

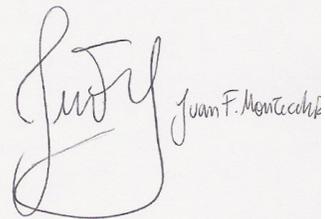
# Informe Científico

Beca de Estudio

Comisión de Investigaciones Científicas

Becario: Ing. Agr. Juan Francisco Montecchia

Firma del Becario:

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Juan F. Montecchia', written in a cursive style. The signature is positioned to the right of the printed text 'Firma del Becario:'.

Juan F. Montecchia

# **Informe Científico Final**

## **Beca de Estudio**

**2012-2014**

**Comisión de Investigaciones Científicas de  
la Provincia de Buenos Aires**

**Becario:** Ing. Agr. Juan Francisco Montecchia

**Título:** “Inducción de tolerancia a la Fusariosis de la espiga mediante el empleo de elicitores hormonales y biológicos en trigo”.

### **Introducción:**

En el presente informe se exponen los resultados de los ensayos realizados durante la beca de Estudio. El primer ensayo fue informado detalladamente en el primer informe preliminar, aquí se reportan los resultados de los análisis estadísticos del mismo y se comparan con los obtenidos durante el segundo año. En este período se analizaron estadísticamente los resultados obtenidos del ensayo de la campaña 2012-13, durante los meses de Febrero y Marzo de 2013; A fines de Mayo se sembró un segundo ensayo y se condujo como se detalla en la metodología durante campaña 2013-14. Este último ensayo fue modificado respecto del primero en algunos aspectos metodológicos, basando tales cambios en los resultados obtenidos del análisis del primer ensayo.

El diseño y la orientación de la investigación se enfocaron, desde la etapa inicial de reseña bibliográfica, no solo en identificar genotipos portadores de alelos inducibles capaces de incrementar la resistencia a la Fusariosis de la espiga, sino también en la búsqueda de un posible vínculo entre la altura de la planta y la capacidad de activar estas respuestas defensivas. Un indicio de éste vínculo ha sido reportado por diversos autores en diversas publicaciones las cuales son citadas a continuación.

El estudio de las **fuentes de resistencia a la FET**, tanto desde el mapeo genético (Draeger y col. 2007, Buerstmayr y col. 2009) como desde su caracterización molecular (Ding y col. 2011), ha revelado que las mismas son de carácter poligénico, cuantitativas, e **inducibles**. Estas características dificultan su incorporación a variedades comerciales por mejoramiento tradicional dada la baja heredabilidad que presentan los caracteres cuantitativos.

Reportes recientes de mapeo genético de fuentes de **resistencia a FET** (Srinvasachary y col. 2008 y 2009) señalan a los **alelos de semi-enanismo RhtD1-a y RhtD1-b**, incorporados mundialmente en las variedades comerciales durante la «Revolución Verde», como factores determinantes en gran medida de la variabilidad de éste carácter.

Estos loci codifican **factores transcripcionales DELLA**, los cuales interactúan indirectamente con las vías de señalización y expresión de defensas mediadas por fitohormonas (Navarro y col. 2008; Saville y col. 2011). Estos Factores Transcripcionales son reguladores negativos de la expresión de los genes inducidos por el **ácido Giberélico (AG)**. Este último promueve la degradación de los factores transcripcionales **DELLA** los que, además de incidir sobre procesos de crecimiento y desarrollo, interactúan directa o indirectamente con otras vías de señalización hormonal. El rol principal del **AG** está asociado a la elongación celular y consecuentemente la elongación de tejidos, el desarrollo de semillas, el control de la floración, etc. (Santner y col. 2009).

Navarro y col. demostraron que la **estabilización** por mutaciones de las **proteínas DELLA** en *Arabidopsis thaliana* incrementa la capacidad defensiva de la planta frente a patógenos necrótrofos, mientras que su degradación, en mutantes hipersensibles al ácido giberélico, o por **aplicación exógena** del mismo en plantas normales, incrementaba la resistencia a patógenos biótrofos.

Pearce y col. 2011, realizaron una caracterización molecular de los transcritos de los alelos Rht disponibles en materiales vegetales empleados en planes de mejoramiento y determinaron las alteraciones fenotípicas que causaban la presencia de mutaciones en estos factores transcripcionales. Saville y col. 2011 determinaron que en especies monocotiledóneas, la

presencia de los alelos Rht semi-enanizantes, codificantes de DELLAs estables, alteraban la respuesta a patógenos necrótrofos y biótrofos, contribuyendo a la resistencia a necrótrofos cuanto más estables y viceversa.

Según Yang y col. 2012, la ruta de señalización del **ácido Jasmónico (AJ)**, y factores transcripcionales pertenecientes a ella (JAZs), interfieren con la degradación por medio del AG de proteínas DELLAs, y demostró como **la aplicación exógena de AJ disminuye**, en una relación directa, **la degradación de DELLAs en plántulas arroz**.

El agente causal de la FET, *F. graminearum*, tiene un comportamiento hemibiotrófico, lo que implica que en estadios iniciales de la colonización presente un crecimiento extracelular, cual hongo biótrofo, hasta que inicia la síntesis de micotoxinas e induce necrosis de tejidos (Pritsch y col. 2000; Ilgen y col. 2009). Tal característica nos permite plantear la hipótesis de que una reacción defensiva temprana, estimulada por la degradación de proteínas DELLAs, podría favorecer la respuesta tolerante por parte del cultivo por inducción de una Resistencia Sistémica Adquirida, mediada por fitohormonas.

Dado que los alelos codificantes de proteínas DELLAs cumplen una función reguladora de la elongación del tallo, han sido seleccionadas en trigo por mejoramiento tradicional para incrementar el índice de cosecha durante la llamada **revolución verde** de las décadas de los años sesenta y setenta. Estos alelos **RhtD1** se encuentran muy distribuidos a nivel mundial en las variedades comerciales actualmente cultivadas.

El descubrimiento de su implicancia regulatoria en las vías de defensas mediadas por fitohormonas resulta, para los fines de esta investigación, de gran interés. Ya que su presencia en variedades comerciales podría permitir idear nuevas estrategias para el manejo de enfermedades, pudiendo permitir el desarrollo de alternativas capaces de disminuir el uso de fungicidas derivados del petróleo, de elevado impacto ecológico y elevado costo para la actividad productiva. Estos últimos representan una herramienta poco eficaz para el productor, por comprometer el margen bruto de la actividad productiva sin garantizar un control eficiente sobre la enfermedad, por la dificultad de predecir la incidencia de la misma y por la ineficiencia de aquellos en el control de la acumulación de micotoxinas. Según Martin y Johnson (1982) tratamientos con fungicidas capaces de reducir el daño sobre el rendimiento no modificaron significativamente los niveles de micotoxina en granos. Siendo ésta la principal limitante para el consumo y para el comercio internacional del grano.

Las modificaciones efectuadas en el segundo ensayo a campo, en base a los resultados del primero, apuntan a evaluar el efecto de la dosis y el momento de aplicación de los inductores hormonales.

No pudo concretarse, en éste segundo ensayo, el análisis inmunológico de detección de micotoxinas (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay - ELISA) para evaluar si hubo algún efecto de los inductores utilizados en la acumulación de Deoxinivalenol (DON) en los granos enfermos. Este análisis resulta muy costoso y la variabilidad de los resultados obtenidos en el segundo año no justificó su implementación.

### **Objetivos:**

El objetivo general del trabajo fue determinar si en líneas experimentales y cultivares comerciales de trigo existen mecanismos de defensas inducibles por medio de la **aplicación exógena de fitohormonas**, como el **AG** y el **AJ**, que otorgan tolerancia a la infección de *Fusarium graminearum*.

Se evaluó si la inoculación a la siembra con *Pseudomonas fluorescens* (Rizofos) disminuye la severidad de la enfermedad.

Se analizó si los **tratamientos de elicitación (AG, AJ, *Pseudomonas fluorescens*)** afectan las **variables patométricas** (AUDPC, Porcentaje de granos enfermos por espiga, Peso de mil granos y contenido de micotoxinas en granos) de forma que nos permitan determinar diferencias en la respuesta defensiva de las plantas inoculadas.

Por último se determinó si existen respuestas diferenciales en germoplasmas contrastantes en el carácter de altura de planta.

Para alcanzar los objetivos generales se establecieron los siguientes objetivos particulares:

1. Determinar si la aplicación exógena de fitohormonas (AG o AJ) disminuye la incidencia y la severidad de la enfermedad en espigas de trigo inoculadas con *Fusarium graminearum*.
2. Evaluar si la inoculación a la siembra con rizobacterias (*Pseudomonas fluorescens*) disminuye la incidencia y la severidad de la enfermedad en plantas de trigo inoculadas con *Fusarium graminearum*.
3. Evaluar si los tratamientos de elicitación (AG, AJ, *Pseudomonas fluorescens*) afectan el PMG de los granos de plantas inoculadas con *Fusarium graminearum*.
4. Evaluar si los tratamientos de elicitación (AG, AJ, *Pseudomonas fluorescens*) disminuyen el contenido de la micotoxina DON (deoxinivalenol).

## **Materiales y Métodos:**

### **Materiales vegetales evaluados:**

Los materiales vegetales estudiados en las dos campañas fueron dos líneas experimentales endocriadas Doble Haploides (RILs) y una variedad comercial:

#### **- Opata x Synthetic (OxS):**

Características: Ciclo corto, Porte alto (altura?), 1.10 m. Es una línea isogénica doble haploide endocriada (DH-RIL), proveniente de una población de mapeo usada como referencia de marcadores moleculares desarrollada por el International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT) de México y la universidad de Cornell, Ithaca de EEUU. Los parentales de la población son synthetic W7984 (Altar84/*Ae. tauschii* (219) CIGM86.940) x Opata M85. La empleada en este ensayo ha sido modificada en el IPK, siendo el padre donante Synthetic obtenido por la cruce de *T. diccocooides* x *Ae tauschii*. La población original ha sido utilizada mundialmente en estudios genéticos para establecer marcadores de mapeo de referencia. Las poblaciones de referencia son utilizadas para determinar el orden de marcadores, la selección de marcadores, mapeo de caracteres de interés, para la construcción de bibliotecas de insertos y secuenciación de genomas. La línea empleada en los ensayos presentados a continuación presentan variantes alélicas superadoras de la población original sin embargo comparte en los alelos Rht no enanizantes, presenta un porte alto con una altura promedio a floración de 1,05 m.

#### **- Spark x Rialto (SxR):**

Características: Ciclo Largo, Porte Semi-enano.

Promedio de altura 0,9 m.

La población de mapeo fue desarrollada en el John Innes Center por el grupo de Srinivasachary y col. 2008. El pedigree de los parentales de la población es:

- Spark CB306Y 70(CIMMYT)/ MW//Hobbit/Tonic (Singh et al. 2001).

- Rialto es Haven/Fresco ([http://genbank.vurv.cz/ewdb/asp/ewdb\\_d2asp?accn=5165](http://genbank.vurv.cz/ewdb/asp/ewdb_d2asp?accn=5165)).

La línea doble haploide endocriada utilizada en el ensayo y proviene de una población segregante para el alelo RhtD1-b asociado a susceptibilidad a la FET según los estudios realizados sobre esta población de mapeo por Srinivasachary y col. 2008-2009.

- **Klein Zorro (KZ):**

Características: Ciclo corto, Porte Semi-rastrero. Altura promedio 1 m.

El ensayo fue sembrado, bajo un diseño factorial de parcela subdividida, con dos repeticiones por genotipo, en uno de los umbráculos de la cátedra de Genética en la ciudad de La Plata (34° 54' LS). El umbráculo utilizado en el segundo año (2013-14) no fue el mismo del ensayo anterior. Este ensayo se llevó a cabo con una fertilización en pre-siembra, que condujo a alto nivel de vuelco dado que afectó la altura de las plantas, incrementándola, sobre todo en el genotipo **OxS**.

La siembra se realizó en parcelas de 2,5m de largo por 2,10m de ancho cada una, con un espaciamiento entre surcos 0,20m. En el primer ensayo las parcelas se sembraron entre los días 6 y 7 de Julio de 2012. En el segundo ensayo, se sembraron entre los días 24 y 25 de Mayo de 2013.

En cada parcela se evaluaron todos los tratamientos con sus respectivos testigos no inoculados.

El desmalezado se realizó de forma manual. Hubo que realizar control de pulgones en todos los ensayos, para lo cual se utilizó el insecticida de contacto Mercaptotión 100% P/V dietil (dimetoxifosfoinotiltio)succinato. Se buscó que el insecticida fuese de contacto a fin de evitar la posible interferencia fisiológica de éste con los inductores empleados.

**Elicitores Hormonales:**

Se evaluaron el efecto inductor del Ácido Jasmónico (AJ) y del Ácido Giberélico (AG) y un elicitor bacteriano o biológico: Rizofos® (Rizobacter S.A.).

**Concentración de soluciones hormonales aplicadas:**

Se asperjarán las siguientes soluciones hasta chorreo, en los distintos tratamientos:

- Ácido Jasmónico  $10^{-5}$ M
- Ácido Giberélico (GA3)  $10^{-5}$ M
- Agua destilada (testigos)

La metodología empleada en el ensayo 2013-14 incluyó un nuevo tratamiento de AG (AGX1) con una única aplicación hormonal en pre-antesis y los mismos tratamientos hormonales realizados el año anterior, con pulverizaciones semanales desde comienzo del estadio de bota hasta alcanzar plena antesis.

Se reemplazó durante el segundo año el elicitor bacteriano Rizofos por el tratamiento AGX1. El propósito del mismo fue intentar evitar el efecto negativo que el AG tratamiento mostró en la campaña 2012-13 sobre el número de granos por espiga, habiendo incrementado el aborto floral. Por limitaciones de espacio ante el agregado de este nuevo tratamiento se tuvo que excluir el tratamiento con Rizofos, el cual tuvo un efecto poco apreciable en el primer año, en comparación con el del AG.

Las aplicaciones hormonales comenzaron: El 10 de septiembre de 2013 para los genotipos de ciclo corto (OxS y KZ) y el 15 de Octubre de 2013 para el genotipo semi-enano (SxR).

El surfactante Tween 20 (Polisorbato 20) se utilizó en todas las soluciones hormonales y en la suspensión de esporas como tensioactivo para incrementar la superficie de contacto entre el móvil líquido y la superficie de los tejidos vegetales.

### **Preparación del Inóculo Patogénico:**

Para la inoculación fue seleccionada una cepa de *F. graminearum* denominada IV.II.3 perteneciente a la Colección del CIDEFI - UNLP. Recolectada en la localidad de Los Hornos, partido de La Plata, Provincia de Buenos Aires. La agresividad de esta cepa es de carácter moderado y presenta un quimiotipo productor de deoxinivalenol (DON) (Malbrán y col. 2012).

La cepa seleccionada se cultivó durante 5 días en agar de papa glucosado (APG). Se cortaron bloques de cada cepa de 2x2 cm y se transfirieron a frascos de 350 ml con 50 ml de medio de cultivo líquido (Cappellini y Peterson). Los mismos se incubaron durante 6-8 días en baño a 24°C con agitación constante (45 rpm), para estimular la producción de esporas.

Para la separación de esporas, el contenido de los frascos se centrifugó durante 10 minutos a 4.000 rpm y 2°C, el precipitado se lavó con agua estéril y centrifugó varias veces para conseguir la eliminación del medio de cultivo.

El precipitado (esporas y micelio) fue re-suspendido en agua destilada. La suspensión se filtró con tela de queso para eliminar los restos de micelio y se realizaron diluciones hasta ajustar la concentración a  $1,5 \times 10^4$  esporas /ml, con la ayuda de la cámara de Neubauer. Se agregó una gota de Tween 20 para facilitar la adherencia de las esporas a los tejidos del hospedante.

### **Método de Inducción e Inoculación:**

La inducción hormonal se realizó por pulverización desde el estadio de bota (Zadoks 4.1) con una aplicación semanal hasta alcanzar plena antesis, momento en que se inocula el patógeno con la suspensión de esporas. La pulverización de la solución hormonal sobre las parcelas deseadas se efectuó cubriendo íntegramente las parcelas aledañas con cortinas de polietileno para evitar la deriva de la solución inductora.

La **inoculación** se realizó en plena floración, con una abundante cantidad de anteras extruídas en el segmento medio de la espiga, mediante **dos técnicas que nos permiten evaluar diferencialmente dos tipos de resistencia**. Una de ellas fue la **pulverización** de la suspensión de esporas, que permite evaluar la **resistencia** de la planta a la **infección inicial**, siendo ésta

denominada resistencia de **Tipo 1**. Se pulveriza un mililitro de suspensión de esporas por espiga con un atomizador manual.

El otro método empleado fue el de **inoculación PUNTUAL**, a través del cual se evalúa la dispersión del hongo en la espiga, conocida como resistencia de **Tipo 2**. Esta técnica consiste en aplicar **5 µl de la suspensión de esporas en cada una de las dos espiguillas centrales** (previamente señalizadas con marcador indeleble) y evaluar luego con observaciones semanales la dispersión o el avance de la enfermedad a lo largo de la espiga.

### **Variables a evaluar – Metodología de evaluación:**

Luego de la inoculación, para ambas técnicas, se cubrieron las espigas con bolsas de polietileno levemente humedecidas a fin de generar un efecto de cámara húmeda, lo que facilita el crecimiento del hongo e inicio de la infección. La cámara húmeda se mantuvo por 48 horas.

Los síntomas de la enfermedad sobre las espigas se evaluaron y cuantificaron visualmente a los 7, 14, 21, y 28 días posteriores a la inoculación.

La severidad sintomática de la enfermedad se determinó por medio de observación visual realizando un conteo de espiguillas enfermas sobre espiguillas totales. Para tener una variable integradora de todas las observaciones registradas durante el avance de la enfermedad se calculó el área debajo de la curva de avance de la enfermedad, Area Under Disease Progress Curve (AUDPC). La fórmula utilizada para calcularla fue la siguiente:

$$\sum_{i=1}^n [(Y_{i+1} + Y_i)] [X_{i+1} - X_i]$$

$n$ = Número total de observaciones.

$Y_i$ = Severidad de la FET en la observación  $i$ ésima.

$X_i$ = Días a la Observación  $i$ ésima.

La evaluación semanal desde el momento de inoculación nos permitió cuantificar de forma integrada el avance sintomatológico de la infección en los distintos tratamientos evaluados. Esta variable patométrica resulta adecuada para observar la velocidad de la difusión del hongo en la espiga y estimar la agresividad de la misma, ya sea desde una posición conocida, como sucede en la inoculación puntual, o en la espiga en general en la inoculación por spray, permitiendo inferir el nivel de resistencia Tipo 1. En evaluaciones de FET en ensayos de gran escala suele tomarse esta variable como determinante del nivel de resistencia/susceptibilidad de líneas o variedades a mejorar.

Al estado de madurez, desde principios del mes de Diciembre, se cosecharon y trillaron las espigas manualmente, determinando el porcentaje de granos enfermos (GE) por espiga. Esta variable resulta de utilidad para cuantificar proporcionalmente el nivel de daño y difusión del hongo en la espiga. La evaluación externa de la sintomatología no puede suplantar esta variable, ya que la infección causada por el hongo puede obturar conductos xilemáticos y generar una marchitez temprana de la parte superior de la espiga, exhibiendo el síntoma característico en zonas a las que

no ha llegado el patógeno directamente. Por ende, ésta variable reporta el nivel de severidad realmente alcanzado por la FET. La variable AUDPC permite determinar la agresividad de la enfermedad y la capacidad de respuesta de la planta bajo determinado tratamiento.

Luego se determinó el peso de la muestra (granos totales por espiga) y a partir de ella se estimó el peso de 1.000 granos (PMG). Para estimar esta última variable se realizaron submuestras agrupando los granos de cinco espigas para evitar incorporar mucha variabilidad al modelo por la sobreestimación del error experimental de casos individuales. El PMG ha sido reportado por numerosos autores como la variable más correlacionada con el nivel de resistencia del cultivar, sobre todo en inoculaciones artificiales, en donde la presión infectiva es elevada (Parry 1995; Mesterhazy, 1983; Dorman y Oettler, 1990). Esta variable nos permite considerar las pérdidas directas de rendimiento ocasionadas por la enfermedad y cuantifica más precisamente el nivel de daño generado por el patógeno en cada tratamiento. El **PMG** es considerado la variable más robusta y representativa del **nivel de daño de la enfermedad** permitiendo, a los fines de este ensayo, evaluar la inducción de mecanismos capaces de contrarrestarla.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa **InfoStat** (Di Rienzo y col. 2012), con el que se realizaron Análisis de la Varianza y comparaciones de medias por el método de LSD-FISHER, para determinar las diferencias mínimas significativas capaces de discriminar comportamientos diferenciales entre tratamientos.

## **Resultados:**

### **ÁREA DEBAJO DE LA CURVA DE AVANCE DE LA ENFERMEDAD (AUDPC):**

Todos los tratamientos evaluados en esta variable fueron inoculados con *F. graminearum*. Se mencionan los tratamientos por su inductor hormonal sin aclarar que han sido inoculados.

#### **1- GENOTIPO KZ:**

El genotipo KZ fue evaluado para esta variable solamente en el ensayo 2013-2014. No hubo ninguna diferencia significativa para esta variable entre los tratamientos en ninguno de los ensayos de inoculación realizados (KZ SPRAY y KZ PUNTUAL).

#### **2- GENOTIPO OXS:**

##### **CAMPAÑA 2012-2013:**

Los análisis de la varianza (ANOVA) realizados sobre los resultados de los conteos de espiguillas sintomáticas efectuados en ambos ensayos de inoculación permitieron identificar diferencias significativas entre tratamientos de elicitación.

Para ambas técnicas de inoculación se observó un comportamiento semejante en respuesta a la inducción hormonal. En el ensayo de inoculación por SPRAY el tratamiento con **AJ** mostró un incremento significativo de la sintomatología respecto de los demás tratamientos hormonales y del Control no inducido ( $P < 0,0001$ ), mientras que en el ensayo de inoculación PUNTUAL éste

incremento se reprodujo en menor medida, pero de forma significativa respecto del Control ( $P<0,03$ ).

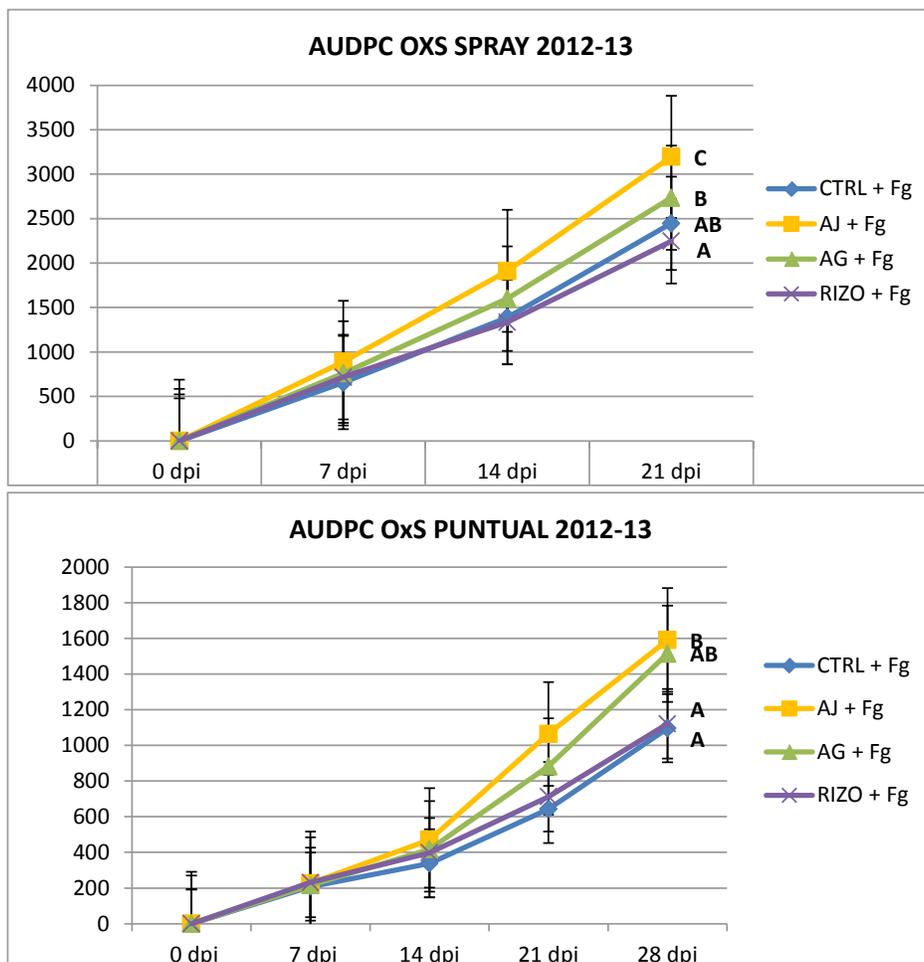


Figura 1: AUDPC de los distintos tratamientos en los dos ensayos de inoculación del genotipo OxS, campaña 2012-13. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher. Las barras de error representan el error estándar del ensayo.

### CAMPAÑA 2013-2014:

En la última campaña sólo se observaron diferencias entre tratamientos en el ensayo de inoculación PUNTUAL. La tendencia observada fue semejante a la del año anterior para el mismo genotipo, el AJ mostró un incremento significativo de la susceptibilidad del genotipo frente a la FET respecto de los demás tratamientos hormonales ( $P<0,03$ ). Sin embargo no se diferenció significativamente del tratamiento Control sin hormonas.

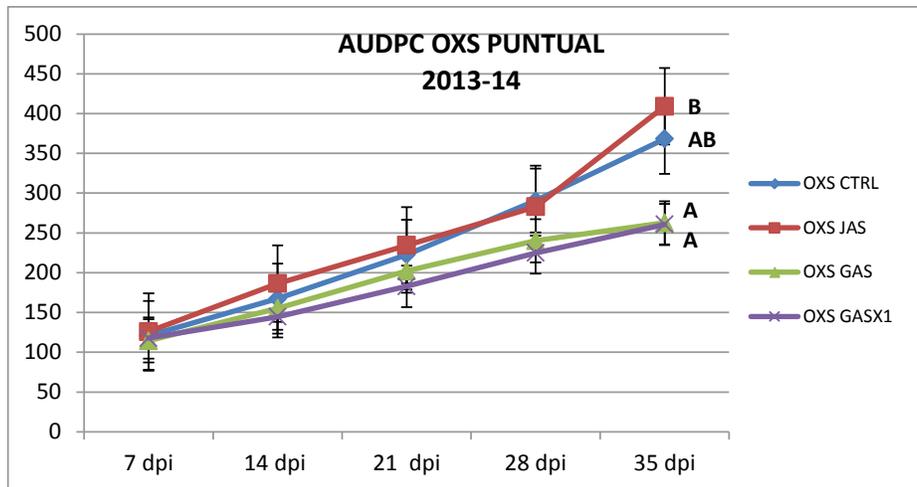


Figura 2: AUDPC de los distintos tratamientos en el ensayo de inoculación PUNTUAL del genotipo OxS, campaña 2013-14. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher. Las barras de error representan el error estándar del ensayo.

### 3- GENOTIPO SxR:

#### CAMPAÑA 2012-2013:

El genotipo SxR mostró para esta variable significativos incrementos en la resistencia a la enfermedad en los tratamientos con **AG** en los dos ensayos de inoculación. En ambos casos, inoculación por SPRAY y PUNTUAL, el tratamiento con **AG** mostró una sintomatología significativamente menor que la del Control sin inductores y que la de los demás tratamientos con inductores ( $P < 0,0001$ ).

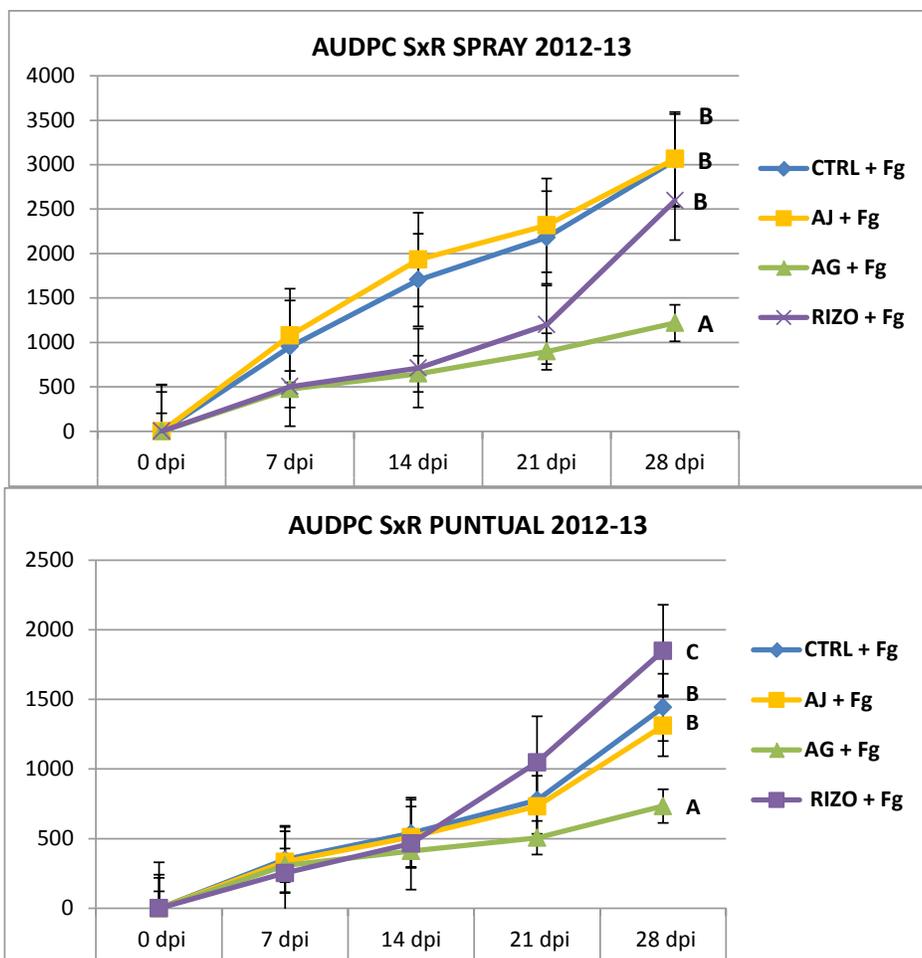


Figura 3: AUDPC de los distintos tratamientos en los dos ensayos de inoculación del genotipo SxR en la campaña 2012-13. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher. Las barras de error representan el error estándar del ensayo.

### CAMPAÑA 2013-2014:

En el segundo año de evaluación se observaron diferencias entre tratamientos solamente en el ensayo de inoculación PUNTUAL. Aquí los dos tratamientos con AG (AG y AGX1) mostraron una sintomatología significativamente menor que la del CTRL no inducido y que la del tratamiento con AJ ( $P < 0,0001$ ).

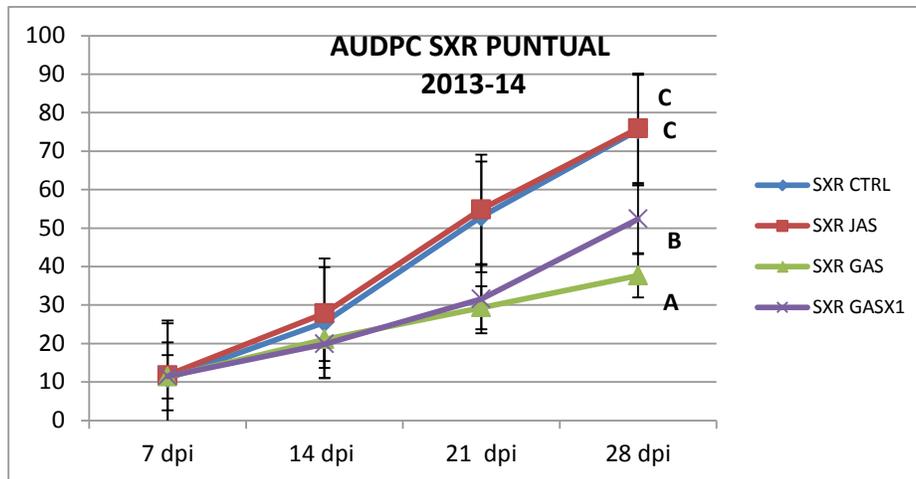


Figura 4: AUDPC promedio de los distintos tratamientos del ensayo de inoculación PUNTUAL de la campaña 2013-14. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher. Las barras de error representan el error estándar del ensayo.

## Porcentaje de Granos Enfermos por Espiga (GE):

Las comparaciones para esta variable se realizaron entre tratamientos inoculados con *F. graminearum*. En todos los ensayos de las dos campañas, las diferencias entre tratamientos inoculados y no inoculados siempre fueron significativas.

### 1- Genotipo KZ:

#### CAMPAÑA 2012-2013:

En el primer año de evaluación, el genotipo KZ solamente mostró diferencias significativas para el porcentaje de granos enfermos por espiga (GE) en el ensayo de inoculación PUNTUAL. En este ensayo los tratamientos inoculados con el hongo y tratados con inducción hormonal presentaron una menor proporción de granos enfermos, que resultó significativa respecto del control enfermo sin inductores ( $P < 0,005$ ). No hubo diferencias significativas entre AG y AJ.

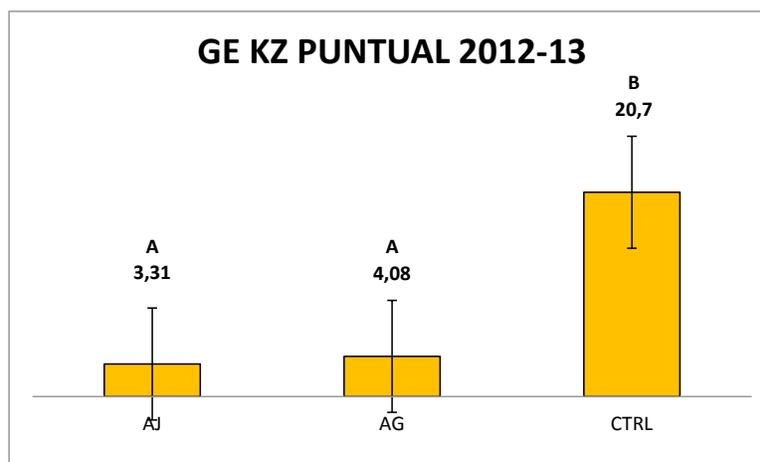


Figura 5: Comparación de medias del Porcentaje de Granos Enfermos en el ensayo de inoculación PUNTUAL del genotipo KZ Campaña 2012-13. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher.

### CAMPAÑA 2013-2014:

En la campaña 2013-14 el genotipo KZ no presentó diferencias significativas entre tratamientos para esta variable en ninguno de los dos ensayos de Inoculación.

## 2- GENOTIPO OXS:

### CAMPAÑA 2012-2013:

El genotipo Oxs presentó diferencias significativas entre tratamientos para la variable **GE** solamente en el ensayo de inoculación por SPRAY. Los tratamientos hormonales AG y AJ se diferenciaron significativamente del CTRL sin inductores en sentido negativo, es decir, incrementando significativamente ( $P < 0,003$ ) el porcentaje de granos enfermos por espiga.

El tratamiento hormonal con AG incrementó aquí en un 17% el porcentaje de granos enfermos por espiga. En la inoculación Puntual no hubo tratamiento significativamente distinto del control inoculado. El genotipo Oxs no resultó inducido positivamente por ninguno de los elicitores empleados, siendo incluso más susceptible a la infección inicial al ser tratado con AG.

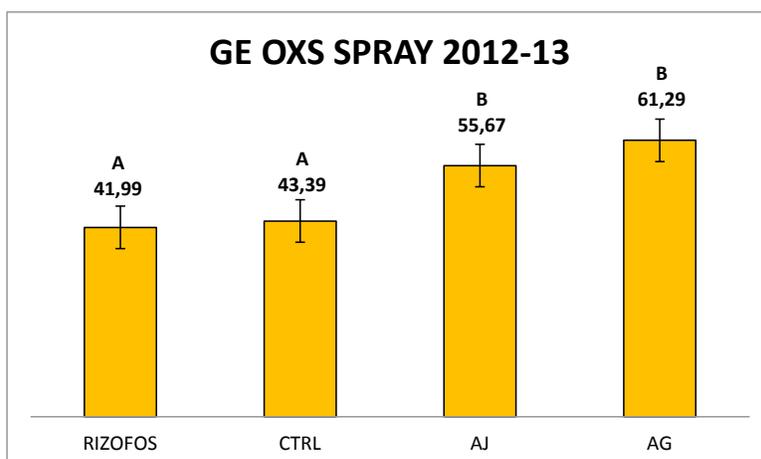


Figura 6: Comparación de medias del Porcentaje de Granos Enfermos en el ensayo de inoculación por SPRAY del genotipo Oxs. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher.

### CAMPAÑA 2013-2014:

En la campaña 2013-14, si bien hubo diferencias entre tratamientos, ninguna de ellas fue significativa para esta variable en ninguno de los dos ensayos de inoculación realizados.

## 3- Genotipo SxR:

### CAMPAÑA 2012-2013:

En la primera evaluación, a diferencia de los demás genotipos, el porcentaje de granos enfermos en SxR fue significativamente disminuido por la aplicación exógena de **AG** en el ensayo de inoculación por **SPRAY**. Se registró una reducción de **GE** del **17,5%** respecto del tratamiento control inoculado ( $P < 0,03$ ). En el caso de la inoculación PUNTUAL, no se observaron diferencias entre los tratamientos.

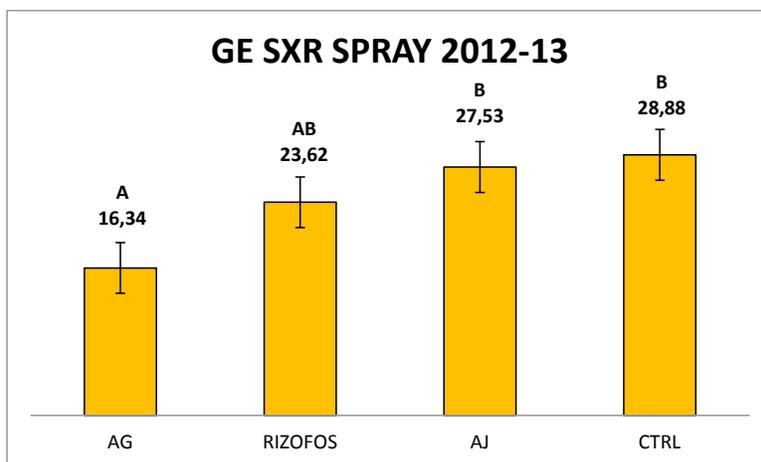


Figura 7: Comparación de medias del Porcentaje de Granos Enfermos en el ensayo de inoculación por SPRAY del genotipo SxR, campaña 2012-13. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher.

### CAMPAÑA 2013-2014:

A diferencia del año anterior las diferencias significativas entre tratamientos para la variable **GE** en el genotipo SxR se observaron en el ensayo de inoculación PUNTUAL. Esta vez el tratamiento hormonal que contribuyó significativamente en la reducción del porcentaje de GE por espiga fue el de **AGX1** ( $P < 0,04$ ).

El ensayo de inoculación por SPRAY no presentó diferencias significativas entre tratamientos para esta variable.

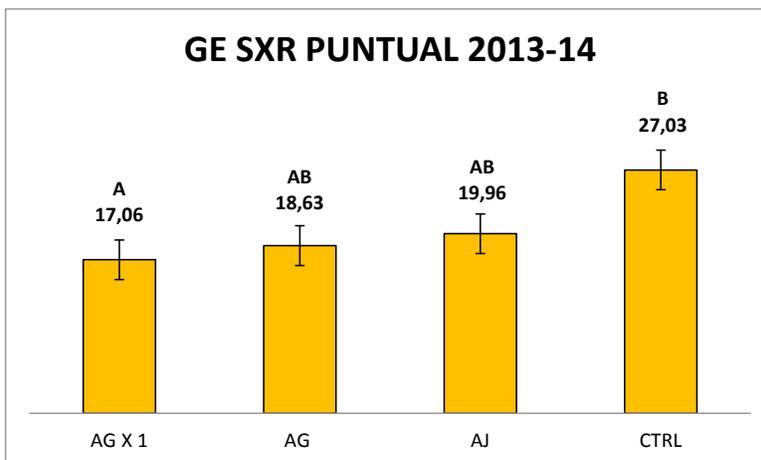


Figura 8: Comparación de medias del Porcentaje de Granos Enfermos en el ensayo de inoculación PUNTUAL del genotipo SxR campaña 2013-14. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher.

## Peso de Mil Granos (PMG):

### 1- Genotipo KZ:

#### CAMPAÑA 2012-2013:

Se observaron diferencias significativas entre tratamientos en ambos ensayos de inoculación. En la inoculación por SPRAY el tratamiento que obtuvo el PMG mayor fue el CTRL enfermo sin inducción hormonal. Ello indica que no hubo un efecto positivo de la aplicación hormonal frente a la inoculación por SPRAY, ni diferencias entre hormonas ( $P < 0,001$ ).

En la inoculación PUNTUAL el tratamiento **AG+F** mostró un PMG superior al de los demás tratamientos hormonales inoculados ( $P < 0,001$ ). Este tratamiento se ubicó en la categoría inferior al de mayor PMG que fue el CTRL sin inocular.

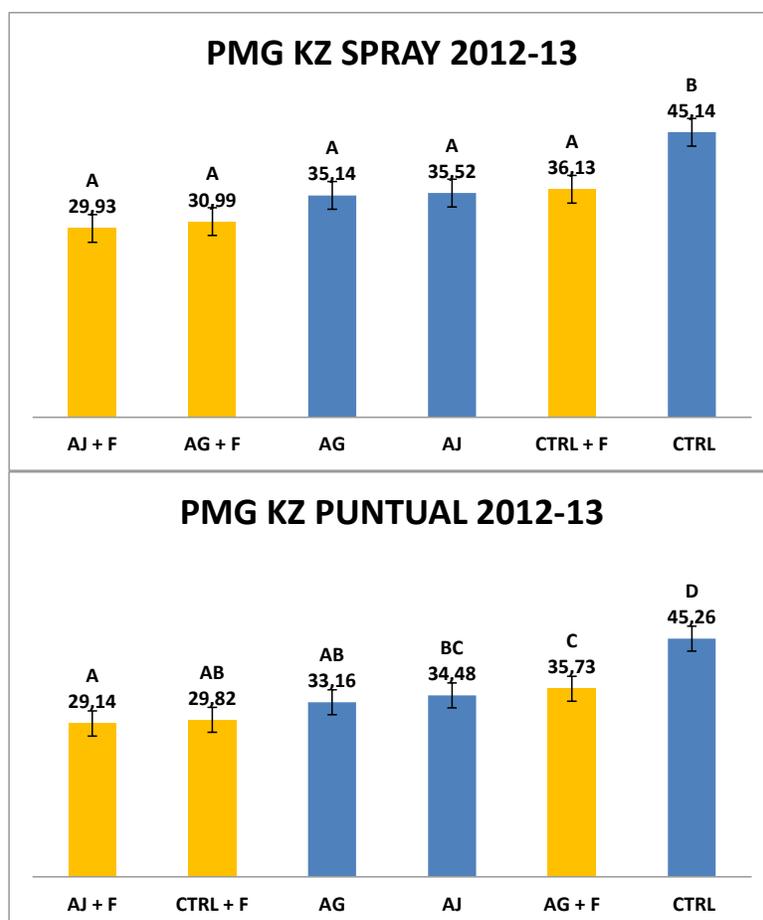


Figura 9: Comparación de medias de PMG en ambos ensayos de inoculación del genotipo comercial KZ Campaña 2012-13. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher.

#### CAMPAÑA 2013-2014:

No hubo diferencias significativas entre tratamientos hormonales en ninguno de los dos ensayos de inoculación. Sólo entre los inoculados con *F. graminearum* y los no inoculados. Sin embargo AGX1 presentó un PMG similar a los controles (no inoculados) y a los tratamientos inoculados señalando a este tratamiento hormonal como benéfico para este genotipo en el PMG.

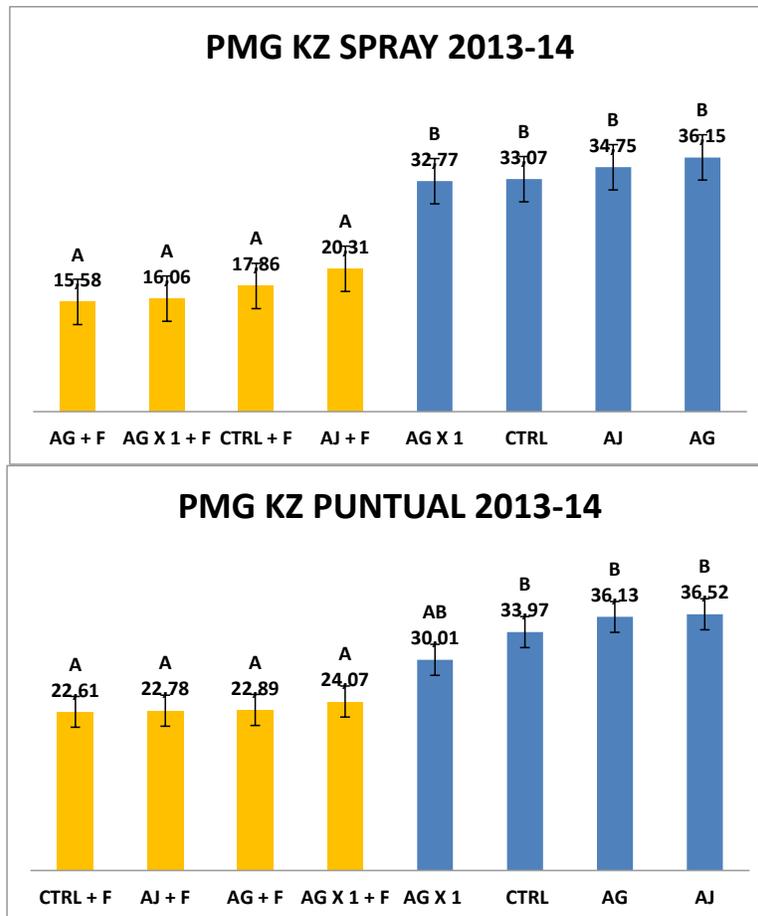


Figura 10: Comparación de medias de PMG en ambos ensayos de inoculación del genotipo comercial KZ Campaña 2013-14. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher.

## 2- GENOTIPO OXS:

### CAMPAÑA 2012-2013:

El ensayo inoculado por SPRAY presentó interacciones positivas entre los factores evaluados en el ANOVA (Tratamiento x Inoculación) y se pudieron discriminar diferencias significativas entre tratamientos por medio del método de LSD-Fisher. Sin embargo la diferenciación se vio claramente fundada en el factor INOCULACIÓN ya que fue el que dividió claramente a los PMGs de los tratamientos. Dentro de los inoculados el **AJ+F** y el **AG+F** generaron una clara disminución (28% aproximadamente) del PMG frente a la FET, siendo ésta significativamente mayor que la del tratamiento **CTRL+F** ( $P < 0,0001$ ).

En la inoculación PUNTUAL los tratamientos presentaron una tendencia parecida. No hubo ningún Tratamiento inoculado con una media de PMG equiparable a la de uno no inoculado. Dentro de los inoculados, el tratamiento **AG+F** fue el único con una media de PMG significativamente menor que el **CTRL+F** ( $P < 0,005$ ).

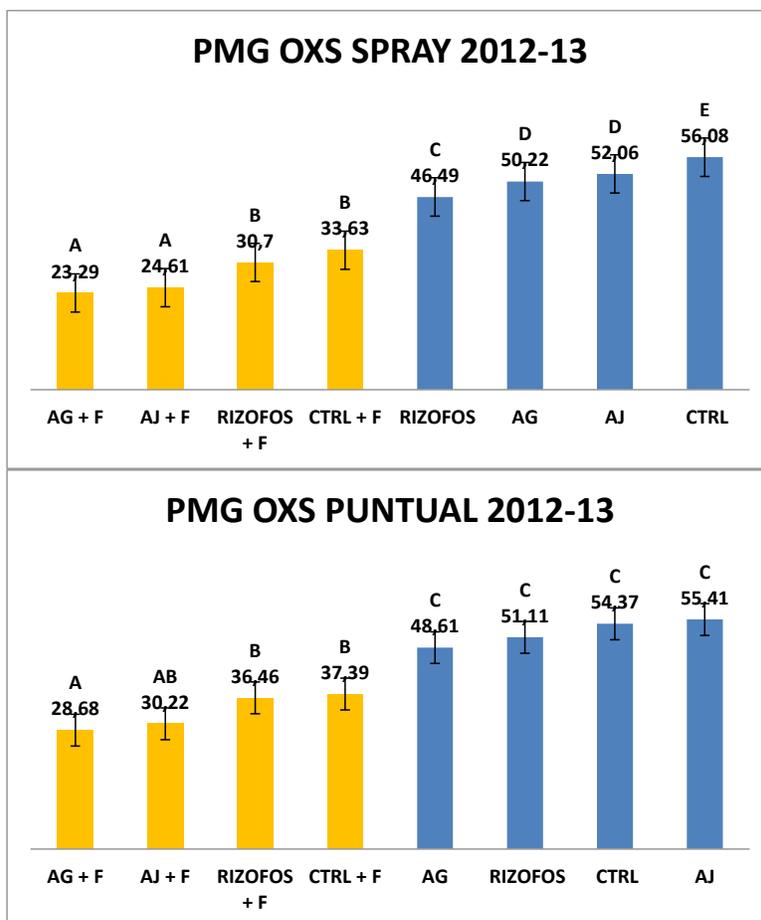


Figura 11: Comparación de medias de PMG en ambos ensayos de inoculación del genotipo Oxs Campaña 2012-13. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher.

### CAMPAÑA 2013-2014:

En el análisis de la varianza realizado sobre los valores de PMG del ensayo de inoculación por SPRAY, la interacción entre los factores analizados (Tratamiento x Inoculación) fue nula por lo que los tratamientos se diferenciaron entre inoculados y no inoculados y, dentro de estas categorías, entre tratamientos hormonales. En los inoculados ningún tratamiento mejoró la respuesta del genotipo Oxs (CTRL+F) a la FET.

En el caso de la inoculación PUNTUAL los tratamientos con **AG (AG+F y AGX1+F)** incrementaron significativamente el PMG respecto del CTRL inoculado con un 10,68% y un 17% más de peso respectivamente ( $P < 0,0029$ ). Aquí el ANOVA presentó interacción entre los factores analizados, indicando que las variaciones observadas entre tratamientos se deben al efecto conjunto de ambos factores. En los tratamientos no inoculados la aplicación hormonal redujo el PMG en la mayoría de los casos.

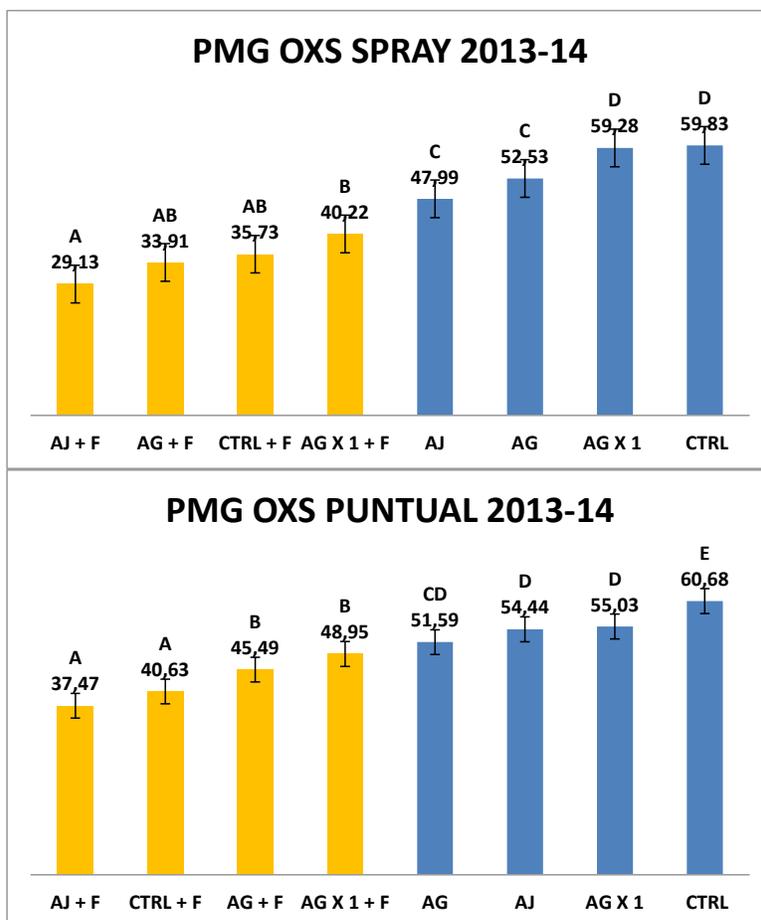


Figura 12: Comparación de medias de PMG en ambos ensayos de inoculación del genotipo OxS Campaña 2013-14. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher.

### 3- Genotipo SxR: CAMPAÑA 2012-2013:

En ambos ensayos de inoculación del genotipo SxR hubo diferencias significativas entre tratamientos e interacción positiva entre los Factores Tratamiento e Inoculación en el análisis de la varianza.

En ambos ensayos de inoculación, el tratamiento con AG produjo un incremento significativo del PMG (SPRAY:  $P < 0,0001$ ; PUNTUAL:  $P < 0,05$ ), equiparando los PMGs de estos tratamientos a los de los Tratamientos Testigos sin inoculación. En el caso de la inoculación por SPRAY el tratamiento AG+F no se diferenció de su testigo AG y superó significativamente ( $P < 0,0001$ ) al CTRL+F e incluso al testigo CTRL.

En el ensayo de inoculación PUNTUAL el tratamiento AG+F presentó un PMG semejante al de los testigos y se diferenció significativamente de todos los tratamientos inoculados. El testigo sin inocular AG presentó el PMG más elevado del ensayo.

Sin embargo el tratamiento **AG** mostró una reducción en el promedio de granos por espiga asociada a un mayor aborto de flores. Tal diferencia se observó en ambos ensayos de inoculación para el tratamiento **AG** siendo las diferencias significativas en ambos casos (SPRAY:  $P < 0,0001$ ; PUNTUAL:  $P < 0,004$ ). La disminución del número de granos promedio por espiga en el caso de **AG** en la inoculación por SPRAY alcanzó un valor cercano al 43,96% ( $P < 0,0001$ ), mientras que para la inoculación PUNTUAL la merma con **AG**, respecto del CTRL sin tratamiento hormonal, fue del

17,69% ( $P < 0,004$ ). Los efectos de los factores Tratamiento e inoculación fueron Independientes sobre la varianza de ésta variable, según los resultados del Análisis de la Varianza, por lo que se grafican las diferencias identificadas entre tratamientos (Fig. 14).

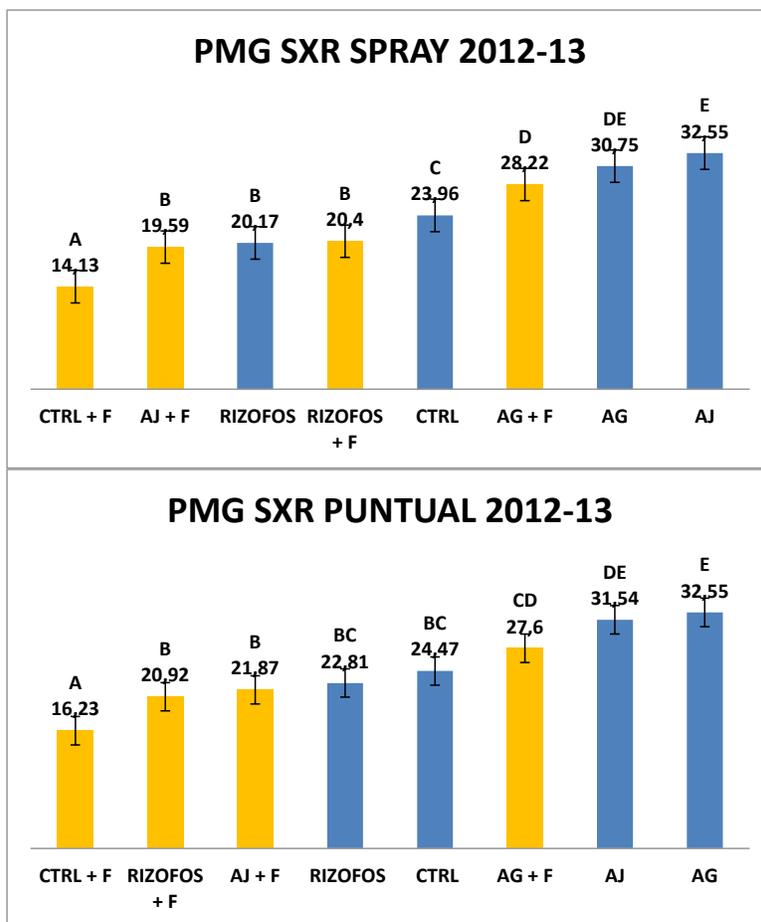


Figura 13: Comparación de medias de PMG en ambos ensayos de inoculación del genotipo SxR Campaña 2012-13. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher.

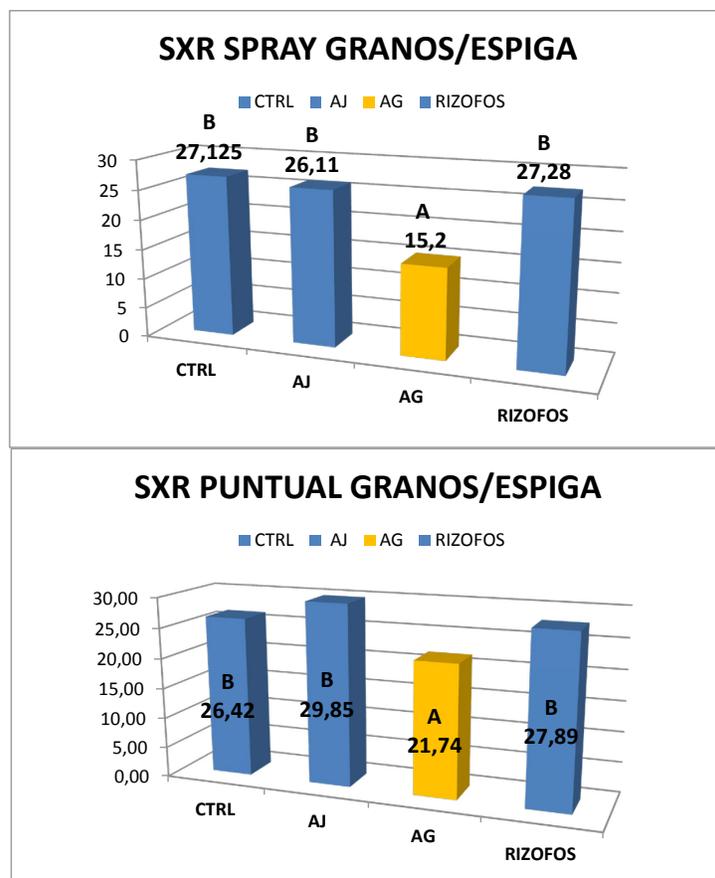


Figura 14: Comparación de medias del porcentaje de granos por espiga de los distintos tratamientos evaluados en los dos ensayos de Inoculación del genotipo SxR en la campaña 2012-13. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher.

#### CAMPAÑA 2013-2014:

En el ensayo inoculado por SPRAY, las diferencias de PMG identificadas entre tratamientos indicaron que, a diferencia del año anterior, ambos tratamientos con **AG** redujeron significativamente el PMG respecto del tratamiento CTRL+F sin inducción.

En el ensayo de inoculación PUNTUAL no se registraron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos.

Tampoco se registró en esta campaña diferencias significativas en el aborto de granos por aplicación de AG que el año anterior habían sido relevantes.

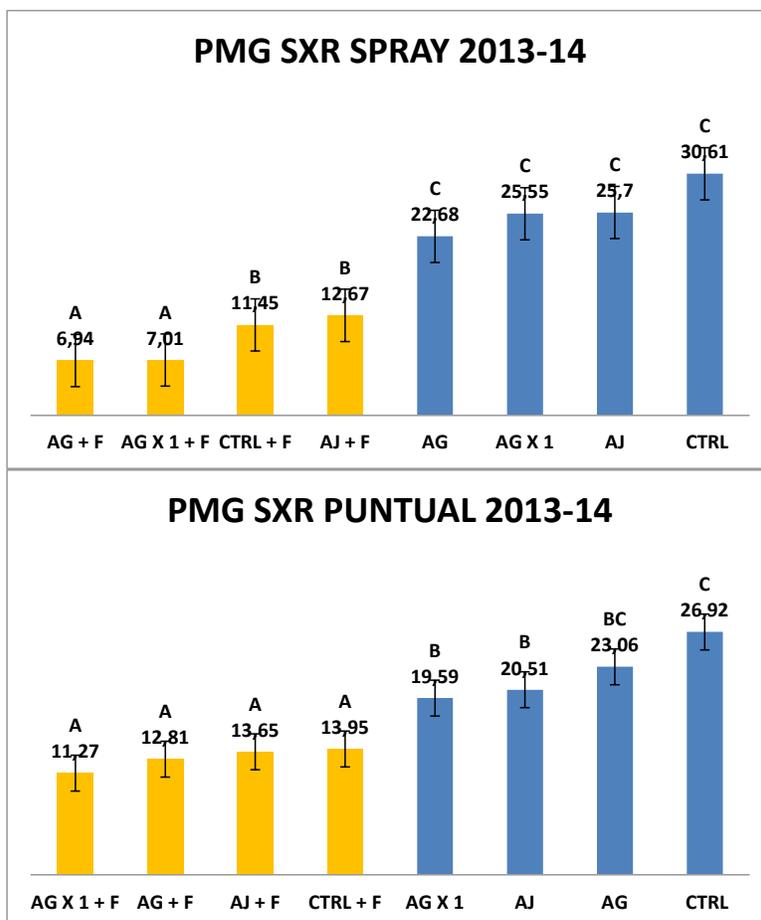


Figura 15: Comparación de medias de PMG en ambos ensayos de inoculación del genotipo SxR Campaña 2013-14. Letras diferentes representan diferencias significativas según la D.M.S determinada por el método de LSD-Fisher.

### Discusión:

Los resultados obtenidos permitieron identificar interacciones entre los genotipos y los elicitores hormonales. En ambas campañas se percibieron diferencias significativas en la respuesta a la FET, entre los tratamientos de cada genotipo, por efecto del uso de inductores. Sin embargo los resultados observados en el primer año no fueron reproducidos en el segundo. Si bien las modificaciones en la fecha de siembra y lugar de implantación (invernáculo) afectaron la reproducibilidad de los experimentos, esto reveló el carácter preponderante que tiene la incidencia ambiental en la capacidad de respuesta a la FET (Lu y col 2011; Bai y Shaner 2004) y en el efecto de la inducción hormonal.

Cada genotipo evaluado tuvo un comportamiento diferencial frente a los tratamientos hormonales el cual se hizo bastante evidente en el primer año de ensayo. Durante ésta campaña (2012-13), dentro de cada metodología de inoculación, se identificaron respuestas claras a cada elicitore en la mayoría de los tratamientos.

Durante el segundo año de ensayo (2013-14) no fueron observadas las mismas respuestas aunque pudieron identificarse tendencias semejantes en algunos tratamientos. Las diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada genotipo, fueron poco frecuentes en los tres evaluados. Hubo respuestas contradictorias en comparación a lo observado en el primer ensayo.

Pese a las diferencias entre los resultados de las dos campañas, la robustez de los resultados obtenidos en el primer año, campaña 2012-13, sugieren respuestas diferenciales consistentes entre tratamientos. Las variables evaluadas más determinantes (PMG) presentaron coeficientes de

determinación de los modelos ANOVA ( $R^2$ ) con ajustes elevados abarcando un rango de 0,7 – 0.9. Sumado a esto, las condiciones ambientales en las que fue conducido el ensayo en esta campaña fueron predisponentes para la infección. La incidencia de la FET en el primer año de ensayo fue muy elevada en condiciones naturales de cultivo, las condiciones ambientales al momento de floración generaron en la región pampeana elevados niveles de incidencia. Lo que en algunas zonas resultó en epidemias al momento de floración (Moschini y col. 2013).

## **Conclusión:**

### **Genotipo comercial KZ:**

Durante el primer año de ensayo presentó respuestas favorables a la inducción hormonal (AJ y AG) en los tratamientos inoculados puntualmente tanto en la variable GE, como en el PMG. Mientras que la inoculación por SPRAY no presentó diferencias entre tratamientos, la inoculación PUNTUAL tuvo un porcentaje de GE significativamente menor en los tratamientos con AG y AJ respecto del tratamiento control inoculado sin diferenciarse entre ellos ( $P < 0,005$ ). El tratamiento **AG+F** para la variable PMG fue consistente con lo observado en las otras variables presentando un peso significativamente superior al de los tratamientos inoculados e incluso superior al de los testigos con tratamiento hormonal ( $P < 0,0006$ ).

Estos resultados indican un incremento de la resistencia de **Tipo 2** en los tratamientos inoculados con **AG**.

### **Genotipo Oxs:**

Durante la primer campaña 2012-13 los tratamientos hormonales tuvieron un efecto significativamente negativo en las variables evaluadas en algunos de los tratamientos. El AUDPC señaló un incremento de la agresividad de la FET en ambas técnicas de inoculación para los tratamientos con AJ (SPRAY=  $P < 0,0001$ ; PUNTUAL=  $P < 0,0298$ ). El porcentaje de GE se vio incrementado un 17% en la inoculación por SPRAY ( $P < 0,0023$ ) y no mostró diferencias significativas en la PUNTUAL. Por último, el PMG de los tratamientos hormonales (AJ y AG) se vio reducido significativamente respecto del control sin inocular y del tratamiento con inductor bacteriano en ambas inoculaciones, mostrando una reducción promedio del 25% del peso (SPRAY=  $P < 0,0001$ ; PUNTUAL=  $P < 0,00479$ ).

En la campaña 2013-14, el AUDPC mostró un tendencia semejante a la del año anterior en el tratamiento con AJ inoculado de forma PUNTUAL ( $P < 0,024$ ); La variable GE no mostró diferencias significativas entre tratamientos; El PMG no presentó diferencias significativas en el ensayo de inoculación por SPRAY, pero mostró una respuesta significativa a favor del **AG** en el ensayo PUNTUAL. Los tratamientos de AG+F y AGx1+F tuvieron un PMG significativamente mayor respecto de CTRL+F. Este resultado se contrapuso a lo observado durante el año anterior en el mismo tratamiento inoculado.

La inducción hormonal en este genotipo no resultó positiva en la mayoría de los casos y condujo a un incremento significativo de la sintomatología y la severidad de la FET. Pareciera que el efecto de los inductores resulta detrimental para las respuestas defensivas del genotipo bajo ciertas condiciones ambientales.

### **Genotipo SXR:**

Durante la primera campaña de ensayo este genotipo demostró tener una interacción favorable con los tratamientos de AG. Este tratamiento incrementó la respuesta defensiva de ambos tipos mostrando significativos incrementos en la tolerancia a la FET en las variables patométricas evaluadas. La variable AUDPC durante la campaña 2012-13 indicó que el **AG+F** fue el único

tratamiento significativamente menos afectado en los **dos métodos de inoculación**, con un avance sintomático 50 % menor que el control general inoculado con *F. graminearum* ( $P < 0,0001$ ).

El nivel de GE no se correlacionó directamente con la severidad observada en AUDPC. Mientras que en la inoculación PUNTUAL ningún tratamiento se destacó, en la inoculación por SPRAY el AG redujo el número de granos enfermos un **17,5%** ( $P < 0,0277$ ). Esto sugiere que a pesar de haber mostrado una sintomatología más leve, el AG no redujo tan efectivamente la difusión del hongo en la espiga, pero sí redujo su ingreso.

Siendo el PMG la variable que denota más íntegramente el nivel de severidad, el tratamiento con **AG** en esta campaña mostró significativos incrementos en esta variable, equiparando el peso de los tratamientos de AG inoculados con el de los testigos (sin inocular) en ambos ensayos de inoculación. El PMG del tratamiento **AG+F** inoculado por SPRAY superó al tratamiento CTRL + F en un 99,7% y en el ensayo de inoculación PUNTUAL el mismo tratamiento lo hizo en un 70%. En esta variable, el nivel de ajuste al modelo del ANOVA fue mayor en el ensayo de la inoculación por SPRAY que en el de la inoculación PUNTUAL ( $R^2$  SPRAY= 0,77;  $R^2$  PUNTUAL= 0,75), sin embargo ambos ensayos tuvieron respuestas muy positivas. El ensayo de esta campaña señaló contundentemente una respuesta positiva del genotipo semi-enano a la aplicación de AG como elicitador de respuestas defensivas inducibles frente a la FET. Sin embargo el incremento de la tasa de aborto de granos fue significativo y redujo el número de granos por espiga.

Durante la campaña 2013-14 no se reprodujeron estos resultados. El AUDPC en el ensayo de inoculación PUNTUAL mostró una reducción significativa en el tratamiento de AG y de AGX1. Esto se vio reflejado en el porcentaje de GE que, también en el ensayo PUNTUAL, tuvo al tratamiento AGx1 como el significativamente menos infectado. Por último el PMG no mostró diferencias significativas entre tratamientos inoculados PUNTUALMENTE. El ensayo de inoculación por SPRAY no mostró diferencias significativas a favor de ningún tratamiento hormonal.

Estos resultados alientan la hipótesis de que la aplicación exógena de Ácido Giberélico podría alterar las vías de señalización vinculadas a la defensa de la planta incrementando la tolerancia al patógeno bajo determinadas condiciones ambientales. Repercutiendo tanto sobre la resistencia de Tipo 1 como la de Tipo 2. Sin embargo, la influencia ambiental resulta el factor preponderante sobre el nivel de respuesta a estos tratamientos y consecuentemente sobre su interacción con la respuesta a la FET.

Las respuestas a estos tratamientos inductores deberán ser probadas en un nuevo año para poder extraer el efecto del ambiente y poder discriminar más precisamente, a través de la comparación de estas mismas variables patométricas, la implicancia del genotipo frente a las aplicaciones hormonales en situación de inoculación.

## Bibliografía:

- Azcón – Bieto J, Talón M, 2000. En: Fundamentos de Fisiología Vegetal, Mc Graw-Hill. Interamericana de España, Madrid.
- Bai G.H, Shaner G.E, 1994. Wheat scab: perspective and control. *Plant Dis.* 78: 760–66
- Bai G.H, Shaner G.E, 1996. Variation in *Fusarium graminearum* and cultivar resistance to wheat scab. *Plant Disease* 80:975-979.
- Bai G.H, Shaner G.E, Kolb F.L, Domier L.L, 1999. Amplified fragment length polymorphism markers linked to a major quantitative trait locus controlling scab resistance in wheat. *Phytopathology* 89:343–348.
- Bai G.H, Shaner G.E, 2004. Management and Resistance in wheat and barley to fusarium head blight. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2004.42:135-161.
- Ban T, 2000. Review-study on the genetics of resistance to *Fusarium* head blight caused by *Fusarium graminearum* in wheat. *Proc. Int. Symp. Wheat Improv. Scab Resist. Suzhou y Nanjing, China*, pp. 82–93. Manhattan: Kansas State Univ. Press.
- Boller T, Felix G, 2009. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *PubMed - indexed for MEDLINE PMID: 19400727.*
- Buerstmayr H., Ban T., Anderson J.A.. 2009. Review QTL mapping and marker-assisted selection for *Fusarium* head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breeding*, 128: 1–26.
- Carrasco N, Báez A, Belmonte M.L, 2005. Trigo: Manual de campo, Publicaciones INTA. Publicación virtual. 82 pp.
- Cipollini D.F, Mbagwu J, Barto K, 2005. Expression of Constitutive and Inducible Chemical Defenses in Native and Invasive Populations of *Alliaria petiolata*. *Journal of Chemical Ecology* 6: 1255-1267.
- Ding L, Xu H, Yi H, Yang L, Kong Z, Zhang L, Xue S, Jia H, Ma Z, 2011. Resistance to Hemi-Biotrophic *F. graminearum* Infection Is Associated with Coordinated and Ordered Expression of Diverse Defense Signaling Pathways. *PLUS ONE* 6(4): e19008. doi:10.1371/journal.pone.0019008.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Dormann M, Oettler G, 1990. Effect of parental genotype on resistance to *Fusarium* spp. in primary triticale. CIMMYT. Proceedings of the Second International Triticale Symposium, Mexico, D.F., CIMMYT 225-8.
- FAO, 2003. Estudio FAO: Alimentación y nutrición. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. Servicio de Calidad de los Alimentos y Normas Alimentarias (ESNS), Roma, Italia. 60 pp.
- Galich A y de Galich M.T.V, 1996. Enfermedades del trigo en el área central norte de la región cerealera argentina (1982-1994). Inf. Técnico N°121. EEA Marcos Juárez. INTA. Córdoba, Argentina.
- Grant M, Lamb C, 2006. Systemic immunity. *Current Opinion in Plant Biology* 9: 414–420.
- Heil M, Bostock R.M, 2002. Botanical Briefing: Induced Systemic Resistance (ISR) Against Pathogens in the context of induced Plant Defences. *Annals of Botany* 89: 503-512.
- Ilgen, P., Hadel, B., Maier, F. J., & Schäfer, W. (2009). Developing kernel and rachis node induce the trichothecene pathway of *Fusarium graminearum* during wheat head infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 22(8), 899–908. doi:10.1094/MPMI-22-8-0899
- Jones R.K, 2000. Assessments of *Fusarium* head blight of wheat and barley in response to fungicide treatment. *Plant Disease*. 84:1021–1030.
- Lori G.A, Carranza M, Violante A, Rizzo I, Alippi H, 1992. *Fusarium* spp. En trigo, capacidad toxicogénica y quimiotaenonomia de las cepas aisladas en Argentina. *Agronomie* 12: 459-467
- Lori G.A, Sisterna M, Haidukowski M, Rizzo I, 2003. *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol contamination in the durum wheat area of Argentina. *Microbiol. Res.* 158: 29-35.
- Lu W.Z, Chen S.H, Wang Y.Z, eds. 2001. Research on Wheat Scab. Beijing, China: Sci. Publ. House.
- Lu, Q., Szabo-Hever, A., Bjørnstad, Å., Lillemo, M., Semagn, K., Mesterhazy, A., Skinnes, H. (2011). Two Major Resistance Quantitative Trait Loci are Required to Counteract the Increased Susceptibility to *Fusarium* Head Blight of the Dwarfing Gene in Wheat. *Crop Science*, 51(6), 2430. doi:10.2135/cropsci2010.12.0671.
- Luqui, Gómez, 1995. Evaluación de la incidencia de porcentaje de granos dañados por *Fusarium* en el nivel de toxinas DON y T2 en trigo pan durante la campaña 1993/1994. IASCAV. S.A.G. y P. Buenos Aires, Argentina.
- Malbrán, I., Mourellos, C. a., Girotti, J. R., Alicino, M. B., Balatti, P. a., & Lori, G. a. (2012). Aggressiveness variation of *Fusarium graminearum* isolates from Argentina following point inoculation of field grown wheat spikes. *Crop Protection*, 42, 234–243. doi:10.1016/j.cropro.2012.05.025.
- Martin, R.A. Johnson, H.W. 1982. Effects and control of *Fusarium* diseases of cereal grains in the Atlantic Provinces. *Canadian Journal of Plant Pathology* 4, 210-6,
- Mesterhazy A, 1983, Breeding wheat for resistance to *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*. *Plant Breeding*, 295-311.
- Mesterhazy A, 2003. Control of *Fusarium* head blight of wheat by fungicides. In: *Fusarium Head Blight of Wheat and Barley*. K. J. Leonard and W. R. Bushnell, eds. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN. Pages 363-380.
- Miller J.D, Young J.C, Sampson D.R, 1985. Deoxynivalenol and *Fusarium* head blight resistance in spring cereals. *Phytopathology*. Z. 113:359–367.
- Moschini R.C., Martínez M.I., Cazenave G., 2013. Estimación de la distribución espacial de la incidencia de la FET en la región pampeana para la campaña 2012/13. Instituto de Clima y Agua CIRN INTA Castelar Disponible en: <http://inta.gov.ar/documentos/estimacion-de-la-distribucion-espacial-de-la-incidencia-de-la-fet-en-la-region-pampeana-para-la-campana-2012-13>

- Mourellos, C.A, Malbrán I, Balatti P.A, Ghiringhelli P.D, Lori G.A, 2011. Fusariosis de la espiga de Trigo: Monitoreo de malezas como fuente de inóculo y detección de Fusarium graminearum. Congreso; 2do Congreso Argentino de Fitopatología - Asociación Argentina de Fitopatólogos. Mar del Plata, 2011.
- Navarro, L., Bari, R., Achard, P., Lisón, P., Nemri, A., Harberd, N. P., & Jones, J. D. G. (2008). DELLAs control plant immune responses by modulating the balance of jasmonic acid and salicylic acid signaling. *Current biology*: CB, 18(9), 650–5. doi:10.1016/j.cub.2008.03.060.
- Parry, D.W., Jenkinson, P., Mcleod, L. (1995). Fusarium ear blight (Scab) in small grain cereals a review. *Plant Pathology*, 44, 207–238.
- Pearce, S., Saville, R., Vaughan, S. P., Chandler, P. M., Wilhelm, E. P., Sparks, C. a, Thomas, S. G. (2011). Molecular characterization of Rht-1 dwarfing genes in hexaploid wheat. *Plant Physiology*, 157(4), 1820–31. doi:10.1104/pp.111.183657.
- Pritsch C, Muehlbauer GJ, Bushnell WR, Somers DA, Vance CP. 2000. Fungal development and induction of defense response genes during early infection of wheat spikes by Fusarium graminearum. *Molecular Plant–Microbe Interactions* 13, 159–169.
- Rizzo I, Lori G.A, Vedoya G, Carranza M. et al. 1997. Sanitary factor san mycotoxin contamination in the argentinian wheat crop 1993/94. *Mycotoxin Research* 13:67-72.
- Santner, A., Calderon-Villalobos, L. I. a, & Estelle, M. (2009). Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nature Chemical Biology*, 5(5), 301–7. doi:10.1038/nchembio.165
- Saville, R. J., Gosman, N., Burt, C. J., Makepeace, J., Steed, A., Corbitt, M., Nicholson, P. (2012). The “Green Revolution” dwarfing genes play a role in disease resistance in Triticum aestivum and Hordeum vulgare. *Journal of experimental botany*, 63(3), 1271–83. doi:10.1093/jxb/err350.
- Saville, R. J. (2011). Understanding DELLA in Wheat Linking Genotype to Phenotype, (January 2011). Tesis doctoral.
- Shaner G.E, Buechley G, 2001. New sources of resistance to Fusarium head blight of wheat. 2001 National Fusarium Head Blight Forum Proc. Elanger, KY, p. 203. East Lansing: MI State Univ. Press.
- Schroeder H.W, Christensen J.J. 1963. Factors affecting resistance of wheat scab caused by Gibberella zeae. *Phytopathology* 53:831-838.
- Srinivasachary, Gosman, N., Steed, a, Simmonds, J., Leverington-Waite, M., Wang, Y., Nicholson, P. (2008). Susceptibility to Fusarium head blight is associated with the Rht-D1b semi-dwarfing allele in wheat. *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik*, 116(8), 1145–53. doi:10.1007/s00122-008-0742-2
- Srinivasachary, Gosman, N., Steed, a, Hollins, T. W., Bayles, R., Jennings, P., & Nicholson, P. (2009). Semi-dwarfing Rht-B1 and Rht-D1 loci of wheat differ significantly in their influence on resistance to Fusarium head blight. *TAG. Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik*, 118(4), 695–702. doi:10.1007/s00122-008-0930-0
- Vallad GE, Goodman RM, 2004. Systemic Acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop* 44: 1920-1934.
- Van Loon L.C, Bakker P.A.H. M y Pieterse C.M.J. Systemic Resistance Induced by rhizosphere Bacteria. *Annual review Phytopathology*. 1998.36:453-483.
- Wang Y.Z, Miller J.D, 1988. Screening techniques and sources of resistance to Fusarium head blight. En: Klatt AR, ed. *Wheat Production Constraints in Tropical Environments*. Lisboa, México: CIMMYT, 239-250.
- Yang, D., Yao, J., Mei, C., Tong, X., Zeng, L., Li, Q., & Xiao, L. 2012. Plant hormone jasmonate prioritizes defense over growth by interfering with gibberellin signaling cascade. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(19), E1192–E1200. doi:10.1073/pnas.1201616109/-/DCSupplemental.www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1201616109.