



Centro de Referencia de Micología



2º TALLER SÍNDROME DE LA MUERTE SÚBITA DE LA SOJA (SMS)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS – UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
3 DE AGOSTO DE 2012

ORGANIZADO POR:

- **Secretaría de Ciencia y Tecnología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - Universidad Nacional de Rosario**
Suipacha 531 - S2002LRK Rosario – Argentina. TE/Fax: 54 (0341) 4804599. TE: 54 (0341) 4804592/93 Int. 230. Correo electrónico: secyt@fbioyf.unr.edu.ar

COORDINADO POR:

- Dras. Alicia Luque y Mercedes Scandiani. CEREMIC - UNR.

AUSPICIADO POR:

- **Asociación Argentina de Fitopatólogos**
- **Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - Universidad Nacional de Rosario**
- **Universidad Nacional de Rosario**
- **Secretaría de Estado de Ciencia, Tecnología e Innovación de la provincia de Santa Fe**
- **Secretaría de Producción y Desarrollo Local de la Municipalidad de Rosario**



En el año 2011, desde el 14 al 17 de marzo, se realizó el 1º Workshop en SMS, coordinado y organizado por el Laboratorio Agrícola Río Paraná y el CEREMIC. En el mismo, se desarrollaron técnicas de observación, aislamiento, inoculación e identificación taxonómica clásica de *Fusarium*. Además, los integrantes del grupo redactaron un protocolo de actividades de investigación a desarrollar durante el ciclo 2011/12.

El objetivo de este último Taller fue compartir los diversos resultados obtenidos en numerosos aspectos del SMS, discutir y consensuar nuevas propuestas, establecer canales dinámicos de difusión de esta enfermedad de la soja y evaluar la posibilidad de publicar un Manual que compile los resultados obtenidos hasta el presente.

PROGRAMA

Inicio: 8:30 h

8:45-9:00 AGENTES CAUSALES, IDENTIFICACIÓN, DISTRIBUCIÓN. Mercedes Scandiani.

9:05-9:20 EVOLUCIÓN DEL SMS EN EL NEA. Á. Norma Formento.

9:25-9:40 EVOLUCIÓN SMS EN LA REGIÓN PAMPEANA. Lisandro Lenzi y Silvia Distéfano.

9:45-10:05 EVOLUCIÓN SMS EN EL NOA. PRESENCIA DE NEMATODOS. Valeria Martínez y Norma Coronel.

10:10-10:40 COMPORTAMIENTO DE CULTIVARES AL SMS. Lisandro Lenzi, Silvia Distéfano y Valeria Martínez.

10:45-11:00 DESCANSO

11:05-11:35 EVALUACIÓN DE DAÑOS EN LA REGIÓN PAMPEANA. APLICACIÓN DE PROTOCOLOS. Marcelo Carmona y Lisandro Lenzi.

11:40-12:00 TRATAMIENTO DE SEMILLAS CON FUNGICIDAS EN INVERNÁCULO. Lisandro Lenzi y Mercedes Scandiani.

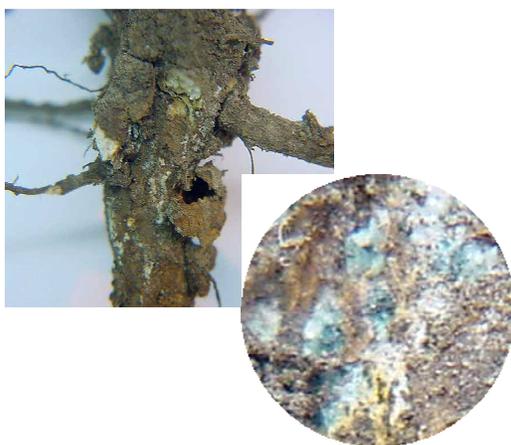
12:05-12:25 TRATAMIENTO CON PRODUCTOS QUÍMICOS ALTERNATIVOS: FOSFITOS. Marcelo Carmona.
12:30-13:00 TRATAMIENTO CON PRODUCTOS BIOLÓGICOS *IN VITRO*/INVERNÁCULO/
CAMPO. Cecilia Fulgueira y Claudio Valverde.

13:00-14:00 ALMUERZO

14:00-14:25 TRATAMIENTO DE SEMILLAS A CAMPO CON PRODUCTOS BIOLÓGICOS. Lisandro Lenzi.
14:30-14:50 LA DIVERSIDAD MICROBIANA DEL SUELO ¿UNA HERRAMIENTA DE MANEJO DE LA MUERTE SÚBITA DE LA SOJA? Silvina Vargas Gil.
14:55-15:15 TRATAMIENTO CON MICORRIZAS. Lorena Giachero.
15:20-15:40 OTRAS MEDIDAS DE MANEJO: ROTACIONES, COBERTURAS. Lisandro Lenzi.

15:40-15:55 DESCANSO

16:00-16:15 AVANCES EN METABOLÓMICA DE LA INTERACCIÓN SOJA-*Fusarium tucumaniae*. Claudia Spampinato y Gerardo Cervigni.
16:20-16:35 DISCUSIÓN DE LA PROPUESTA DE ACTIVIDADES INTERACTIVAS PARA EL CICLO AGRÍCOLA 2011-2012. LÍNEAS FUTURAS. Á. Norma Formento.



SÍNDROME DE LA MUERTE SÚBITA DE LA SOJA, AGENTES CAUSALES, IDENTIFICACIÓN, DISTRIBUCIÓN

María Mercedes Scandiani. CEREMIC – Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. Laboratorio Agrícola Río Paraná, San Pedro, Buenos Aires. Argentina

Los primeros síntomas del síndrome de la muerte súbita de la soja (SMS) se manifiestan generalmente a partir de floración, aunque pueden observarse en etapas vegetativas y consisten en clorosis con posterior necrosis internerval. Frecuentemente los folíolos caen y los pecíolos quedan adheridos al tallo, hay menor desarrollo y podredumbre de raíces, por lo cual las plantas afectadas pueden ser fácilmente extraídas del suelo, y la médula permanece blanca. En ocasiones se pueden observar signos sobre las raíces, masa de conidios (esporodoquios) amarillos, azules, verdes, además de una coloración rojiza en el cuello de las plantas, las que mueren prematuramente en forma aislada, más comúnmente en grupos, o a veces distribuidas por todo el lote. El SMS es causado por 4 especies de *Fusarium*, hongos habitantes del suelo, muy relacionadas entre sí de la sección *Martiella* (Clado 2 de *F. solani*) que producen colonias de crecimiento lento (< de 2 cm de diámetro/4 días). Las especies morfológica y filogenéticamente diferentes son: *F. virguliforme*, *F. tucumaniae*, *F. brasiliense* y *F. crassistipitatum*. En Argentina es posible encontrar las cuatro especies.

Recientemente se demostró la ocurrencia del teleomorfo de *F. tucumaniae*, primeramente por cruzamientos en laboratorio y, en el ciclo agrícola 2009/10 en condiciones de campo, en las proximidades de Pergamino, y nuevamente en 2011/12, en la misma zona. Este hallazgo es de fundamental importancia para la selección de genotipos de soja resistentes a SMS y para el manejo de la enfermedad. Adicionalmente, otras tres especies de *Fusarium*, muy cercanas a las mencionadas, causantes de podredumbre de raíces en poroto (*Phaseolus* spp.) podrían causar síntomas del SMS en soja. La principal diferencia morfológica entre las 4 especies causantes del SMS son las características de los macroconidios desarrollados en APG más estreptomomicina y *Synthetic Nutrient Agar* (SNA). El tamaño de los macroconidios de *F. virguliforme* y de *F. tucumaniae* observados en nuestro país, en algunas ocasiones, no presentan las diferencias notables descriptas en la bibliografía y al existir *F. brasiliense* y *F. crassistipitatum* es más compleja la identificación por métodos clásicos. En Argentina, en la región pampeana coexisten *F. tucumaniae* y *F. virguliforme* con importante predominio del primero. En el NOA se identificaron *F. tucumaniae* y *F. crassistipitatum* en Tucumán, y en Salta sólo, *F. crassistipitatum*. En el NEA, a través del estudio de pocos aislamientos, se encontró *F. tucumaniae* y algunas especies de identidad dudosa. En EE.UU y Canadá el SMS es causado por *F. virguliforme*. En Brasil, estudios

con pocas cepas, establecieron que al menos se encuentran *F. tucumaniae*, *F. brasiliense*, y *F. crassitipitatum*. En Bolivia, Paraguay y Uruguay no se han realizado trabajos sobre los agentes causales del SMS.

EVOLUCIÓN DEL SMS EN EL NORESTE DE ARGENTINA (NEA)

Á. Norma Formento

INTA – EEA PARANÁ. Ruta 11 km 12,5 (3101) Oro Verde, Paraná, Entre Ríos, Argentina

El síndrome de la muerte súbita (SMS) de la soja [*Glycine max* L.) Merrill] es una enfermedad que se observa ocasionalmente en Entre Ríos, sin embargo desde el ciclo 2008/09 se incrementó la frecuencia de casos en lotes de producción y con compromisos del rendimiento en grandes áreas, en 2010/11 y 2011/12. En el año 2003 (Cabrera *et al.*, 2003) sobre un total de 370 muestras de soja procedentes de Chaco, Corrientes y N. de Santa Fe indican el incremento de plantas con SMS. Serrano *et al.* (2010) Corrientes (60%), Formosa (80%) y Santiago del Estero (10%) de *Fusarium* spp. y mencionan la ocurrencia de SMS.

En febrero de 2011 se detectó la enfermedad afectando aproximadamente 100 ha de las 700 ha sembradas con el mismo cultivar, con antecesor soja en el dpto. Diamante (Entre Ríos) y en el dpto. Paraná, en la localidad de Paso de la Arena se observó tardíamente un ataque de SMS en R5-R6 en un cultivar del grupo de madurez VI, en febrero de 2012. En el mismo año, sobre la ruta nacional N°12 que une los dptos. Paraná y La Paz, centro oeste y norte de Entre Ríos respectivamente, se realizó en el mes de marzo de 2012 un relevamiento sobre 145 km, correspondientes a 1.300 ha de soja sobre una región cultivada de aproximadamente 8.000 ha. De un total de 31 lotes analizados en estados fenológicos R5 a R6.5, el 78% estaba implantado en SD, 19% en labranza mínima (LM) y un 3% en labranza convencional (LC), con antecesores soja, maíz, pradera, sorgo o trigo. El SMS se detectó en 4 lotes, 2 en siembra directa (SD) con secuencia soja/trigo y trigo/maíz, 1 lote en LM después de soja y 1 lote en LC.

Las evaluaciones sobre el efecto del SMS en la variedad NA 6126 en Paso de la Areana (dpto. Paraná) en abril de 2012, se realizaron con 2 métodos, uno de ellos considerando 8 estaciones de muestreo ubicados al azar de 10 m² cada una, donde sobre un promedio de 403 plantas/10m², el 3,09% (40 plantas) presentó claros síntomas de SMS, lo que fue comprobado por los aislamientos realizados a partir de raíces enfermas y confirmado en el Lab. Río Paraná (Dra. Scandiani). Con el primer método se comprobó la reducción de la altura de plantas en un 7% y de la longitud de raíces en un 48%. Además, el n° de vainas disminuyó en un 54% y el n° de granos por planta, 55%. El rendimiento de las parcelas enfermas se redujo en un 64% y el PMG en un 21%.

Con el método de plantas apareadas, donde se tomaron submuestras de 5 plantas sanas vs. 5 plantas enfermas, el peso de las plantas enfermas disminuyó un 57%, el n° de granos, 49%, peso de mil granos, 16% y el rendimiento en gramos, 57%. Ambos métodos podrían ser adecuados para estimar la pérdida de rendimientos por SMS en soja.

EVOLUCIÓN DEL SÍNDROME DE LA MUERTE SÚBITA DE LA SOJA Y COMPORTAMIENTO DE CULTIVARES EN EL NOROESTE ARGENTINO (NOA)

Cristina Valeria Martínez, Victoria González, Sebastián Reznikov, Vicente De Lisi, Adolfo Stegmayer, Diego Henríquez y L. Daniel Ploper.

Sección Fitopatología – Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes, Av. William Cross 3150, Las Talitas (4101), Tucumán. Tel.: 0381-4521041.

El síndrome de la muerte súbita (SMS) es una de las principales enfermedades que afectan al sistema radicular del cultivo de la soja en Argentina. En la región del noroeste argentino (NOA), la primera detección ocurrió en la campaña 1992/93 en numerosos lotes de soja de Tucumán y Salta, donde se observaron síntomas foliares con podredumbre radicular en plantas aisladas hacia el final de floración (Ploper, 1993). El SMS se encuentra ampliamente difundido y se han registrado pérdidas cercanas al 30% en la campaña 2001/02, en el sur de Tucumán (Zamorano *et al.*, 2003). Hasta 2003 se identificó a *Fusarium solani* f. sp. *glycines* como el agente causal del SMS (Ploper, 1993). En la campaña 2005/06 se obtuvieron 12 aislamientos de Tucumán y en 2006/07 se aislaron 11 cepas en Tucumán y 5, de Salta. La identificación de estos aislamientos demostró que en Tucumán coexisten *F. tucumaniae* y *Fusarium* sp., y en Salta, sólo *Fusarium* sp. (Colletto *et al.*, 2008). Aoki *et al.* (2011) identificaron en Tucumán, *Fusarium* sp. y en Salta, *Fusarium crassitipitatum*.

En la campaña 1992/93 ya se observó un comportamiento diferencial de los cultivares frente al SMS; UFV-8 resultó altamente susceptible, con pérdidas del rendimiento próximas al 90%, en Horcones (Salta). Los cultivares como Tuc G-16, FAM 841 (LAX), FAM 940, UFV-1, IAC-4 se comportaron como intermedios a moderadamente susceptibles, sin pérdidas importantes de rendimiento (Ploper, 1993). En la campaña 2002/03 tres variedades se destacaron por su alto índice de enfermedad (IE) en todas las parcelas: Agustina 49 RR, Rafaela 58 RR y A 7636 RG; otras nueve variedades presentaron altos IE en algunas parcelas de María 55, DM 5400, A 5409, A 6401, Mágica 7.3, A 7322, A 7321, Qaylla y MS 8080. Mientras que las variedades que mostraron bajos IE fueron: A 4910, DM 50048, DM 5800, Nueva Andrea 66, Cristina 64, A 6019, AW 7110, Nueva Mercedes 70, A 8100, A 8000, Munasqa y A 9000 (Zamorano *et al.*, 2003).

Durante la campaña 2010/11 se evaluó la incidencia del SMS por observación visual de síntomas foliares en la Red de Ensayos en Macroparcelas a campo en las localidades de Olleros, Lajitas este y Lajitas oeste en Salta (datos no publicados). Las variedades NK Coker 7.5, A 8000 y Munasqa, mostraron un grado 3 (11 a 25% de plantas con

síntomas en el surco). Cabe consignar que en dicha campaña se registró un total de 792,7 mm (octubre-mayo) de lluvias, lo que favoreció el desarrollo de la enfermedad. En la última campaña 2011/2012, no se observaron síntomas de SMS en variedades de los GM VII y VIII en las macroparcelas de Mosconi (Salta) y San Agustín (Tucumán). En las ubicadas en La Virginia, El Palomar y La Cocha (Tucumán) y Arenales (Santiago del Estero) se observaron pocas plantas con síntomas foliares similares al SMS, aislándose *Macrophomina phaseolina*, lo que estaría asociado a los síntomas observados y como consecuencia del estrés hídrico (526 mm durante octubre-mayo).

Bibliografía

- Aoki, T.; Scandiani, M. y O'Donnell, K. 2011. Phenotypic, molecular phylogenetic, and pathogenetic characterization of *Fusarium crassistipitatum* sp. nov., a novel soybean sudden death syndrome pathogen from Argentina and Brazil. *Mycoscience* 53:167-186.
- Colletto, A.; Luque, A.; Salas, G.; Gonzalez, V.; Ploper, L. D.; Ruberti, D.; Biasoli, M. y Scandiani, M., 2008. Identificación de cepas de *Fusarium* causantes del síndrome de la muerte súbita de la soja en Tucumán y Salta. *Avance Agroindustrial*. 29 (4):26-30.
- Ploper L.D., 1993. Síndrome de la muerte súbita: nueva enfermedad de la soja en el Noroeste Argentino. *Avance Agroindustrial*. Año 13 (54):5-9.
- Zamorano, M.; Ploper, L.D.; González, V.; Gálvez, R.; Jaldo, H.; Díaz, C. y Devani, M. 2003. Evaluación de variedades comerciales de soja en su respuesta al síndrome de la muerte súbita (*Fusarium solani* f. sp. *glycines*) en Tucumán. *Avance Agroindustrial*. Vol. 24 N°4:8-14.

PRESENCIA DE NEMATODOS EN EL CULTIVO DE SOJA

Norma Coronel, Victoria González, Valeria Martínez. Sección Fitopatología – Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes, Av. William Cross 3150, Las Talitas (4101), Tucumán. Argentina. Tél.: 0381-4521041.

Los nematodos fitoparásitos son gusanos microscópicos que atacan las raíces de plantas cultivadas y de malezas. Algunas especies dañan las raíces de plantas de soja ocasionando pérdidas de rendimiento en diversos países del mundo, destacándose entre estas el nematodo del quiste de la soja (*Heterodera glycines*), el nematodo de la agalla (*Meloidogyne javanica*, *M. incognita* y *Meloidogyne* spp.), *Pratylenchus brachyurus* y *Rotylenchus reniformes*.

Nematodos y el síndrome de muerte súbita de la soja (SMS)

En Estados Unidos el SMS puede presentarse en combinación con el nematodo del quiste de la soja (NQS), *Heterodera glycines*, constituyendo un complejo patogénico. En presencia del nematodo del quiste los síntomas aparecen más temprano y son más severos. La enfermedad fue detectada en Tucumán y Salta en lotes de soja durante la campaña 1992/1993. Muchos de los lotes con SMS presentaban altas poblaciones del nematodo de la agalla (*Meloidogyne* spp., *M. incognita*)

Nematodo del quiste en Argentina

El nematodo del quiste de la soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, afecta en forma negativa los rendimientos de soja en las principales países productores; en EE.UU. constituye la principal limitante de la producción de esta leguminosa. Puede reducir los rendimientos sin causar síntomas aéreos visibles. Fue detectado por primera vez en el país en la campaña 1997/1998 en la región núcleo sojera. En el Noroeste Argentino (NOA), fue encontrado en la campaña 1998/1999 y presenta una amplia distribución en el país.

Monitoreo de nematodos en el NOA

En las campañas 2009/2010, 2010/2011 y 2011/2012 la sección Zoología Agrícola de la EEAOC realizó monitoreos de lotes de soja para determinar la presencia de nematodos fitoparásitos. Esta tarea se realizó en colaboración con las secciones Granos y Fitopatología de la misma institución. Se recolectaron muestras de suelo y plantas de localidades de Tucumán y zonas de influencia, las que fueron procesadas y analizadas en laboratorio mediante técnicas de nematología. Las plantas que presentaron síntomas foliares como clorosis y necrosis internerval se analizaron en la sección Fitopatología de la EEAOC para determinación de SMS.

Conclusiones

En las últimas tres campañas, los nematodos más frecuentemente encontrados en cultivo de soja del NOA fueron: *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* y *Pratylenchus*. Los dos primeros en niveles poblacionales bajos a altos. *Pratylenchus* fue frecuente pero en general se encontró en bajas densidades. El nematodo del quiste se detectó en la campaña 2010/2011 en densidades poblacionales por encima del umbral de daño. En la mayoría de los casos no se observaron síntomas foliares en la parte aérea de las plantas en lotes afectados por nematodos. El nematodo de la agalla y el nematodo del quiste, estuvieron asociados a lotes con bajos rendimientos sin presencia de síntomas en la parte aérea de la planta. Síntomas foliares de clorosis o necrosis internerval se observaron en plantas con presencia de *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* y *Pratylenchus* y hongos del suelo (*Macrophomina* y otros). El SMS no se encontró asociado al NQS. Plantas con clorosis y necrosis internerval sin presencia de la enfermedad estaban asociadas a *Meloidogyne* o a *Helicotylenchus*.

CARACTERIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE GENOTIPOS DE SOJA FRENTE AL SÍNDROME DE LA MUERTE SÚBITA

Lisandro Lenzi¹, Silvia Distéfano¹, Valeria Martínez². 1. INTA-EEA Marcos Juárez. Ruta 12, km 3 (2580, Marcos Juárez, Córdoba. Argentina). 2. Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC). El Colmenar, Las Talitas. Avda. William Cross 3150. Tucumán. Argentina

El uso de variedades de soja con resistencia genética es la principal herramienta para el manejo del síndrome de la muerte súbita (SMS). La caracterización del comportamiento de genotipos frente al SMS es dificultosa, y deben realizarse evaluaciones en varios años y/o ambientes, ya que la resistencia es parcial. La enfermedad suele presentarse en forma desuniforme en los lotes y el desarrollo de los síntomas es muy afectado por las condiciones ambientales.

Durante las campañas 2006/07 a 2011/12, se evaluó el comportamiento frente al SMS de los cultivares de la RECSO, en lotes con infestación natural de *F. tucumaniae* en el dpto. Marcos Juárez (Gral. Roca de 2006/07 a 2009/10, y en Inriville de 2010/11 a 2011/12). En estas evaluaciones se utilizó un diseño experimental de bloques incompletos (diseño alfa) con 3 o 4 repeticiones para los cultivares de cada grupo de madurez III, IV corto, IV largo, V, VI y VII-VIII, y las unidades experimentales fueron parcelas de 2 surcos (0,52m) por 3m. La variable utilizada para cuantificar el nivel de los síntomas foliares del SMS fue el índice de enfermedad (IE) en el estado fenológico R6. En cada campaña, las medias de IE de los cultivares se corrigieron utilizando un modelo mixto con ajuste espacial entre parcelas.

IE: (Incidencia x Severidad)/5.

Incidencia: % de plantas de la parcela con síntomas foliares de SMS.

Severidad: % de área foliar de cada planta afectado por SMS, estimado con escala visual de 0 a 5, siendo 0= planta sin síntomas, 1= hasta el 25 % del área foliar con síntomas, 2= entre 26 y 50 %, 3= entre 51 y 75 %, 4= más del 76 % y 5= planta muerta por SMS.

Los datos de las 6 campañas (medias ajustadas de IE) se utilizaron realizando un ANOVA con datos desbalanceados (no todos los cultivares fueron evaluados en las 6 campañas) con un modelo mixto mediante el cual se estimaron las medias de los cultivares por el método de mínimos cuadrados. Para la comparación de medias se utilizó el test LSD, de Fisher ($\alpha=5\%$). Este análisis permitió diferenciar, dentro de cada GM, al menos tres grupos de cultivares. Los cultivares que no se diferenciaron significativamente del de menor IE, se consideran moderadamente resistente (MR); los cultivares que no se diferenciaron del de mayor IE, se consideran susceptibles (S); y un grupo de cultivares que se diferenciaron tanto del cultivar de menor IE como del de mayor IE, se consideran de comportamiento intermedio (I). Dentro del grupo I, algunos cultivares se diferenciaron entre sí. Los cultivares considerados MR en base a este análisis, se diferenciaron del cultivar de mayor IE en cada una de las campañas en que fueron evaluados, mientras que los caracterizados como S, siempre se diferenciaron del de menor IE. Algunos de los cultivares argentinos caracterizados como MR y S, fueron evaluados en la campaña 2008/09, junto con cultivares de EEUU considerados MR al SMS, en un ensayo a campo con infestación natural de *F. tucumaniae* y manifestaron un comportamiento similar a los de EEUU, presentando IE menores que los cultivares caracterizados como S. Además de los ensayos de campo, se realizaron experiencias con inoculaciones de *F. tucumaniae* en condiciones de campo y en invernáculo, mediante la siembra en suelo infestado con granos de sorgo colonizados por el patógeno.

En algunas campañas, la inoculación a campo logró un nivel de síntomas foliares del SMS adecuado para comparar los cultivares, y el comportamiento de los mismos fue similar al de las evaluaciones con infestación natural. En otras campañas, sin embargo, la incidencia de SMS lograda con la inoculación a campo fue muy baja, y no permitió comparar los genotipos. En las inoculaciones en invernáculo, siempre se logró reproducir los síntomas de la enfermedad, pero el comportamiento de algunos cultivares no coincidió con el comportamiento a campo. Las evaluaciones permitieron identificar cultivares con un buen comportamiento al SMS en distintas condiciones.

Sin embargo, debe considerarse que todos los cultivares, incluso los de mejor comportamiento presentaron síntomas de la enfermedad, y que en otros lotes o en otros años, el comportamiento puede variar debido a las condiciones ambientales y/o a diferencias patogénicas entre distintas poblaciones de las especies causantes del SMR.

EVALUACIÓN DE DAÑOS EN LA REGIÓN PAMPEANA. APLICACIÓN DE PROTOCOLOS.

Marcelo A. Carmona.

Fitopatología, Facultad de Agronomía, UBA, Av. San Martín 4453 (1417) Argentina

Uno de los objetivos principales de la Fitopatología como ciencia es evitar las pérdidas en los cultivos. Por ello, una de las primeras fases en la investigación debería ser la correcta estimación de los síntomas de un determinado patógeno en un cultivo y la consecuente cuantificación de los daños y pérdidas.

De un modo simple y general, los daños ocasionados por las enfermedades de las plantas representan la diferencia entre la producción obtenida a campo en kg o t, y la que potencialmente sería alcanzable en ausencia de la enfermedad. Asimismo, esta diferencia expresada en unidades monetarias (\$, U\$S), conformaría las comúnmente denominadas pérdidas ocasionadas. Tanto los daños como las pérdidas la mayoría de las veces fue estimada sin precisión demostrando la ausencia de metodologías prácticas y seguras. James (1983) declaró que la falta de datos cuantitativos y confiables de las enfermedades de las plantas fue probablemente uno de los factores que más afectó a la

Fitopatología como ciencia. Este escenario se hace aún más complejo cuando se abordan patologías que son causadas por habitantes del suelo que por su tipo de crecimiento y distribución espacial dificultan las estimaciones. Se discuten y proponen diversos protocolos para la estimación de los daños causados por el síndrome de al muerte súbita (SMS) en cultivos de soja bajo condiciones de infección natural a campo.

TRATAMIENTO CON FUNGICIDAS CURASEMILLAS

María Mercedes Scandiani. CEREMIC – Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. Laboratorio Agrícola Río Paraná, San Pedro, Buenos Aires. Argentina

El SMS es causado por especies de *Fusarium* que habitan el suelo. Producen estructuras de resistencia como clamidosporas y, en el caso de *F. tucumaniae* puede producir la forma sexual. Está comprobado que estos patógenos presentan numerosos hospedantes, y no siempre la interacción es sintomática y patogénica. Si bien a diferencia de otras especies de *Fusarium*, estas no producen damping-off de pre y post emergencia, existen evidencias de ocurrencia de infecciones de raíces en etapa de plántula. Luego se produce un largo período para manifestarse después de floración. Si bien existe un interés mundial y reciente por este tema, no hay demasiados trabajos que demuestren la efectividad de los curasemillas.

Con el objetivo de obtener información al respecto, se evaluaron 4 tratamientos con fungicidas curasemillas sobre 2 cultivares de soja: NA 4613, considerado susceptible y DM 4670, considerado resistente. El aislamiento utilizado fue *F. tucumaniae* CCC 132-11, inoculado por el método de la capa. Los ensayos se realizaron en invernáculo, donde además de los productos químicos se incluyeron dos testigos (absoluto e infestado). Se registró la incidencia de plantas con síntomas foliares típicos del SMS y la severidad de los mismos en al menos 3 puntos posteriores a la aparición de los primeros síntomas, el área de la curva bajo el progreso de la enfermedad, la incidencia de raíces con podredumbre y su severidad, altura de planta y peso fresco de raíz y de parte aérea.

Los resultados de estos ensayos, realizados en invernáculo, han mostrado mayormente una tendencia, en algunos casos con diferencias estadísticamente significativas, a reducir la severidad de los síntomas foliares y la podredumbre de raíces. La información obtenida resulta novedosa y promisoria, cuando en los ensayos se combinaron dos medidas de manejo: cultivares y productos curasemillas, con un aislamiento de *F. tucumaniae*.

TRATAMIENTO CON PRODUCTOS QUÍMICOS ALTERNATIVOS: FOSFITOS

Marcelo A. Carmona

Fitopatología, Facultad de Agronomía, UBA, Av. San Martín 4453 (1417) Argentina

Los fitopatógenos habitantes del suelo son de muy difícil manejo debido a que la mayoría de ellos posee un amplio rango de hospedantes y forman estructuras de resistencia que hacen poco exitosa la rotación de cultivos. Además existen dificultades para obtener genotipos resistentes. Todo ello, sumado a la imposibilidad bioquímica de los fungicidas clásicos para moverse hacia las raíces, hace que el control de los patógenos habitantes del suelo constituya un permanente desafío. Los fosfitos ($H_2PO_3^-$; Phi) son sales derivadas del ácido fosforoso (H_3PO_3) combinadas con diferentes cationes que presentan alta movilidad en las plantas vía xilema y floema. Su uso actual en la producción hortícola y frutícola, está basado en evidencias de que son activadores de las defensas de las plantas y que poseen un efecto antifúngico directo sobre algunos patógenos, especialmente Oomycetes. Aún no existe información acerca de la acción antifúngica directa de los Phi sobre patógenos habitantes de suelo que atacan al cultivo de soja.

En este Taller se presentarán los resultados del efecto de Phi Mn aplicado a la semilla, valorando su efecto sobre el PG, Vigor por prueba de frío, y manejo del SMS tanto en condiciones de invernáculo como a campo.

TRATAMIENTO CON PRODUCTOS BIOLÓGICOS *in vitro*/INVERNÁCULO

María Mercedes Scandiani^{1,2}, Susana Amigot¹, Cecilia L. Fulgueira¹

1. CEREMIC – Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. 2. Laboratorio Agrícola Río Paraná, San Pedro, Buenos Aires. Argentina

La aplicación de fungicidas es una práctica usual en el control de SMS de soja. El control biológico, la inducción de mecanismos de defensa y el mejoramiento biotecnológico de los cultivos son alternativas promisorias dentro de un programa integrado de manejo. El tratamiento de semillas con agentes de control biológico podría ser una herramienta útil para controlar el SMS, causada por hongos de suelo. En una primer instancia fueron evaluados como potenciales biocontroladores *Streptomyces* spp. aislado de suelo que previamente habían mostrado efecto inhibitorio contra hongos toxigénicos *in vitro*, en invernáculo y en microsilos de maíz.

Mediante ensayos de inhibición en placa fue determinada la actividad de 9 cepas de *Streptomyces* spp. como inhibidoras de la germinación de conidios de *Fusarium virguliforme* CCC 171 y *F. tucumaniae* CCC 125/129-2002, seleccionándose para los experimentos en invernáculo la cepa de *Streptomyces* sp. C202 por su fuerte poder antagonista y por no producir efectos fitotóxicos sobre semillas de soja. En el Experimento 1 llevado a cabo en invernáculo el patógeno *F. virguliforme* CCC 100-2003 fue inoculado en capa de sorgo infestado (15 días en oscuridad, 3g/maceta) sobre la cual fueron sembradas semillas de un cultivar sensible (Pioneer 9492RR) previamente “curadas” con *Streptomyces* C202 (10^{11} ufc/100 kg de semillas), empleando semillas no curadas y no infectadas como testigo absoluto a través de un diseño en bloques completamente aleatorizados. Se midió incidencia y severidad de la enfermedad a 6

tiempos después de la inoculación (dpi) y se registró altura y peso fresco de la parte aérea a los 35 dpi en invernáculo con fotoperíodo natural a 25-30°C, sin restricción hídrica.

Los resultados fueron analizados empleando un ANOVA y un test de Fisher ($p < 0.05$) para la comparación entre tratamientos. El tratamiento con C202-patógeno mostró menor área bajo la curva de progreso de la enfermedad calculada en base a incidencia y severidad, mayor altura y mayor peso fresco de la parte aérea que el tratamiento con el patógeno. Siguiendo la misma metodología en el *Experimento 2* se evaluó el efecto biocontrolador de C202 y de una bacteria ácido láctica *Lactobacillus buchneri* BAL7 (antagonista de hongos toxigénicos en silos de maíz) contra el patógeno *F. tucumaniae* CCC 132-2011 sobre semillas de soja de otro cultivar susceptible al SMS (NA 4613RG) en invernáculo durante 25 dpi. Comparado con el control infestado, pudo determinarse que el curado con C202 redujo significativamente la severidad de la enfermedad foliar y aumentó el peso seco de la parte aérea de las plantas de soja. Adicionalmente este tratamiento disminuyó la severidad del SMS en raíces y aumentó su peso seco. Se concluye que el *Streptomyces* sp. C202 tuvo un efecto antagonista sobre *F. virguliforme* y *F. tucumaniae* evidenciado principalmente por un retraso en la aparición de la enfermedad.

En estudios complementarios pudo determinarse que *Streptomyces* sp. C202 y (C208 y C33-6) resultaron efectivos en el control de semillas con infección natural de *Phomopsis* spp., *Fusarium* spp., *Cercospora kikuchii* y *Alternaria* spp. (blotter test, a 25°C, con 12 h de luz NUV durante 7 días) y de patógenos de siembra-emergencia (*Macrophomina phaseolina* y *Rhizoctonia solani*) en semillas del cv. DM 4800RR luego de una incubación a 25°C durante 6 días y bajo luz natural.

Se evaluó además la compatibilidad de C202 (10^{12} ufc/100 kg de semillas) frente a los principales fungicidas curasemillas del mercado: fludioxonil+metalaxyl (Maxim XL, 100 ml/100 kg), carboxin+tiram (Vitavax Flo, 250 ml/100 kg), carbendazim+tiram (Ritiram carb, 300 ml/100 kg) y tolylfluanid (Jinete, 100 g ml/100 kg) de semillas. *Streptomyces* C202 fue compatible con Maxim XL y Vitavax Flo mostrando la posibilidad de combinar el uso del biocontrol con el control químico en el desarrollo de una agricultura competitiva y sustentable.

PSEUDOMONAS spp. COMO POTENCIALES AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE SMS

Betina Agaras¹, Mercedes Scandiani², Alicia Luque³, Marcelo Carmona⁴, Luis Wall¹, Claudio Valverde¹

1. Laboratorio de Bioquímica, Microbiología e Interacciones Biológicas en el Suelo (LBMIBS), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes. 2. Lab. Agrícola Río Paraná, San Pedro, Bs As. 3. CEREMIC, Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. 4. Fac. de Agronomía, UBA

Varios miembros del género *Pseudomonas* se caracterizan por colonizar activamente la rizosfera de diferentes especies vegetales y contribuir al desarrollo de las plantas hospedadoras a través de su capacidad de antagonizar, directa o indirectamente, a diferentes agentes fitopatógenos. En nuestro laboratorio, nos dedicamos a estudiar la diversidad de *Pseudomonas* en suelo y rizosfera en cultivos extensivos, y a caracterizar aislamientos con propiedades de control biológico de hongos fitopatógenos de incidencia local, con el objetivo de desarrollar herramientas de control biológico que puedan ser utilizadas como alternativa o complemento de otros tratamientos de control de enfermedades como el síndrome de muerte súbita de la soja (SMS). Dadas las características del SMS, el mecanismo de infección y patogénesis de sus agentes causales, se planteó la posibilidad de utilizar aislamientos de *Pseudomonas* con rasgos de biocontrol para el tratamiento preventivo de semillas de soja.

En una colección de aislamientos de *Pseudomonas* spp., seleccionados por su capacidad de antagonizar una serie de aislamientos fúngicos de soja y maíz, la cepa denominada SMMP3, miembro del complejo *P. chlororaphis* según la secuencia parcial de sus genes 16S rDNA y *oprF*, es capaz de antagonizar *in vitro* el desarrollo de diversos fitopatógenos fúngicos (*C. truncatum*, *C. graminicola*, *M. phaseolina*, *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. graminearum*, *F. verticilloides*, *Phomopsis* sp. y *C. sojina*). Además, en ensayos semi-cuantitativos en agar papa-dextrosa, la cepa SMMP3 genera un halo de inhibición del aislamiento *F. tucumaniae* CCC 132-11 de 12.5 ± 4.8 mm. El antagonismo estaría determinado, al menos en parte, a la capacidad del aislamiento SMMP3 de producir ácido cianhídrico, proteasa extracelular y un pigmento difusible anaranjado compatible con fenazina y asociado a la presencia del gen biosintético *phzF*.

Se evaluó la capacidad de la cepa SMMP3 de reducir el SMS en condiciones de invernáculo y a campo. Semillas de soja del cultivar susceptible NA 4613RG fueron tratadas con una suspensión celular de SMMP3 (0.3 ml a $DO_{600} = 1.0$ para 50 g de semillas), y se sembraron inmediatamente en potes conteniendo sustrato artificial (GrowMix) inoculado artificialmente con una capa de semillas de sorgo infectadas con *F. tucumaniae* CCC 132-11. Una porción de las semillas tratadas se sembró en un lote vecino en Fontezuela, Buenos Aires que se encuentra naturalmente afectado por SMS. El tratamiento de las semillas con la cepa SMMP3 retrasó la aparición de síntomas de SMS y redujo el daño foliar en condiciones de invernáculo en dos experiencias independientes. Tanto en invernáculo como a campo, la inoculación de semillas con SMMP3 resultó en una reducción de los índices de SMS (incidencia y severidad) y de sus valores AUDPC. En el lote experimental, el grupo de plantas cuyas semillas se trataron con SMMP3 mostró un incremento de producción de 10.4% kg de granos/ha. Dado el diseño del experimento, no es posible descartar un efecto promotor del desarrollo vegetal independiente del control de SDS. Esta tendencia positiva del tratamiento de las semillas no fue estadísticamente significativa ($P > 0.05$), por lo que deberá ser confirmada en ensayos adicionales a campo.

Los resultados sugieren que la cepa SMMP3 posee rasgos de control biológico *in vitro* e *in planta* contra uno de los agentes causales de SMS como es *F. tucumaniae* CCC 132-11. Se requieren ensayos adicionales como el tratamiento

conjunto de semillas con el aislamiento SMMP3 y antifúngico químico, o la inoculación con múltiples cepas antagonistas, para mejorar el grado de protección contra SMS.

TRATAMIENTOS DE SEMILLAS EN INVERNÁCULO PARA EL CONTROL DEL SÍNDROME DE LA MUERTE SÚBITA CAUSADO POR *Fusarium tucumaniae*

Lisandro Lenzi. INTA-EEA Marcos Juárez. Ruta 12, km 3 (2580, Marcos Juárez, Córdoba. Argentina).

Las limitadas estrategias disponibles para el manejo del síndrome de la muerte súbita (SMS) motivan la búsqueda de nuevas alternativas, entre las que se incluye el uso de curasemillas sintéticos y/o de organismos antagonistas. Con el objetivo de evaluar el efecto de algunos curasemillas sintéticos y de organismos antagonistas para el manejo del SMS, se realizaron ensayos en invernáculo (con inoculación de *F. tucumaniae*) y a campo (en lotes con infestación natural de *F. tucumaniae*), en los que se trataron semillas de diferentes cultivares de soja con los productos de síntesis química fludioxonil 2,50 % + metalaxyl-M 3,75 % (Apron Maxx), carbendazim 25 % + thiram 25 % (Germitan), pyraclostrobin + metil tiofanato (Acronis), y N-fenilmaleimida, y con los organismos antagonistas *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces spp.* (C202), y *Lactobacillus buchneri* (BAL7).

La variable utilizada para comparar el efecto de los tratamientos sobre los síntomas foliares del SMS, fue el índice de enfermedad (IE) en el estadio fenológico R6 en los ensayos de campo, y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad en invernáculo. En los ensayos de campo, además, se comparó el rendimiento.

$$IE = [(a*1+b*2+c*3+d*4+e*5) *100] / (n*5)$$
, donde: *n*: es el número total de plantas de la subparcela, *a*: número de plantas con grado 1 de severidad, *b*: número de plantas con grado 2 de severidad, *c*: número de plantas con grado 3 de severidad, *d*: número de plantas con grado 4 de severidad y *e*: número de plantas con grado 5 de severidad en la iésima observación.
La escala de severidad utilizada fue de 0 al 5, siendo 0: ausencia de síntomas; 1: hasta el 25% del área foliar afectada; 2: entre 25 y 50%; 3: entre 50 y 75%; 4: más del 75% de área foliar afectada y defoliación prematura y 5: plantas muertas por SMS.

En estas experiencias, si bien en algunos casos se observó una disminución en el nivel de los síntomas foliares del SMS y un aumento en el rendimiento en algunos tratamientos respecto a los testigos sin tratar, las diferencias no fueron estadísticamente significativas, lo que indicaría que los tratamientos evaluados no fueron efectivos para el control del SMS.

Rotaciones y Cultivos de Cobertura

Las rotaciones y el uso de cultivos de cobertura, pueden contribuir para reducir los daños causados por plagas y enfermedades. La incorporación de materia orgánica puede mejorar las características físicas y químicas del suelo, aumentar la actividad y la diversidad microbiana, lo que puede producir un efecto positivo para el control de organismos fitopatógenos.

Con el objetivo de evaluar el posible efecto de algunas rotaciones y cultivos de cobertura sobre el SMS, se sembraron parcelas con distintos antecesores en un lote de Inrville con infestación natural de *F. tucumaniae*. En noviembre de 2011, se sembraron parcelas (4 surcos, a 0,52m x 6 m) de maíz, de sorgo, y de dos variedades de soja (una variedad caracterizada como susceptible al SMS y otra como moderadamente resistente), y en junio de 2012 parcelas de vicia, centeno, trigo, triticale y avena. En las próximas campañas se sembrará soja sobre estas parcelas y se evaluará la incidencia y severidad del SMS.

EVALUACIÓN DE TRATAMIENTOS DE SEMILLAS PARA EL MANEJO DEL SÍNDROME DE LA MUERTE SÚBITA CAUSADO POR *Fusarium tucumaniae* EN ENSAYOS DE CAMPO

Lisandro Lenzi. INTA-EEA Marcos Juárez. Ruta 12, km 3 (2580, Marcos Juárez, Córdoba. Argentina).

Las limitadas estrategias disponibles para el manejo del síndrome de la muerte súbita (SMS) motivan la búsqueda de nuevas alternativas. Entre estas se incluye el uso de curasemillas sintéticos y/o de organismos antagonistas, cuya eficiencia aún no ha sido acabadamente estudiada. Sumado a esto, la evaluación de tecnologías de manejo de enfermedades que involucran organismos antagonistas con potencial para el control biológico, tiene la ventaja de responder a crecientes demandas actuales que plantean la necesidad de desarrollo e incorporación al sistema productivo agrícola de técnicas menos nocivas para el ambiente y la salud humana. **El objetivo** de este trabajo fue evaluar en condiciones de campo el efecto de 2 curasemillas sintéticos y 4 organismos antagonistas, para el manejo del SMS en 5 cultivares de soja.

Materiales y métodos

El ensayo se realizó en un lote de la localidad de Inrville, provincia de Córdoba, con infestación natural de *F. tucumaniae*. Se sembró el 03/11/11, en siembra directa sobre rastrojo de soja, con una densidad de 20 semillas por metro lineal de surco.

Se evaluaron 35 tratamientos que corresponden a las combinaciones de 7 tratamientos de semillas con distintos productos (2 de síntesis química, 4 organismos antagonistas y un testigo) aplicados en 5 cultivares de soja.

Los **cultivares** de soja (caracterizados en campañas anteriores como susceptibles (S) o moderadamente resistente (MR) al SMS (Lenzi et al., 2010)) fueron: NA4613RG (S), NA4990RG (S) y DM4670 (MR), del grupo de madurez (GM) IV, y DM5.9i (MR) y RA538 (S) de GM V.

Los **tratamientos** aplicados a cada cultivar fueron:

1. Apron Max (Fludioxonil 2,50% + Metalaxyl-M 3,75%): 150 ml/ 350 ml agua/ kg de semilla (síntesis química).
2. N-fenilmaleimida: 600 ml/ kg de semilla (síntesis química).
3. *Bacillus subtilis*: 300 ml/ kg de semilla (organismos antagonistas).
4. *Streptomyces spp.*: (suspensión de $5,69 \times 10^7$ UFC/ml) 600 ml/ kg de semilla (organismos antagonistas).
5. Bacteria acidoláctica: (suspensión de $2,037 \times 10^9$ UFC/ml) 600 ml/ kg de semilla (organismos antagonistas).
6. *Trichoderma spp.*: (inmersión de las semillas de soja durante 1 hora en suspensión) 1 g de esporas/ 3g glucosa/ 1000 ml agua (organismos antagonistas).
7. Testigo

N-fenilmaleimida, *Streptomyces spp* y la bacteria acidoláctica fueron provistos por el CEREMIC (Centro de Referencia de Micología, Facultad de Bioquímica, Universidad Nacional de Rosario).

Se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas con 4 repeticiones por tratamiento, siendo el factor principal el cultivar y el segundo factor, el producto aplicado en la semilla, aleatorizado dentro de cada parcela principal. Las unidades experimentales fueron subparcelas de dos surcos (a 0,52 m) x 3,5 m de longitud.

En el estadio fenológico (EF) V1 se registró el número de plantas en cada parcela, y a partir de la detección de la enfermedad, periódicamente se evaluó la severidad de los síntomas foliares. La severidad se estimó en forma individual en cada una de todas las plantas de las parcelas, y se calculó el Índice de Enfermedad (IE) como:

$$IE_i = [(a_i*1+b_i*2+c_i*3+d_i*4+e_i*5) *100] / (n*5), \text{ donde:}$$

n: es el número total de plantas de la subparcela, a_i: número de plantas con grado 1 de severidad, b_i: número de plantas con grado 2 de severidad, c_i: número de plantas con grado 3 de severidad, d_i: número de plantas con grado 4 de severidad y e_i: número de plantas con grado 5 de severidad en la iésima observación. La escala de severidad utilizada fue de 0 al 5, siendo 0: ausencia de síntomas; 1: hasta el 25% del área foliar afectada; 2: entre 25 y 50%; 3: entre 50 y 75%; 4: más del 75% de área foliar afectada y defoliación prematura y 5: plantas muertas por SMS.

La variable utilizada para analizar el efecto de los tratamientos sobre el SMS fue el valor más alto de IE_i de cada parcela (IE=valor máximo de IE_i), que generalmente fue el registrado en el EF R6. En el estadio fenológico R8 se cosecharon las parcelas y se registró el rendimiento (gramos/ parcela).

Se realizó el análisis de variancia para el n° de plantas en V1, para el Ln (IE+0.5) y para el rendimiento (el IE se transformó para obtener normalidad y homogeneidad de variancias). Las comparaciones entre las medias de los tratamientos se realizaron por el test LSD de Fisher (p = 0,05) utilizando el software estadístico Infostat.

Resultados

Los primeros síntomas se detectaron el 26/01/12 (84 días después de la siembra) en algunas parcelas. Los cultivares de GM IV estaban en R3 y los de GM V en R2. En general los síntomas se incrementaron desde la primera evaluación, y los máximos valores de IE se registraron en R6. La última evaluación de los síntomas foliares se realizó en el EF R6 de cada cultivar, el 23/02/12 en el caso de los de GM IV y el 09/03/12 en los de GM V (**Planilla 1**). En todos los tratamientos se observaron síntomas de SMS en al menos una repetición.

En una de las repeticiones, debido a las características del terreno (“bajo”), en la mayoría de las parcelas se observó menor crecimiento y disminución en el porte de las plantas respecto a las otras repeticiones. En estas parcelas el nivel de los síntomas de SMS fue muy bajo, por lo que se decidió eliminar la repetición de los análisis estadísticos (en rojo en la Planilla 1).

Mediante el análisis de variancia (**Tabla 1 - Planilla 2**), se detectaron diferencias en el N° de plantas tanto entre cultivares como entre tratamientos (**Tabla 2 - Planilla 3**). La diferencia entre cultivares puede atribuirse a diferencias en el poder germinativo de las semillas utilizadas. El número de plantas (en V1) en las parcelas tratadas con *Trichoderma spp.* fue menor que en el resto de los tratamientos, incluido el testigo, entre los cuales no hubo diferencias para esta variable. Esto puede estar asociado con la metodología utilizada para el tratamiento con *Trichoderma spp.*, que consistió en dejar las semillas sumergidas en una suspensión de esporas durante 90 minutos, lo que pudo haber afectado negativamente la germinación (por ejemplo, la semillas pudo haberse “ablandado” y ser más susceptible a dañarse durante la manipulación y la siembra).

Respecto al IE y al rendimiento, se detectaron diferencias entre cultivares pero no entre los tratamientos aplicados a las semillas, y tampoco hubo interacciones significativas (**Tabla 1-Planilla 2**). Las diferencias entre cultivares fueron las esperadas en base a la caracterización previa de los mismos. Si bien en algunos cultivares se observó una disminución en el IE y un aumento en el rendimiento en algunos tratamientos respecto al testigo (**Tablas 3 y 4 - Planilla 3**), estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

	Ln(IE+0,5)			Nº de plantas			Rendimiento (g/parcela)		
	GL	F	p	GL	F	p	GL	F	p
Cultivar	4	4,24	0,0393	4	3,97	0,0461	4	11,58	0,0021
Trat	6	1,88	0,1006	6	4,32	0,0012	6	0,78	0,587
Cultivar*Trat	24	1,64	0,065	24	0,92	0,5801	24	0,66	0,8646

GL: grados de libertad

	Testigo	N-fenilmaleimida	Apron Max	<i>Bacillus subtilis</i>	Bacteria acidoláctica	<i>Streptomyces spp</i>	<i>Trichoderma spp</i>	Promedio
DM4670	95,3	91,3	88,0	82,0	85,3	96,3	73,7	87,4 ^A
NA4613	102,3	87,3	94,0	92,3	86,7	93,3	78,3	90,6 ^A
NA4990	86,3	92,3	96,3	90,3	95,7	83,7	85,0	90,0 ^A
DM5.9	82,3	100,3	98,3	80,0	82,0	94,3	68,0	86,5 ^{AB}
RA538	80,5	86,3	77,3	82,7	76,0	90,3	67,7	80,1 ^B
	89,4 ^A	91,5 ^A	90,8 ^A	85,5 ^A	85,1 ^A	91,6 ^A	74,5 ^B	

* Letras distintas indican diferencias significativas. Test LSD 5%

	Testigo	N-fenilmaleimida	Apron Max	<i>Bacillus subtilis</i>	Bacteria acidoláctica	<i>Streptomyces spp</i>	<i>Trichoderma spp</i>	Promedio*
DM4670	11,3	4,5	6,1	7,8	3,4	2,7	7,2	6,1 ^A
NA4613	28,6	20,9	7,2	19,1	25,6	22,4	21,2	20,7 ^{BC}
NA4990	34,0	38,0	27,6	43,4	34,3	30,3	26,7	33,5 ^C
DM5.9	10,9	9,5	12,2	17,6	12,6	16,0	14,3	13,3 ^{AB}
RA538	17,1	18,2	21,6	18,8	11,1	23,3	15,9	18,0 ^{BC}
Promedio	20,4	18,2	14,9	21,3	17,4	18,9	17,1	

* Letras distintas indican diferencias significativas. Test LSD 5% para el Ln(IE+0.5)

	Testigo	N-fenilmaleimida	Apron Max	<i>Bacillus subtilis</i>	Bacteria acidoláctica	<i>Streptomyces spp</i>	<i>Trichoderma spp</i>	Promedio
DM4670	3852	4518	4689	4129	4389	4643	4740	4423 ^D
NA4613	3601	4038	4583	4002	3713	3989	4183	4016 ^{CD}
NA4990	2982	3023	3065	3161	3262	3329	3582	3200 ^{AB}
DM5.9	3628	4074	3811	3251	3573	3592	3255	3598 ^{BC}
RA538	3195	2833	2969	3038	3175	2798	3469	3068 ^A
Promedio	3451	3697	3823	3516	3623	3670	3846	

* Letras distintas indican diferencias significativas. Test LSD 5%

ESTIMACIÓN DEL EFECTO DEL SÍNDROME DE LA MUERTE SÚBITA SOBRE EL RENDIMIENTO DE PLANTAS DE SOJA

Lisandro Lenzi. INTA-EEA Marcos Juárez. Ruta 12, km 3 (2580, Marcos Juárez, Córdoba, Argentina).

Método de Plantas Apareadas

La ausencia de fungicidas para el control del SMS, dificultan la estimación de su efecto sobre el rendimiento, ya que en condiciones de campo con infestación natural del patógeno no es posible disponer de parcelas homogéneas que difieran únicamente en la presencia-ausencia de la enfermedad. La técnica de plantas apareadas, que consiste en comparar pares compuestos por una planta con síntomas de la enfermedad y una planta sin síntomas, de porte similar y muy próximas entre sí para que compartan un mismo microambiente aéreo-edáfico, permite disminuir el efecto de otros factores, distintos a la enfermedad, en las diferencias de rendimiento entre plantas sanas (PS) y enfermas (PE). Esta técnica se utilizó para estimar el efecto del SMS sobre algunos componentes del rendimiento de plantas de soja, en experiencias realizadas en distintas campañas y localidades del dpto Marcos Juárez, Córdoba (Tabla 1). En todos los casos se marcaron pares de plantas (PS y PE) en el estadio fenológico R5. Las PE presentaban entre el 25% y el 90%

del área foliar afectada por SMS. Las plantas se recolectaron en R8, se trillaron en forma manual y se registró el número de vainas, el número de semillas, el peso de 1000 granos (g) y el rendimiento de cada planta (g).

En todos los casos, las variables analizadas disminuyeron en las PE respecto a las PS, excepto el número de semillas que fue similar en el caso del cultivar DM 4670 sembrado en Inrville en 2010/11 (Tabla 1). En las PE, el rendimiento disminuyó entre 47% y 67% respecto a las PS.

Considerando los niveles de incidencia y la disminución del rendimiento en las PE respecto a las PS, pueden estimarse pérdidas a nivel de lote del 3% al 25% asociadas con el SMS.

Inoculación a campo

En la campaña 2006/07, se inocularon cinco cultivares de soja con *F. tucumaniae* (aislamiento CCC 168-05) en condiciones de campo, en un lote sin historia de ataques severos de SMS. Para la inoculación se colocaron 6 g de sorgo colonizado por el patógeno/metro lineal de surco bajo la línea de siembra. El ensayo se sembró el 13/11/06 y se utilizó un diseño de parcelas divididas con 4 repeticiones (parcela principal: cultivar, sub-parcela: inoculado, sin inocular). Las sub-parcelas fueron de dos surcos a 0,52m x 3m de largo.

En las parcelas sin inocular, prácticamente no se observaron plantas con síntomas foliares de SMS. En las parcelas inoculadas se observaron síntomas foliares de SMS, y el rendimiento disminuyó respecto a las parcelas sin inocular. La disminución del rendimiento fue del 30,3% en el caso del cultivar NA 4613RG (Incidencia= 54,9%), del 2,1% en ADM 4800 (Incidencia= 2,2%, la disminución de rendimiento no fue significativa), del 14,1% en ANDREA 63 (Incidencia= 42,7%, la disminución de rendimiento no fue significativa), del 29,8% en RA505 (Incidencia=53,8%), y del 41,9% en A 8000 RG (Incidencia= 84,3%).

Tabla 1- Comparación de componentes de rendimiento en plantas de soja con síntomas foliares del síndrome de la muerte súbita (Plantas enfermas) y en plantas sin síntomas (Plantas sanas)

Localidad	Cultivar	Fecha de siembra	Pares de plantas comparados	Tratamiento*	Nº de vainas	Nº de granos	Nº de granos/vaina	Peso de 1000 granos (g)	Rendimiento (g)	Incidencia**	Pérdida estimada en el lote***
Leones 1	NA4613RG	04-11-05	67	Planta sana	43,8	110,0	2,5	141,6	15,5	21%	14,1%
				Planta enferma	22,9	51,0	2,3	88,1	5,1		
				Diferencia	20,9	59,0	0,2	53,5	10,4		
				Disminución(%)	47,7	53,6	8,4	37,8	67,1		
Inrville	NA5009RG	25-11-10	50	Planta sana	46,5	95,5	2,1	175,0	16,8	20%	11,7%
				Planta enferma	27,6	52,1	1,8	130,0	7,0		
				Diferencia	18,9	43,4	0,3	45,0	9,8		
				Disminución(%)	40,7	45,4	12,4	25,7	58,5		
Marcos Juárez	NA5009RG	30-11-10	50	Planta sana	52,7	112,0	2,1	171,0	19,1	15%	7,1%
				Planta enferma	38,1	75,7	2,0	133,0	10,1		
				Diferencia	14,6	36,3	0,1	38,0	9,0		
				Disminución(%)	27,8	32,4	6,4	22,2	47,3		
Leones 2	NA4990RG	26-10-10	50	Planta sana	45,7	109,5	2,4	153,0	17,0	15%	8,2%
				Planta enferma	35,6	74,5	2,1	104,0	7,8		
				Diferencia	10,1	35,0	0,3	49,0	9,3		
				Disminución(%)	22,1	32,0	12,7	32,0	54,4		
Inrville	DM 4670	27-10-11	17	Planta sana	65,8	143,9	2,3	136,6	19,7	5%	3,0%
				Planta enferma	35,3	78,9	2,3	95,4	7,9		
				Diferencia	30,5	64,9	0,0	41,2	11,9		
				Disminución(%)	46,3	45,1	0,0	30,2	60,2		
	NA4990RG	03-11-11	22	Planta sana	51,4	113,6	2,2	144,9	16,3	40%	23,5%
				Planta enferma	26,4	50,4	1,8	128,5	6,7		
				Diferencia	25,1	63,2	0,4	16,5	9,6		
				Disminución(%)	48,7	55,7	18,5	11,4	58,7		
	NA4990RG	19-12-11	34	Planta sana	40,1	55,3	1,6	150,4	8,5	25%	12,9%
				Planta enferma	33,4	35,3	1,4	106,0	4,1		
				Diferencia	6,7	20,0	0,2	44,5	4,4		
				Disminución(%)	16,7	36,2	12,5	29,6	51,7		

* Diferencia: valor de la variable en PS-valor de la variable en PE

Disminución (%): $(1 - (\text{valor de la variable en PE} / \text{valor de la variable en PS})) \times 100$

** Incidencia: porcentaje estimado de plantas en el lote con síntomas foliares de SMS

*** Pérdida estimada en el lote: $(\text{Incidencia} \times \text{Disminución}(\%)) / \text{Rendimiento} \times 100$

LA DIVERSIDAD MICROBIANA DEL SUELO ¿UNA HERRAMIENTA DE MANEJO DE LA MUERTE SÚBITA DE LA SOJA?

Silvina Vargas Gil

Instituto de Patología Vegetal (IPAVE)- INTA. Camino 60 Cuadras km 5.5 CP 5119, Córdoba, Argentina.

Como consecuencia de la intensificación agrícola, los sistemas productivos en nuestro país se encuentran bajo procesos de degradación edáfica con una marcada reducción de la biomasa microbiana y sus actividades. Así mismo, también las prácticas de manejo de los cultivos pueden alterar la abundancia o las actividades de los microorganismos, quienes desarrollan funciones clave en los procesos bioquímicos edáficos, que están directamente relacionados con la sanidad de los cultivos. La comunidad microbiana en la que se desarrolla un patógeno determina la manifestación de una enfermedad debido a la naturaleza biológica de la supresividad de las enfermedades. Por esta razón, los sistemas capaces de desarrollar esa supresividad involucran el uso de herramientas de manejo apropiadas que favorezcan el incremento de la diversidad microbiana inhibiendo el desarrollo de los patógenos. Estas prácticas pueden tener diferente

impacto sobre las características o actividades de los microorganismos residentes y en consecuencia juegan un rol importante para determinar el desarrollo de un estado supresivo de una enfermedad. Así, a pesar de que es ampliamente conocido que tanto la especie vegetal como el tipo de suelo pueden *moldear* la estructura de las comunidades microbianas, los mecanismos para esas interacciones todavía se desconocen.

Según experiencia a campo, el monocultivo de soja favoreció la manifestación de la muerte súbita de la soja (SMS) causada por especies del género *Fusarium*, en comparación con la rotación soja/maíz, en suelos arcillosos de Cerrillos (ensayo de larga duración) y Las Lajitas (lotes comerciales) de la provincia de Salta. Por su parte, a partir de muestras de suelo tomadas de los tratamientos con monocultivo de soja y con rotación soja/maíz, se cuantificó la abundancia y actividades de la microbiota nativa del suelo, como también la presencia de agentes potenciales de biocontrol.

En el ensayo de larga duración, en los tratamientos de soja en monocultivo la incidencia de la enfermedad fue de 15%; en soja en rotación con maíz no se detectó la enfermedad. A partir de las muestras de suelo analizadas se observó una correlación significativa y negativa entre la incidencia de SMS y la biomasa microbiana (-0.36), el contenido de glomalina liberada por hongos micorrícicos-GRSP (-0.24), y los biocontroladores, *Trichoderma* spp. (-0.11), actinomicetes (-0.69), *Pseudomonas* fluorescentes (-0.53), y la hidrólisis de diacetato de fluoresceína FDA (-0.86). Según estos resultados, el menor contenido de biomasa y actividad microbianas en el suelo se asoció a mayor incidencia de SMS. Por otra parte, en evaluaciones realizadas a partir de lotes comerciales, también se registró una correlación negativa y significativa entre SMS y bacterias totales (-0.22), GRSP (-0.21), *Gliocladium* spp. (-0.11), Actinomicetes (-0.11) y *Pseudomonas* fluorescentes (-0.10), FDA (-0.16), asociado esto también a mayor incidencia de SMS en soja en monocultivo (27%) en comparación con soja en rotación con maíz. Además, tanto en el ensayo de larga duración como en los lotes comerciales también hubo una correlación negativa y significativa entre la incidencia de SMS y el rendimiento del cultivo de soja.

Los resultados señalan la importancia de implementar prácticas conservacionistas para mejorar la calidad del suelo en cuanto a su riqueza microbiana, y así disminuir la incidencia de enfermedades causadas por hongos de suelo. Sin embargo, otros autores sostienen que la rotación de soja con maíz no tuvo influencia sobre la manifestación de la enfermedad o bien la favoreció. Es decir que la diversidad microbiana *per se* constituye una herramienta de manejo de la enfermedad por favorecer el ciclado de nutrientes y la estructura del suelo, contribuyendo al desarrollo de un cultivo más preparado para enfrentar el ataque por los agentes causales de SMS. No obstante, el maíz se registra como hospedante alternativo para el patógeno, por lo que debe tenerse en cuenta este aspecto al momento de analizar el efecto del manejo sobre el patógeno.

ROL DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES EN LA PROTECCIÓN DE LA SOJA (*Glycine max*) CONTRA EL SÍNDROME DE LA MUERTE SÚBITA CAUSADA POR *Fusarium virguliforme*

M. Lorena Giachero, Nathalie Márquez, Daniel Ducasse. Instituto de Patología Vegetal (IPAVE) CIAP-INTA (Ex-IFFIVE). Camino 60 cuerdas Km 5 ½. (5019), Córdoba.

Numerosas enfermedades pueden afectar al cultivo de soja, ocasionando pérdidas importantes de rendimiento. Entre ellas, se destaca el “síndrome de la muerte súbita” causado por *Fusarium virguliforme* (*Fv*). El ataque de patógenos es una condición desfavorable que generalmente activa una serie de mecanismos de defensa cuyo fin es detener, aminorar o contrarrestar la infección. Una vez que la planta detecta la entrada del organismo agresor, se desata una cascada de señales que provocan cambios morfológicos, bioquímicos y fisiológicos, y que requieren la activación de un conjunto de genes cuyos productos proporcionan protección, no sólo a nivel local, sino también a nivel sistémico.

Se ha reportado que la presencia de micorrizas en las raíces de sus hospedantes reduce la incidencia de enfermedades causadas por hongos del suelo (Azcon-Aguilar and Barea, 1996). Con la finalidad de comprender en profundidad el proceso de infección de *Fv* en soja y de evaluar el papel de las micorrizas en esta interacción planta/patógeno, se diseñaron dos sistemas de inoculación *in vitro*. Uno involucra la interacción soja/*Fv* y permitió identificar un conjunto de genes que se comportan diferencialmente durante los primeros momentos de la infección. El segundo sistema, que tiene por finalidad estudiar la triple interacción Soja/Micorrizas/*Fv* se basó en un sistema de cultivo *in vitro* parcialmente cerrado, denominado HAM-P (Half-closed Arbuscular Mycorrhizal – Plant) (Voets et al., 2005), que permite una micorrización rápida y homogénea de las plantas de soja previo a la infección con el patógeno. Los resultados mostraron que, durante la interacción soja/*Fv*, de un total de 4 genes seleccionados por AFLP cDNA y validados por PCR en tiempo real, dos mostraron expresión diferencial (el gen 22 y el 67) y esta respuesta fue mayor a nivel local (zonas adyacentes al punto de contacto) y más atenuada en los tejidos distantes al sitio de infección con el patógeno. Fue posible también comprobar que hubo una respuesta sistémica, la cual se induce con el reconocimiento del patógeno.

Cuando se analizó el porcentaje de infección con *Fv* en la triple interacción, se observó que las plantas micorrizadas mostraron menores porcentajes de *Fv* comparadas con las no micorrizadas lo cual indicaría que la presencia de hongos micorrícicos arbusculares aumenta la resistencia/tolerancia de la soja a la infección por *Fv*. Se están desarrollando estudios de microarreglos de DNA con la finalidad de encontrar diseños de expresión génica que permitan explicar de una manera funcional este comportamiento.

AVANCES EN METABOLÓMICA DE LA INTERACCIÓN SOJA-*Fusarium tucumaniae*

Claudia Spampinato¹, Gerardo Cervigni¹, Kerry O'Donnell², Takayuki Aoki³, Mercedes Scandiani^{4,5}, Alicia Luque⁵. ¹CEFOBI-Fac. Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, Rosario, 2000, Argentina ²Microbial Genomics and Bioprocessing Research Unit, NCAUR, USDA, ARS, Peoria, Illinois 61604, USA, ³NIAS, 2-1-2 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8602, Japan, ⁴Laboratorio Agrícola Río Paraná, Ruiz Moreno 225, San Pedro, 2930, Argentina, ⁵CEREMIC, Rosario, 2000, Argentina.

El síndrome de la muerte súbita (SMS) de la soja puede originarse por 4 especies diferentes de *Fusarium*: *F. brasiliense*, *F. crassistipitatum*, *F. tucumaniae* y *F. virguliforme*, siendo *F. tucumaniae* el principal agente etiológico en Argentina. A fin de identificar potenciales moléculas responsables de los mecanismos de resistencia de la soja a estos patógenos, se compararon los perfiles metabolómicos de dos cultivares argentinos usando cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa (GC-MS). Los cultivares utilizados fueron el DM 4670 y el NA4613, los cuales se diferencian por el grado de resistencia al patógeno (tolerante y susceptible, respectivamente). Ambos cultivares se inocularon artificialmente con un aislamiento de *F. tucumaniae* previamente cultivado en granos de sorgo durante 15 días en oscuridad a 25°C. Se incluyeron controles no inoculados para cada genotipo evaluado. Las plantas se crecieron durante 7, 10, 14 y 25 días. A los tiempos indicados, se extrajeron 4 repeticiones biológicas independientes, comprendiendo cada una de ellas 4 plantas.

Los resultados indicaron que el cultivar resistente mostró menor enfermedad foliar y radicular y mayores altura y pesos foliar y radicular con respecto al cultivar susceptible. El análisis de GC-MS permitió identificar azúcares (xilulosa, glucosa, fructosa y sacarosa), alcoholes (arabitol, glicerol, inositol y mioinositol), ácidos orgánicos e inorgánicos (ácidos láctico, malónico, butanoico, fumárico, succínico, galactárico, cítrico y fosfórico), lípidos (ácidos palmítico, esteárico y monoestearato de glicerol), aminoácidos (Leu, Pro, Gly, Val, Ala, Ser, Asp y Asn) y compuestos nitrogenados (cadaverina, putreanina y urea). Los niveles de metabolitos se relativizaron al estándar interno ribitol y se compararon entre las muestras. Los resultados indican que no habría diferencias significativas de los niveles de metabolitos entre ambos cultivares a 14 y 25 días post-inoculación. Sin embargo, algunos compuestos muestran variación en sus niveles a tiempos más tempranos. Estos compuestos comprenden algunos azúcares, alcoholes, ácidos orgánicos e inorgánicos y aminoácidos.