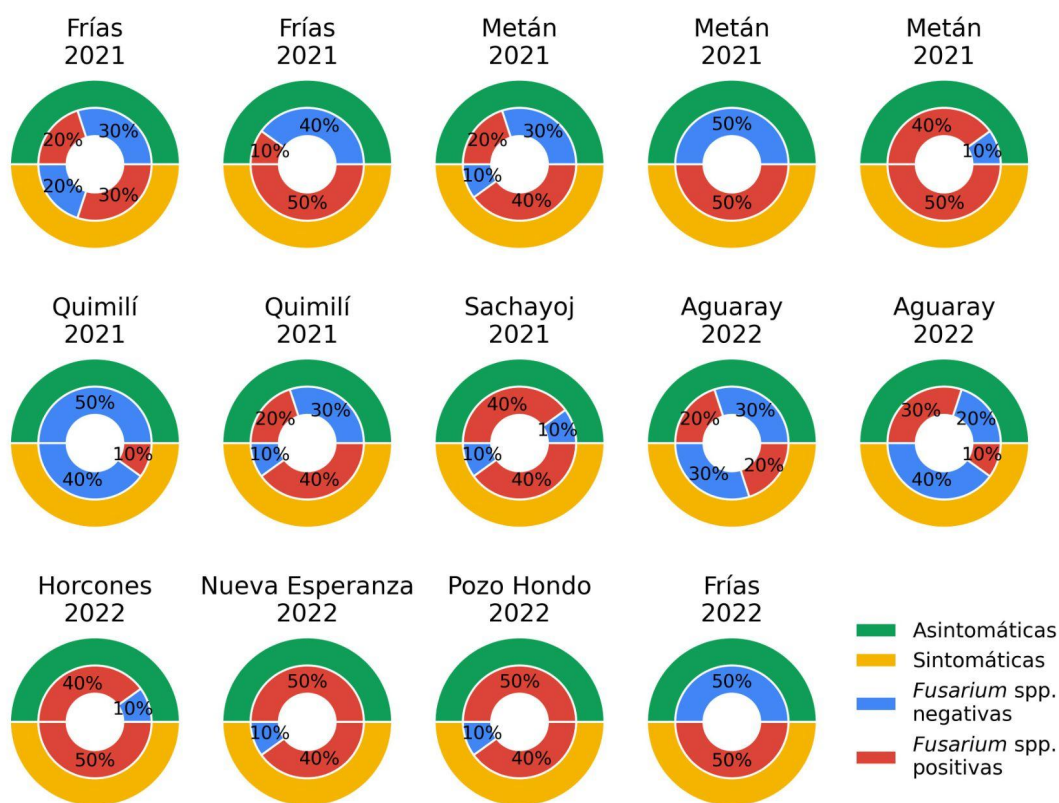


Figura 3: Detecciones de *Fusarium* spp. como resultado del diagnóstico de hongos, diferenciado por cada lote muestreado. El título de cada gráfico muestra la localidad más próxima al lote y el año en el que se tomaron las muestras.

Hubo lotes con alta presencia de *Fusarium* spp. tanto en muestras sintomáticas como en asintomáticas (tercer lote de Metán-2021, Horcones-2022 y Pozo Hondo-2022),

otros con escasa presencia del hongo (primer gráfico de Quimilí-21). Esta variabilidad de situaciones aportan datos importantes para estudios epidemiológicos que se encuentran actualmente en desarrollo dentro del IPAIVE. Uno de los principales objetivos de este tipo de análisis es relacionar las condiciones ambientales y de manejo de los lotes con la presencia de los agentes bióticos detectados con el fin de encontrar factores predisponentes al desarrollo del SAG.

Conclusiones

Los resultados del diagnóstico de agentes bióticos asociados al SAG en las provincias de Salta y Santiago del Estero durante las campañas 2021/22 y 2022/23 muestran una importante presencia del género *Fusarium* spp. en muestras sintomáticas y asintomáticas. También fue detectado, en una menor proporción, el género fúngico *Macrophomina* spp. De todos los virus analizados, solo se detectó BLRV a diferencia de otras regiones productivas en donde fue detectada una mayor diversidad de especies virales.

Este estudio permitió construir una colección de alrededor de 100 aislados fúngicos destinados a futuros análisis, como identificaciones moleculares para conocer las características de las poblaciones de hongos a las cuales está expuesto el cultivo de garbanzo. Esta información es de suma importancia para plantear estrategias de manejo del SAG como el desarrollo y selección de variedades de buen comportamiento frente a la enfermedad.

Actualmente, en el IPAIVE, se están llevando adelante estudios de caracterización de los agentes detectados, involucrando pruebas de patogenicidad para hongos, pruebas de transmisión de BLRV por vectores, estudios filogenéticos de hongos y virus detectados, etc. También se encuentra en desarrollo un análisis epidemiológico destinado a cuantificar la presencia de dichos agentes en diferentes campañas y regiones. Estos datos se relacionarán con variables ambientales y de manejo del cultivo para detectar posibles condiciones predisponentes al desarrollo del SAG. Todos estos trabajos tienen la intención de aportar información que complemente el conocimiento disponible sobre esta problemática, con el objetivo de contar con un mejor entendimiento de la misma y contribuir al desarrollo de propuestas de manejo eficientes y sustentables.

Financiamiento: PD-I090, PE-I132, Fundación ArgenINTA.

Agradecimientos: Establecimiento San Patricio, CONO group y a cada una de las empresas y productores que aceptaron colaborar con los sitios de muestreo evaluados.

Bibliografía

- Aguaysol, N. C., de Lisi, V., Muñoz, L., Gonzalez, V., Fogliata, G., & Ploper, L. D. (2013). Marchitamiento de plantas en cultivos de garbanzo (*Cicer arietinum*) del norte argentino, causado por *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia* sp.
- Alloosh, M., Hamwieh, A., Ahmed, S., & Alkai, B. (2019). Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* isolates affecting chickpea in Syria. *Crop Protection*, 124, 104863.
- Bacon, C. W., Yates, I. E., Hinton, D. M., & Meredith, F. (2001). Biological control of *Fusarium moniliforme* in maize. *Environmental health perspectives*, 109(suppl 2), 325-332.
- Bolsa de Cereales de Córdoba (BCC). (2022). Informe: Córdoba – Primera intención de siembra de cultivos invernales 2022/23. <https://www.bccba.org.ar/informes/cordoba-primera-intencion-de-siembra-de-cultivos-invernales-2022-23/>
- Bolsa de Comercio de Rosario (BCR). (2022). Complejo legumbres en el primer semestre de 2022: crece la importancia del sector para la economía argentina. <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/complejo>
- Jiménez-Díaz, R. M., Basallote-Ureba, M. J., & Rapoport, H. (1989). Colonization and pathogenesis in chickpeas infected by races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. In *Vascular Wilt Diseases of Plants: Basic Studies and Control* (pp. 113-121). Springer Berlin Heidelberg.
- Jiménez-Díaz, R. M., Castillo, P., del Mar Jiménez-Gasco, M., Landa, B. B., & Navas-Cortés, J. A. (2015). *Fusarium* wilt of chickpeas: Biology, ecology and management. *Crop Protection*, 73, 16-27.
- Li, H., Rodda, M., Gnanasambandam, A., Aftab, M., Redden, R., Hobson, K., ... & Slater, A. T. (2015). Breeding for biotic stress resistance in chickpea: progress and prospects. *Euphytica*, 204, 257-288.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGyP). n.d. Estimaciones Agrícolas. Accessed March 15, 2023. <https://datosestimaciones.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones>
- Mishra, P. K., Fox, R. T., & Culham, A. (2003). Development of a PCR-based assay for rapid and reliable identification of pathogenic *Fusaria*. *FEMS Microbiology Letters*, 218(2), 329-332.
- Pastor, S, Rodríguez Pardina, P, Edwards Molona, J P, 2019. Estudio del complejo agentes causales del Amarillamiento en la provincia de Córdoba. *Revista JAT (AACREA)*: 63.
- Pugliese, B. D., Pastor, S. E., Rodríguez Pardina, P., & Edwards Molina, J. P. (2022). Diagnóstico de agentes bióticos vinculados al síndrome de amarillamiento del garbanzo (SAG) en ensayos de la provincia de Córdoba, campaña 2021. IPAVE-CIAP, INTA.
- Pugliese, B. D., Edwards Molina, J. P., Pastor, S. E., & Rodríguez Pardina, P. (2022). Detección de *alfalfa Mosaic virus* (AMV) asociado al síndrome de amarillamiento del garbanzo (SAG) en Argentina.

- Rodríguez Pardina, P, Trucco, V, Reyna, P, Pastor, S, Giolitti, F, 2018. Detección del *Bean leafroll virus* en cultivos de garbanzo del NOA. 40o Congreso Argentino de Horticultura, Córdoba, pp. 241.

Resumen

Durante las campañas 2021/22 y 2022/23 se realizó la identificación de hongos y virus presentes en lotes comerciales de garbanzo, localizados en Salta (9 lotes) y Santiago del Estero (6 lotes). En cada lote se recolectaron 5 plantas sintomáticas y 5 asintomáticas. El diagnóstico de hongos se realizó a través de cultivo *in-vitro* de tejido vegetal afectado y para virus se usaron técnicas serológicas. Los aislados de hongos fueron reconocidos hasta género por observación macroscópica y microscópica de las colonias formadas en el medio de cultivo. Para los aislados pertenecientes al género *Fusarium* spp., obtenidos de plantas muestreadas en la campaña 2021/22, se realizó una identificación molecular con iniciadores específicos para la especie *F. oxysporum*. El género fúngico aislado con mayor frecuencia fue *Fusarium* spp, encontrándose en muestras sintomáticas y asintomáticas en un 37% y 31% respectivamente. Además se detectó el género *Macrophomina* spp. en el 19% de plantas sintomáticas y 7% de muestras asintomáticas. A partir de la identificación molecular de los aislados de *Fusarium* spp., provenientes de plantas muestreadas en 2021, se determinó que el 100% pertenecía a la especie *F. oxysporum*. Con el diagnóstico de virus, sólo fue detectado bean leaf roll virus (BLRV) en un 3% de las muestras. Este virus estuvo presente solo en plantas sintomáticas de lotes cercanos a las localidades de Frías y Horcones. Los resultados del presente estudio permitieron conocer qué hongos y virus están asociados a la manifestación del SAG. Otros estudios de caracterización de agentes causales, identificaciones moleculares y análisis epidemiológicos se encuentran en desarrollo dentro del IPAVE con el objetivo de aportar más información sobre la problemática y así desarrollar medidas de manejo eficientes y sustentables.



Centro de Investigaciones Agropecuarias