

Evaluación de cultivares de la Red de Ensayos de Trigo (RET) frente a bacteriosis conducida en INTA Marcos Juárez durante la campaña 2024



Martino, Julia; Pozzi, Elizabeth; Gomez Montenegro, Brenda; Salines, Nicolas; Rodriguez, Sandra Monica; Alberione, Enrique; Alemandri, Vanina

Evaluación de cultivares de la Red de Ensayos de Trigo (RET) frente a bacteriosis conducida en INTA Marcos Juárez durante la campaña 2024

Autores: Martino, Julia¹; Pozzi, Elizabeth²; Gomez Montenegro, Brenda¹; Salines, Nicolas²; Rodriguez, Monica Sandra¹; Alberione, Enrique²; Alemandri, Vanina¹

1-Instituto de Patología Vegetal (IPAVE) INTA; Unidad de Fitopatología y Modelización Agrícola (UFYMA) INTA-CONICET. Córdoba. 2- Ruta 12 km. 2-Estación Experimental Agropecuaria Marcos Juárez, EEA, X2580 Marcos Juárez, Córdoba. Correo: martino.julia@inta.gob.ar

Financiamiento: INTA I084, I083, I025, Fundación ArgenINTA.

RESUMEN

El presente informe detalla la evaluación de bacteriosis en cultivares de trigo pan realizada durante la campaña 2024 en la Estación Experimental Agropecuaria INTA Marcos Juárez, como parte de la Red de Ensayos de Trigo (RET). El objetivo fue caracterizar el comportamiento sanitario de diferentes genotipos frente a enfermedades bacterianas, con el fin de contribuir a estrategias de manejo y selección varietal.

Se analizaron muestras foliares sintomáticas de las RET 1 y RET 5, mediante aislamiento bacteriano, PCR con iniciadores específicos y generales, y pruebas de hipersensibilidad (HR). Se identificaron *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) y *Pantoea ananatis* como principales patógenos, mientras que *Xanthomonas* spp. no fue detectada. Algunas colonias no identificadas por PCR mostraron reacción HR positiva, indicando la presencia de bacterias fitopatógenas aún no caracterizadas.

En general, Pss fue el patógeno predominante, y *Pantoea ananatis* detectó asociada a su presencia. Se destaca la ausencia de crecimiento bacteriano en la variedad ACA 308 y en MS INTA119 (RET5), y la presencia reiterada de Pss en la variedad Araza sugiere una mayor susceptibilidad.

Palabras claves: Trigo pan, *Triticum aestivum*, Bacteriosis, Enfermedades foliares, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss), *Pantoea ananatis*, *Xanthomonas* spp., Tizón bacteriano, Estría bacteriana, Mosaico bacteriano, Red de Ensayos de Trigo (RET), EEA INTA Marcos Juárez, PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), Hipersensibilidad (HR), Fitopatógenos, Manejo sanitario, Identificación bacteriana, Infección bacteriana, Genotipos de trigo, Evaluación varietal, Campaña agrícola.

INTRODUCCIÓN

El trigo común (*Triticum aestivum*) es un cultivo de gran importancia a nivel mundial, constituyendo una de las principales fuentes de alimentación humana. Se estima que aporta aproximadamente el 20 % de la ingesta calórica de cerca del 40 % de la población global (Tambong, 2022). En Argentina, el trigo es uno de los cultivos más relevantes, con un área sembrada promedio de 6 millones de hectáreas y una producción anual de aproximadamente 15,1 millones de toneladas (datos BCBA campaña 2023/2024).

Además de los factores abióticos y las condiciones climáticas adversas, diversas enfermedades de origen bacteriano afectan la productividad del trigo a nivel global. Se ha documentado que dichas enfermedades pueden reducir el rendimiento hasta en un 10 % en promedio, con pérdidas que pueden alcanzar el 40 % bajo condiciones ambientales favorables para el desarrollo de los patógenos, como alta humedad y precipitaciones (Figueroa et al. 2018; Nasiri et al. 2024). Entre las especies bacterianas más relevantes se encuentran *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, responsable del tizón bacteriano de la hoja (*Bacterial Leaf Blight*, BLB), *Xanthomonas translucens*, agente causal de la estría bacteriana de la hoja (*Bacterial Leaf Streak*, BLS) y *Clavibacter tessellarius*, causante del mosaico bacteriano del trigo (Fumero, 2024). Recientemente, además, se reportó *Pantoea anantis* en Polonia (Krawczyk et al., 2020) y Estados Unidos como patógena de trigo, provocando síntomas descritos como *raya bacteriana de la hoja* (Alhusays et al., 2024).

En los últimos años, se ha registrado un incremento en la incidencia de enfermedades bacterianas foliares, como manchas y tizones, en cultivos de trigo en Argentina.

La **Red de Ensayos de Trigo (RET)** agrupa todas las variedades de trigo pan en proceso de fiscalización y comercialización. Establecida en 2005, esta red cuenta con la participación de más de 20 localidades distribuidas en las principales regiones trigueras del país. La particularidad de la RET radica en que cada semillero selecciona la localidad y la fecha de siembra de sus variedades. La coordinación de estos ensayos está a cargo del Instituto Nacional de Semillas (INASE), dependiente de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. Los resultados obtenidos se publican en la página web oficial del INASE (www.argentina.gob.ar/inase/red-variedades-de-trigo), proporcionando información clave para productores, asesores, comerciantes y demás actores de la cadena triguera, quienes pueden evaluar aspectos productivos, sanitarios, de calidad y de adaptación de las variedades a cada región agroecológica.

En este contexto, la caracterización sanitaria de las variedades de trigo resulta fundamental para la toma de decisiones en la planificación de la siembra. La evaluación y actualización del comportamiento de los distintos genotipos frente a las enfermedades foliares y de la espiga permite optimizar la elección de cultivares en función de su desempeño sanitario.

OBJETIVO

El presente informe tiene como objetivo presentar los resultados de la evaluación de cultivares de la Red de Ensayos de Trigo (RET) frente a bacteriosis conducida en INTA Marcos Juárez ubicada en la región de la Pampa Subhúmeda Norte durante la campaña 2024. A través de estos estudios, se busca contribuir al conocimiento actualizado sobre la incidencia y severidad de enfermedades bacterianas en trigo, contribuyendo a la generación de estrategias de manejo para minimizar su impacto en la producción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Se tomaron hojas con síntomas de bacteriosis en parcelas previamente seleccionadas por los técnicos especializados. Se muestrearon la RET 1 (variedades Ciclo Largo-manejo con fungicidas) y RET 5 (variedades Ciclo Largo manejo con fungicidas y con riego, considerado de “alta tecnología”) con mayor porcentaje de incidencia. Las hojas fueron conservadas en sobres de papel correctamente rotulado para posterior procesamiento en el laboratorio.

Un total de 17 plantas de trigo con síntomas de bacteriosis fueron recolectadas de la RET 1 (n=5) y RET 5 (n=12), siendo esta última condición más propicia para las infecciones bacterianas al tener riego.

Aislamiento de plantas seleccionadas

El aislamiento y purificación de bacterias se realizó siguiendo la metodología de Duveiller et al. (1997) modificada. El material vegetal sintomático se cortó con tijera estéril y se desinfectó superficialmente con alcohol al 70% durante 1 minuto, luego con hipoclorito de sodio (NaOCl) diluido (0,5% v/v de producto comercial) por 1 minuto y finalmente se lavaron con agua destilada estéril tres veces durante 1 minuto. Los trozos desinfectados se maceraron en morteros con 2 ml de agua destilada estéril en cámara de flujo laminar. Se realizaron diluciones seriadas del macerado y luego se colocó 50 µl en medio de cultivo LB en placas de Petri. Se incubaron a 28°C por 48 h hasta el crecimiento de colonias. Se repicaron colonias individuales en medio de cultivo fresco para obtener los aislamientos de bacterias para posteriores pruebas y se realizó una suspensión bacteriana con las colonias crecidas en 500 µl de agua estéril para realizar las posteriores pruebas.

Identificación de bacterias fitopatógenas a partir de PCR con iniciadores generales y específicos para diversas especies de los géneros

Extracción de ADN genómico total.

Se recolectó medio *loop* de ansa con cultivo bacteriano puro y se resuspendió en 567 µl de buffer TE. Se adicionó SDS al 10% y proteinasa K. Se incubó por 1 hora a 37 °C. Se adicionó NaCl 5 M y buffer CTAB 10%/NaCl. Incubó durante 10 min a 65 °C. Se agregó igual volumen de cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) y centrifugó a 12.000 rpm para separar las fases. Se colocó RNAsa e incubó aproximadamente 15-20 min. Se precipitó el ADN con fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (25:24:1) y lavó el precipitado con etanol al 70%. Se secó y resuspendió el ADN en H₂O.

PCR con iniciadores específicos para *Pseudomonas syringae pv. syringae* (Pss)

Las muestras se analizaron mediante PCR utilizando iniciadores específicos para *Pseudomonas syringae pv. syringae* (Pss) siguiendo el protocolo de Kazempour et. al. 2010, el cual permite la amplificación de un fragmento de 752 pb. Condiciones de las PCR: mix conteniendo agua, buffer 1X, Mg₂Cl 2mM, dNTPs 0,2 mM, primer 0,5 µM cada uno, 1 unidad Taq Polimerasa, 1 µl de suspensión bacteriana. Ciclado: 93°C 1 min, 37 ciclos de 93°C 1 min, 60°C 1 min, 72°C 1 min y etapa final de 72°C por 5 min. Luego de una electroforesis en gel de agarosa 1,5%, se consideraron positivas las muestras que amplificaron una única banda definida y del tamaño esperado.

PCR con iniciadores específicos para *Pantoea ananatis*

Para la detección específica de *Pantoea ananatis* se realizó PCR siguiendo las condiciones de Asselin et al. 2016 (amplificación de un fragmento de 949 pb). Condiciones de PCR: se preparó una mix conteniendo agua, buffer 1X, Mg₂Cl 2mM, dNTPs 0,2 mM, primer 0,5 µM cada uno, 1 unidad Taq Polimerasa, 1 µl de suspensión bacteriana. Se utilizó el siguiente ciclado: 95°C 5 min, 37 ciclos de 94°C 30 seg, 55°C 30 seg, 72°C 45 seg, y etapa final de 72°C por 2 min. Luego de una electroforesis en gel de agarosa 1,5%, se consideraron positivas las muestras que amplificaron una única banda definida y del tamaño esperado.

PCR con iniciadores generales para *Xanthomonas spp*

Para la detección de *Xanthomonas* se siguió el protocolo de Maes 1993, el cual permite la amplificación de un fragmento de 480 pb. Condiciones de las PCR: mix conteniendo agua, buffer 1X, Mg₂Cl 2mM, dNTPs 0,2 mM, primer 0,5 µM cada uno, 1 unidad Taq Polimerasa, 1 µl de suspensión bacteriana. Se utilizó el siguiente ciclado: 95°C 2 min, 30 ciclos de 95°C 40 seg, 40°C 1 min, 72°C 1 min y etapa final de 72°C por 3 min. Luego de una electroforesis en gel de agarosa 1,5%, se consideraron positivas las muestras que amplificaron una única banda definida y del tamaño esperado.

Pruebas de hipersensibilidad (HR)

Para determinar la fitopatogenicidad de las colonias bacterianas que no resultaron positivas en las pruebas de PCR, se llevó a cabo la reacción de hipersensibilidad, en la cual una expresión de necrosis dentro de las 48hs indica que la bacteria es fitopatógena, a diferencia de las bacterias saprofitas, las cuales son incapaces de inducir esta reacción. Las inoculaciones se realizaron mediante infiltración en hoja con una jeringa sin aguja conteniendo la solución de bacterias de 24 h de crecimiento en LB a 28°C ($\sim 1 \times 10^8$ ufc/ml), metodología propuesta en Duveiller et al. (1997) y Lang et al. (2017). Se llevaron a cabo en plantas de *Nicotiana tabacum* de 20-25 cm y con 4-6 hojas. Como controles negativos se utilizó agua. Las reacciones de hipersensibilidad se observaron 24 y 48 h después de la inoculación.

RESULTADOS Y CONCLUSIÓN

Del total de plantas colectadas con sintomatología de bacteriosis, se aislaron 32 colonias bacterianas, 14 pertenecientes a las RET 1 y 18 pertenecientes a la RET 5. La variedad ACA 308 no tuvo crecimiento bacteriano en las muestras de ninguna de las dos RET muestreadas, al igual que MS INTA119 en la RET5 (Tabla 1).

Se identificaron *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) y *Pantoea ananatis*. Ninguna de las colonias resulto positiva para *Xanthomonas*.

Con respecto a las colonias no identificadas por PCR: para la variedad Araza de la RET 1, las 3 colonias resultaron dar Hipersensibilidad (HR) positiva, lo que indica que son bacterias patógenas aún no identificadas con los reactivos aquí utilizados. Al igual que las colonias aisladas a partir de las variedades Leyenda y Aca 502. En el caso de Bravío, la única colonia que quedo por identificar no resulto ser patogénica (figura 1).

Para las variedades de la RET 5 resultaron positivas para HR una colonia de ACA 502 y Pretal. Para las demás variedades la HR fue negativa (figura 1).

Se continuarán las investigaciones para identificar las bacterias patogénicas.

RET	Variedad	Nro de Aislamientos	Bacterias identificadas mediante PCR	Nro de Aislamientos sin identificar
RET 1	Araza	4	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	3
	Leyenda	3	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> ; <i>Pantoea ananatis</i>	1
	Aca 502	4	-	4
	Bravio	3	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> ; <i>Pantoea ananatis</i>	1
	Aca 308	0		
RET 5	Araza	2	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	1
	Bayo	2	<i>Pantoea ananatis</i>	1
	Sy 109	2	-	2
	Pretal	2	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	1
	Lobuno	1	-	1
	Pehuen	3	2. <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	1
	Aca 502	3	-	3
	Tero	1	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0
	Jacaranda	1	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0
	Algarrobo	1	-	1
	Aca 308	0		
	MS INTA 119	0		

Tabla 1: variedades de trigo muestreadas en la RET conducida en INTA Marcos Juárez durante la campaña 2024/25, total de bacterias aisladas e identificadas, y bacterias sin identificar.

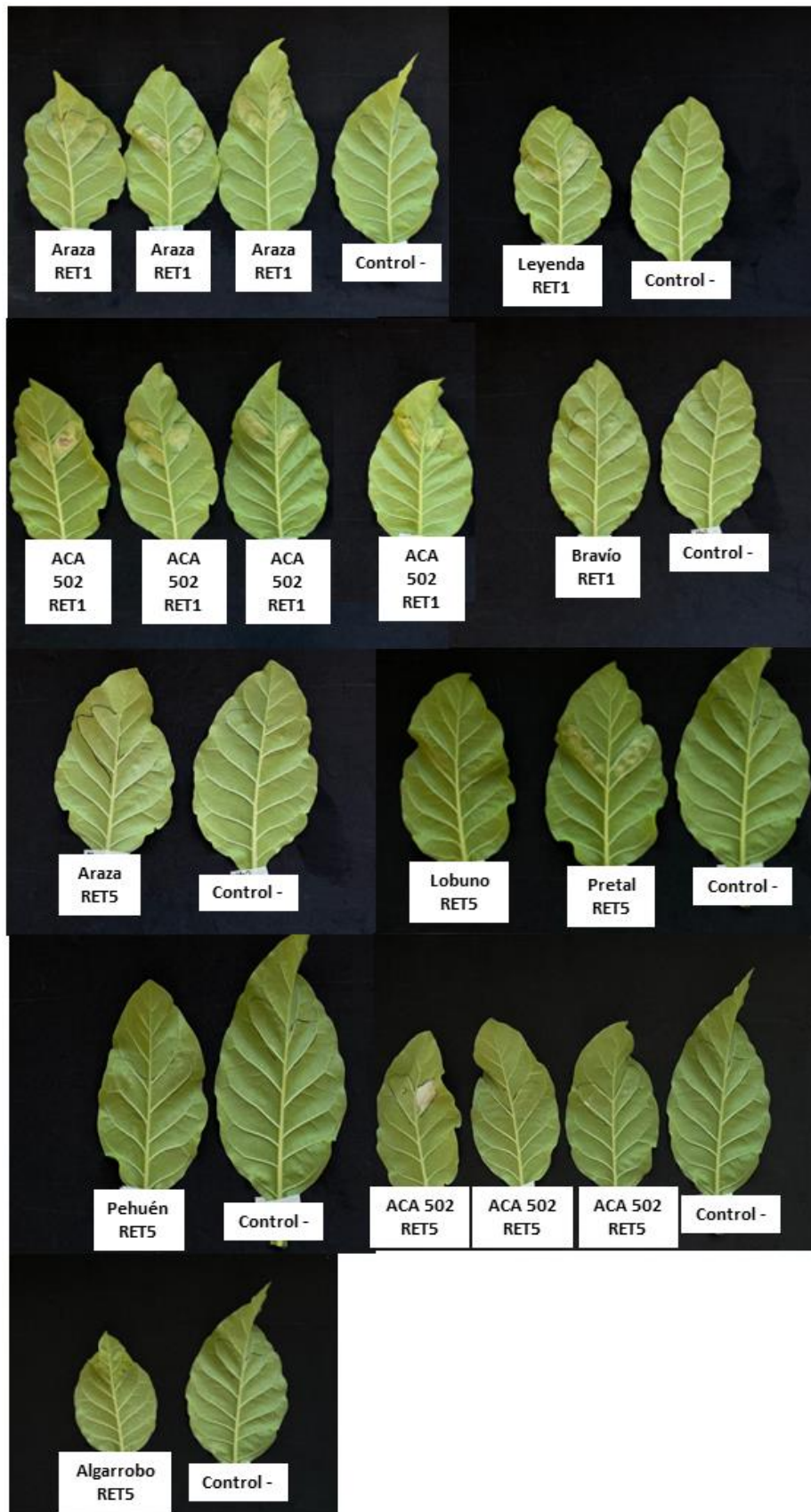


Figura 1: Hojas de *Nicotiana tabacum* inoculadas con suspensión bacteriana de aquellas colonias negativas para PCR, con su respectivo control negativo.

Datos importantes para resaltar:

- *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* fue la bacteria más frecuente.
- *Pantoea anantis* se detectó asociada a la presencia de Pss.
- La variedad ACA 308 no tuvo crecimiento bacteriano en las muestras de la RET 1 ni en las hojas de la RET 5, indicando la ausencia de bacterias patógenas.
- La variedad ACA 502 estuvo infectada con bacterias patógenas que provocan síntomas y no resultaron positivas a las que frecuentemente son identificadas a campo.
- Araza presente en RET 1 y RET 5, estuvo infectada con Pss en ambas redes, lo que puede suponer que esta variedad es más susceptible a la infección con Pss.
- En términos generales predominó la presencia de Pss en la RET

BIBLIOGRAFIA

- Alhusays, A., Galvin, C., Torres, M., Sengar, M., Fitzpatrick, E., Hernandez, J. L. L. G., Glover, K. D., Solanki, S., & Ameen, G. (2024). *First Report of Pantoea ananatis causing leaf streak disease on wheat (Triticum aestivum) in the United States of America*. Plant Disease. <https://doi.org/10.1094/pdis-04-24-0903-pdn>
- Asselin, J. A. E., Bonasera, J. M., & Beer, S. V. (2016). PCR primers for detection of *Pantoea ananatis*, *Burkholderia* spp., and *Enterobacter* sp. from onion. *Plant disease*, 100(4), 836-846.
- Duveiller, E. L. Fucikovsky and K. Rudolph, eds. (1997). "The bacterial diseases of wheat: concepts and methods of disease management," CIMMYT
- Evaluación de cultivares de trigo pan en la EEA INTA Marcos Juárez. Actualización Campaña 2022, Gomez, Dionisio Tomas; Alberione, Enrique Javier; Demichelis, Melina; Donaire, Guillermo Manuel; Mir, Leticia Raquel; Salines, Nicolas; (<https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/14540#>).
- Figuerola M, Hammond-Kosack KE, Solomon PS (2018) A review of wheat diseases - a field perspective. *Mol Plant Pathol* 19:1523–1536
- Fumero, M. V., Garis, S. B., Alberione, E., Jofré, E., & Vanzetti, L. S. (2024). Genomic analysis identifies five pathogenic bacterial species in Argentinian wheat. *Tropical Plant Pathology*, 49(6), 864-875.
- Jackson, T.A., Harveson R.M., Vidaver A.K. (2007). Goss's bacterial wilt and leaf blight of corn. *NebGuide*. Coop. Ext. Serv. IANR University of Nebraska Lincoln. G1675.
- Karamura, G., Smith J., Studholme D., Kubiriba J., Karamura E. (2015). Comparative pathogenicity studies of the *Xanthomonas vasicola* species on maize, sugarcane and banana. *African Journal of Plant Science*, 9, 385-400.
- Kazempour, Mostafa & Kheyrgoo, Maesomah & Pedramfar, Hassan & Rahimian, Heshmat. (2010). *Isolation and identification of bacterial glum blotch and leaf blight on wheat (Triticum aestivum L.) in Iran*. AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY. 9. 2860-2865.
- Gurr, S.J., Rushton P.J. (2005). Engineering plants with increased disease resistance: what are we going to express *Trends Biotechnol.* 23:275-282
- Lang, J., DuCharme, E., Ibarra Caballero, J., Luna, E., Hartman, T., Ortiz-Castro, M., Korus, K., Rascoe, J., Jackson-Ziems, T., and Broders, K. (2017). Detection and characterization of *Xanthomonas*

- vasicola* pv. *vasculorum* (Cobb 1894) comb. nov. causing bacterial *leaf streak* of corn in the United States. *Phytopathology* 107, 1312-1321.
- Maes, M. (1993). Fast classification of plant-associated bacteria in the *Xanthomonas* genus. *FEMS Microbiology Letters*, 113(2), 161-165.
- Nasiri M, Faghihi MM, Rahimian H, Osdaghi E (2024) *Clavibacter tessellarius* causing bacterial mosaic of wheat establishes in the Old World. *Plant Pathol* 00:1–9
- Nelson, R., Wiesner-Hanks T., Wisser R., Balint-Kurti P. (2018). Navigating complexity to breed disease-resistant crops. *Nat. Rev. Genet.* 19:21–33. doi:10.1038/nrg.2017.82
- Pataky, J.K. (2004). Stewart's wilt of corn. *The Plant Health Instructor*.
- Plazas M.C., De Rossi R.L., Brücher E., Guerra F.A., Vilaró M., Guerra G.D., Wu G., Ortiz-Castro M.C., Broders K. (2018). First report of *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* causing bacterial leaf streak of maize (*Zea Mays*) in Argentina. *Plant Dis.* 102 (5): 1026. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1578-PDN>.
- Robertson, A.E. (2004). Holcus leaf spot being found on corn. *Integrated Crop Management News.* 1529.
- Rossi E.A., Ruiz M., Rueda Calderón M.A., Bruno C.I., Bonamico N.C., Balzarini M.G. (2019). Meta-analysis of loci for resistance to maize diseases. *Crop Sci.* 59: 1–15.
- Tambong JT (2022) Bacterial pathogens of wheat: symptoms, distribution, identification, and taxonomy. In *Wheat*. IntechOpen



Centro de Investigaciones Agropecurias

