



Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA



Informe final: Aislamiento y caracterización de *Rhizoctonia solani*

(Abril 2013)

Personal Interviniente

Ernesto Franco

Silvina López

Rocio Medina

Dirección Pedro Balatti

Materiales y métodos

Objetivos aislar e identificar los patógenos aislados a partir de plantas con síntomas típicos de Rhizoctonia y en el caso de encontrar aislamientos de Rhizoctonia identificar el grupo de anastomosis

Aislamiento y caracterización.

Se trabajo con 47 muestras de material vegetal procedente de diferentes lotes de cultivos de maíz y soja. Desde las muestras de material vegetal recibidas se seccionaron, en las plantas con síntomas típicos de la enfermedad, trozos de tejido vegetal de aproximadamente 5 mm. Estos se esteriolizaron superficialmente empleando hipoclorito de sodio al 1% durante 1 min y etanol al 50% durante 30 segundos, seguido de lavados de 1 min con agua destilada estéril y posteriormente secados en flujo laminar.

Los trozos de se depositaron utilizando pinzas estériles en cajas de petri conteniendo medio selectivo para el aislamientos de Rhizoctonia. El medio contiene: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,01 g/L), NaNO_2 (0,2 g/L), KCl (0,5 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 g/L), K_2HPO_4 (1 g/L) y agar (16 g/L); suplementado con ácido gálico (0,4 g en 2,5 ml de etanol al 95%), cloranfenicol (0,05 g/L), sulfato de estreptomycin (0,05 g/L) y Fosetil-aluminio/Aliette (0,313 g/L). Las placas de incubaron en estufa a 25 °C hasta el desarrollo de hifas típicas del hongo emergiendo del material vegetal que fueron transferidas a medio de cultivo fresco y sub-cultivadas.

Se realizaron la observaciones microscópicas de los cultivos obtenidos a partir de preparados teñidos con azul de Lacto fenol. Los aislamientos con morfología microscópicas similar a la descrita para *Rhizoctonia solani* fueron trasferidos a medio de cultivo Agar-Papa Glucosado (APG) para observar el desarrollo macroscópico en un medio sin presión de selección.

Identificación molecular

La extracción de ADN se llevo a cabo empleando el kit Wizard Genomic DNA Purification - PROMEGA a partir de cultivos puros desarrollados en placas con medio de cultivo APG. Cien mg de micelio se congelaron en Nitrógeno líquido, y se molieron en un mortero estéril hasta obtener un polvo homogéneo. Cuarenta mg del mismo, se pasaron a un tubo eppendorf estéril, se le adicionó la solución de lisis nuclear, y se mezcló en vortex durante 1-3 segundos y se incubó 15 minutos a 65 °C. Luego, se adicionó 3 μl RNasa (10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) y se incubó a 37°C durante 15 minutos. Después se adicionaron

200 µl de Solución de Precipitación Proteínas y se mezcló 20 segundos en vortex. Luego de centrifugar 3 minutos a 13.000-16.000 g, se transfirió el sobrenadante a un tubo 1,5 ml. Con el fin de precipitar el ADN se adicionó isopropanol al 10%; se mezcló y luego se centrifugó a 13.000-16.000 g. Se descartó el sobrenadante y el pellet se lavó con 600 µl de etanol 70% y se secó durante 15 minutos. El ADN se disolvió en un volumen de 100 µl de Solución de Rehidratación a 65°C durante 1 hora.

El ADN se cuantificó en base a la comparación de la intensidad de la banda del ADN genómico con las bandas del marcador molecular control (Genoma del fago Lamba digerido con Hind III -Promega Biotech), que se resolvieron por electroforesis en un gel de agarosa 0.7% P/V suplementado con bromuro de etidio, observándose las bandas en un transiluminador de UV) (Sambrook 1989). Los geles se documentaron utilizando el analizador de imágenes SYNGENE y el software GENETOOLS.

Amplificación de la región ITS (Internal Transcribed Spacer)

La amplificación se realizó utilizando los cebadores ITS4 e ITS5 y en base a un programa que consistió en un ciclo de desnaturalización inicial a 94°C por 4 minutos; 33 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 1 minuto, 45 segundos a 56°C y 1 minuto a 72°C y por último una elongación final de 5 minutos a 72 °C (Curtis 1994; Goodwin 2001).

La mezcla de reacción contuvo: Buffer de reacción 1X (500 mM KCl; 100 mM Tris-HCl, pH 9.0 a 25°C; 1% Triton X-100 (sin magnesio)), 1,5 mM cloruro de magnesio, 0,2mM de cada dNTP, 0,3 µM de cada primer, 1 unidad de T- *Plus* DNA polimerasa (Highway Molecular Biology-INBIO-UNICEN) y 50 nanogramos de ADN molde por reacción, en un volumen final de 15 µl.

Los fragmentos amplificados se purificaron de acuerdo al protocolo propuesto por Glenn, T (PEG Precipitation of PCR product), que sintéticamente consistió en adicionar 50 µl de una solución de PEG (Polietilenglicol) al 20% - NaCl 4 M a la mezcla de reacción conteniendo el producto a secuenciar, e incubar a 0°C durante 1 hora. Luego las muestras se centrifugaron a 15.000g durante 15 minutos. El pellet de ADN obtenido, se lavó con etanol 70%, se secó y se disolvió en TE o agua bidestilada estéril. El ADN amplificado por PCR se secuenció en base al método descrito por Sanger y colaboradores (1977) de la terminación de cadenas con análogos de nucleótidos, en MacroGen Inc. Seúl, Korea). El

secuenciador automático BigDye™ se basa en la detección de la fluorescencia, permitiendo la lectura de hasta 1000 bases en una única reacción.

Las 16 secuencias de ITS obtenidas se analizaron con la herramienta de búsqueda de alineamientos locales de secuencias nucleotídicas (*nucleotide basic local alignment tool*, BLAST www.ncbi.nlm.nih.gov) mediante comparación con secuencias depositadas en la base de datos Nucleotide collection (nr/nt).

Solo se procedió a amplificar y secuenciar el ITS de los aislamientos cuyas características morfológicas sugerían que podía tratarse de *Rhizoctonia*. El resto de los aislamientos presentaron morfologías típicas que permitieron identificarlos tal cual se describe en la tabla mas abajo.

Tabla de resumen por lote evaluado

(Con * se indica los aislados identificados por secuenciación del ITS)

Lote	Muestra	Antecesor	Descripción	Recepción	Identificación
1	Maíz	S/D	Velleria	30/11	<i>Fusarium sp.*</i>
2	Maíz	S/D	Gambo	30/11	<i>Fusarium oxysporum*</i>
3	Maíz	S/D	Taormina	30/11	<i>Fusarium sp.*</i>
4	Maíz	S/D	El Poncho	30/11	---
5	Maíz	S/D	Peter	30/11	<i>Fusarium oxysporum*</i>
6	Maíz	S/D	Agustina	30/11	<i>Fusarium oxysporum*</i>
Cámara	Soja	S/D	Prov. de Entre Rios, dpto de Villaguay, localidad Lucas Norte, coordenadas son S31°21.455' W58°47.427'	06/12	<i>Fusarium solani*</i>
7	Soja	S/D	San Agustín Agrar	28/12	<i>Fusarium</i>
8	Soja	S/D	Canal 9. Joanstone	27/12	<i>Fusarium</i>
9	Soja	S/D	La Nani. Balcarse	27/12	<i>Fusarium</i>
10	Soja	S/D	San Eduardo.	27/12	<i>Fusarium</i>
11	Maíz	Soja	Junin. Bongiornoi Nicolas. Venado tuerto. Pcia Santa fe.	03/01	<i>Fusarium</i>
12	Soja	S/D	S/D	24/01	<i>Fusarium</i>
13	Soja	Trigo	Variedad: NK-34 (soja) plot: 1016 (530) Lote 1. Estación experimental santa Isabel.	24/01	<i>Fusarium</i>
14	Soja	Trigo	Variedad: S44-D5 (soja) plot 3025 (540). Lote 1. Estación experimental santa Isabel.	24/01	<i>Fusarium</i>
15	Soja	Trigo	Chacabuco. Km escuela palomar.	24/01	<i>Fusarium</i>
16	Soja	Trigo	Chacabuco. Km 119300 capillita blanca	24/01	<i>Rhizoctonia solani*</i> (3 aislados de las muestras pertenecientes a este lote)
17	Soja	Trigo	Fontezuela. Km 212. Ruta 8	24/01	<i>Fusarium</i>
18	Soja	Trigo	Carabelas. Ruta 31. Tranquera blanca	24/01	<i>Fusarium</i>
19	Soja	S/D	Hughes curva. Ruta 8. Soja convencional.	24/01	<i>Fusarium</i>
20	Soja	Trigo	Capilla sarmiento. Km 141800. Ruta8. Trébol	24/01	<i>Fusarium</i>

			polo club.		
21	Soja	Trigo	Santa Isabel. Lote 1ra curva entrada.	24/01	<i>Fusarium</i>
22	Soja	Maíz	Arrecifes. Km 169100. Ruta8.	24/01	<i>Fusarium</i>
23	Soja	Trigo	Rojas. Pasando dekalb. Ruta 31	24/01	<i>Fusarium</i>
24	Soja	Trigo	San Antonio de Areco. Km 127. Ruta 8	24/01	<i>Fusarium</i>
25	Soja	Trigo	Suipacha. Ruta 5. Km 133	24/01	<i>Fusarium</i>
26	Soja	Trigo	Mercedes. Ruta 5. Km 111.	24/01	<i>Fusarium</i>
27	Soja	Trigo	Camet. El jaguel.	29/01	<i>Fusarium</i>
28	Soja	Trigo	Camet. Lote de curva.	29/01	<i>Fusarium</i>
29	Soja	S/D	Pcia Santa Fe. Santa Isabel. Campo: dos hermanas. 21/1/13		<i>Fusarium</i>
30	Soja	Trigo	Pcia Santa Fe. Santa Isabel	29/01	<i>Fusarium</i>
31	Soja	Sorgo granífero	Pcia Entre Rios. Lucas Sur 2da. Familia Meichtry. 15/1/ 2013	29/01	<i>Fusarium</i>
32	Soja	Trigo	Pcia santa fe. Santa Isabel 22/01.	29/01	<i>Fusarium</i>
33	Soja	Soja	Manuel Ocampo 24/01. Alejo Costa	30/01	<i>Fusarium</i>
34	Soja	Soja	Basualdo. 24/01. Alejo Costa	30/01	<i>Fusarium</i>
35	Soja	Soja	Pavon arriba. 24/01. Alejo Costa.	30/01	<i>Fusarium</i>
36	Maíz	Soja	Productor: Ricardo Herrmann, localidad: Carreras, Sta Fé. Cultivo de maíz demasiado avanzado, no se observaban síntomas y fue difícil tomar muestra.	08/02	<i>Fusarium</i>
37	Soja	Cebada	Productor: Carlos Longinotti, localidad: Morse, Bs As.	08/02	<i>Fusarium</i>
38	Maíz	Soja 1°	Productor: Carlos Longinotti, Localidad: Morse, Bs As.	08/02	<i>Fusarium</i>
39	Soja 2°	Cebada	Productor: Santa Isabel Site, Syngenta Agro SA. Santa Fe. Lote 36 a 39 fueron enviados por Nicolas Bongiorno – Syngenta R y D.	08/02	<i>Fusarium</i>
40	Soja	Soja	A. Roca		<i>Fusarium</i> y <i>Trichoderma gamsii</i> *
41	Soja	Maíz	La Agraria		<i>Fusarium</i>
42	Soja	Soja	La Agraria		<i>Fusarium</i>

43	Soja	Trigo-Soja	Agustina		<i>Fusarium</i> y <i>Rhizoctonia bataticola</i> *
44	Soja	Trigo	Agustina		<i>Fusarium</i>
45	Soja	Avena	Morse. Los lotes de 40-45 fueron enviados el 13 de febrero de 2013 por Adrian Bonfiglio Syngenta Agro.		<i>Fusarium</i>
46	Maíz		Crea San Jorge – Las Rosas. Est. La Patria. Bustinzo – Santa Fé	11/02/2013	<i>Rhizoctonia bataticola</i> * y <i>Fusarium</i>
47	Maíz		Crea San Jorge - Las Rosas. Est. Las Maguolias Las Parejas - Santa Fé	11/02/2013	<i>Fusarium</i> y <i>Stenocarpella maydis</i> *
Rhizoc			Pergamino	18//12	<i>Phomopsis longicolla</i> *
Rhizoc-Soja	Soja		Pergamino. Picos de flauta	18/12	<i>Phomopsis longicolla</i> *
Rhizoc-Sorgo	Sorgo		Pergamino. Placa de petri con hongo y con pedazos de material vegetal. Rte Ivancovich Antonio. Fitopatología – INTA pergamino. Ruta 32, km 4,5. 30/1/2013	18/12	<i>Trichoderma</i> *

Aislados que fueron evaluados por amplificación y secuenciación de ITS

(Las imágenes que se presentan a continuación corresponden a los aislados obtenidos en el laboratorio desde las muestras recibidas. Todos en medio de cultivo APG.)

- ♣ Lote 47 OM (ADN), muestra de cultivo de maíz

Secuenciación de ITS: *Stenocarpella maydis* (cobertura de 91%, identidad del 99%)



Plaga (nombre vulgar): Podredumbre basal del tallo

Tipo de plaga: Hongo

Hospederos: Maíz

Características Biológicas:

Taxonomía: Dominio: Eukaryota, Reino: Fungi, Phylum: Anamorphic fungi, *Stenocarpella maydis* Sutton (Sin.: *Diplodia maydis* Sacc.)

Descripción: Este agente etiológico, del cual no se le conoce forma sexual. Es el causante del vuelco del maíz.

Síntomas: Sólo ataca la base del tallo y puede producir la podredumbre seca de la espiga. Los síntomas aparecen antes de espigazón, las plantas mueren rápidamente y toman un aspecto semejante a daño por helada, las hojas se marchitan y toman un color verde grisáceo. Los internodos inferiores se ponen marrones y fácilmente quebradizos. La médula se desintegra y pierde color permaneciendo sólo intactos los haces vasculares.

Signo: Presencia subepidérmica de picnidios marrón oscuros a negros agrupados cerca de los nudos. Puede observarse micelio blanco en la superficie. El patógeno pasa el invierno en residuos, y cuando el inóculo es llevado por la semilla produce el tizón de la plántula.

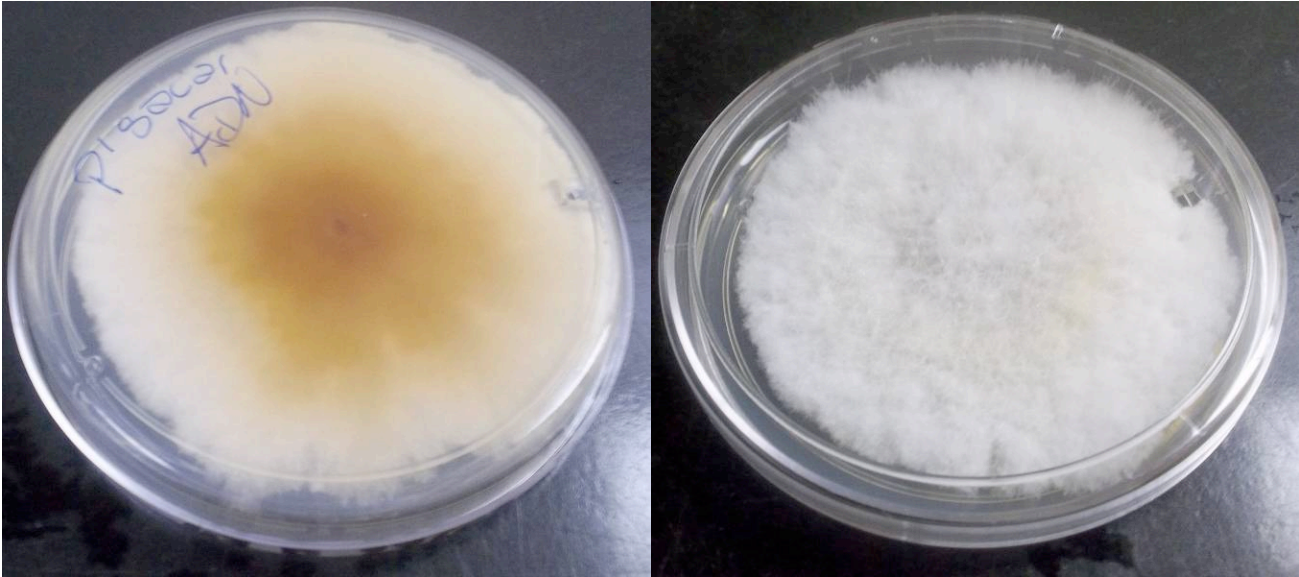
Condiciones predisponentes:

Las condiciones de sequía, a principios de la estación y el clima caluroso y húmedo después de la espigazón favorecen el desarrollo de la podredumbre del tallo por *Diplodia*. También favorecen la enfermedad altos contenidos de nitrógeno en el suelo y bajo contenido de potasio, gran densidad de plantas, pérdida de área foliar, daño por insectos o granizo.

♣ Lote 47 D (ADN), muestras de cultivo de maíz

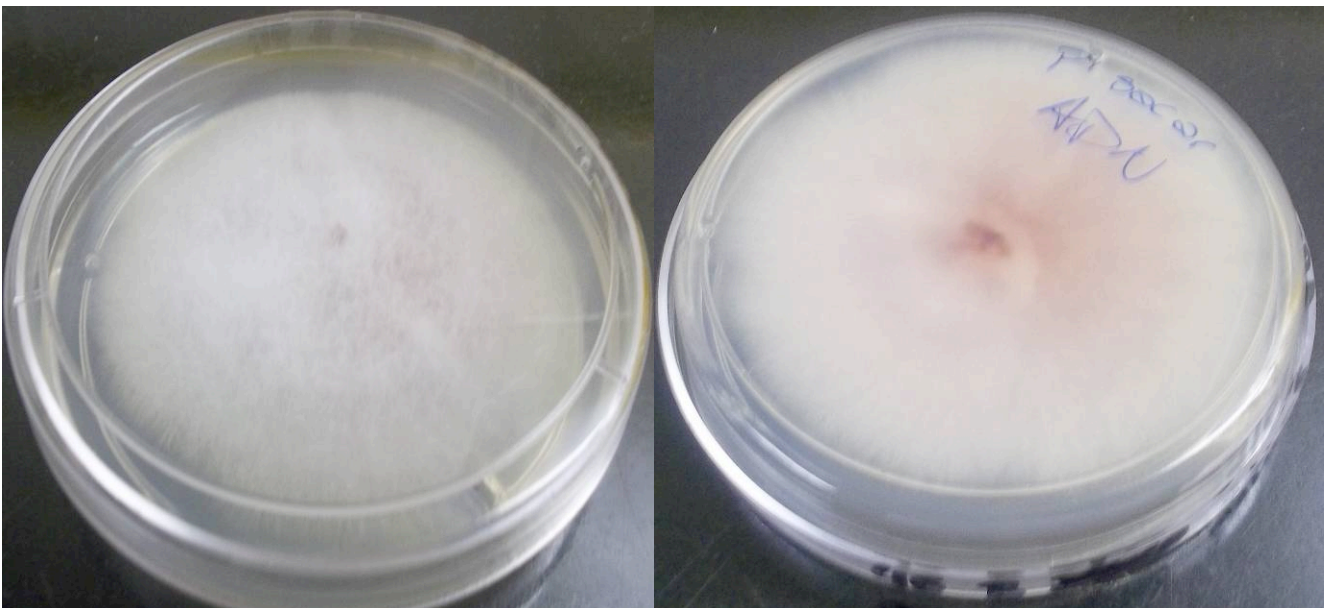
Secuenciación de ITS: *Fusarium* sp. (*chlamyosporum*, *equiseti*, *incarnatum*)

(Cobertura de 46%, identidad del 99%)



♣ Lote 46 B (ADN), muestra de cultivo de maíz

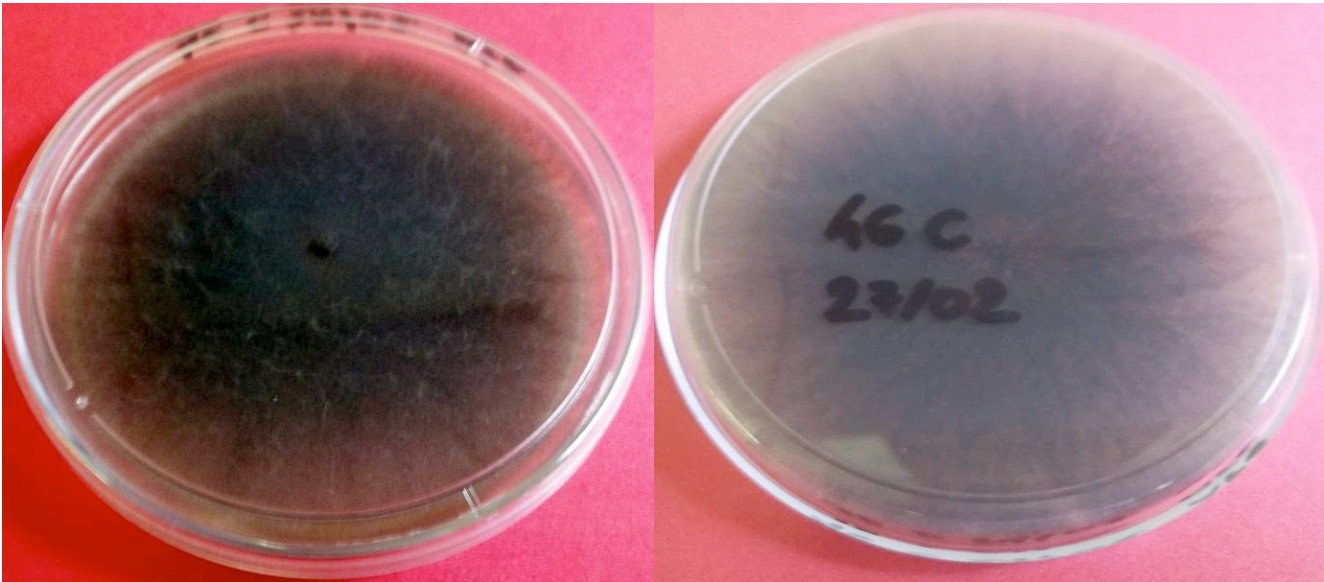
Secuenciación de ITS: *Fusarium oxysporum*



♣ Lote 46 C (ADN), muestra de cultivo de maíz

Secuenciación de ITS: *Rhizoctonia bataticola* y *Macrophomina phaseolina* (cobertura de 44%, identidad del 99%).

También se aisló en el lote 43B (muestra de cultivo de soja).



Plaga (nombre vulgar): Podredumbre carbonosa del tallo

Tipo de plaga: Hongo

Hospederos: Girasol, Maíz, Soja, Sorgo

Características Biológicas:

Taxonomía: Dominio: Eukaryota, Reino: Fungi, Phylum: Anamorphic fungi.

Descripción: Este hongo forma microesclerocios pequeños, globosos, de color negro. Estos cuerpos son muy numerosos, otorgándole a los tejidos un color negro-grisáceo. Los esclerocios constituyen el principal medio de supervivencia del hongo.

Síntomas y signos: Se pueden observar síntomas de la enfermedad en todas las etapas del cultivo. La semilla infectada puede mostrar manchas negras de tamaño diverso en las rajaduras o sobre el tegumento. Las semillas infectadas usualmente originan plántulas débiles que mueren a los pocos días.

Las plántulas infectadas suelen mostrar una decoloración marrón rojiza en la porción emergente del hipocótilo. El área decolorada se torna marrón oscura o negra y las plántulas afectadas pueden morir bajo condiciones ambientales cálidas y secas.

Infecciones posteriores al estado de plántula suelen provocar síntomas no visibles hasta mediados del ciclo del cultivo. Las plantas inicialmente muestran síntomas no específicos, tales como menor tamaño de hojas, menor altura y otros relacionados a pérdida de vigor.

A partir de floración aparecen los síntomas más característicos de la enfermedad. En los tejidos epidérmicos y subepidérmicos de las raíces y parte inferior del tallo se aprecia una coloración grisácea, provocada por la presencia de numerosos microesclerocios oscuros.

Estos pequeños esclerocios no aparecen en cantidad hasta que las plantas comienzan a morir, sugiriendo que su presencia implica la muerte de las células de los tejidos invadidos.

Daños específicos: En el cultivo de **Girasol** se manifiesta una madurez prematura, decoloración y desecamiento brusco de los tallos con capítulos pequeños y pobres, y en algunos casos, vuelco de las plantas. Afecta el tercio inferior del tallo con destrucción de la médula y formación de "enriado" característico de los haces vasculares; sobre éstos se destacan puntos negros brillantes, correspondientes a los esclerocios o cuerpos de sobrevivencia del hongo. El signo característico es la presencia de microesclerocios de color oscuro en los tejidos subepidérmicos de la raíz. Su presencia abarca toda la zona girasolera.

Dentro del lote, aparecen manchones de plantas que se secan en forma anticipada. El secado anticipado provoca una disminución del peso de los aquenios y una reducción del porcentaje de aceite y, en menor medida, vuelco. La fuente primaria de inóculo se encuentra en el suelo, como esclerocios, que germinan al ser estimulados por los exudados de las raíces.

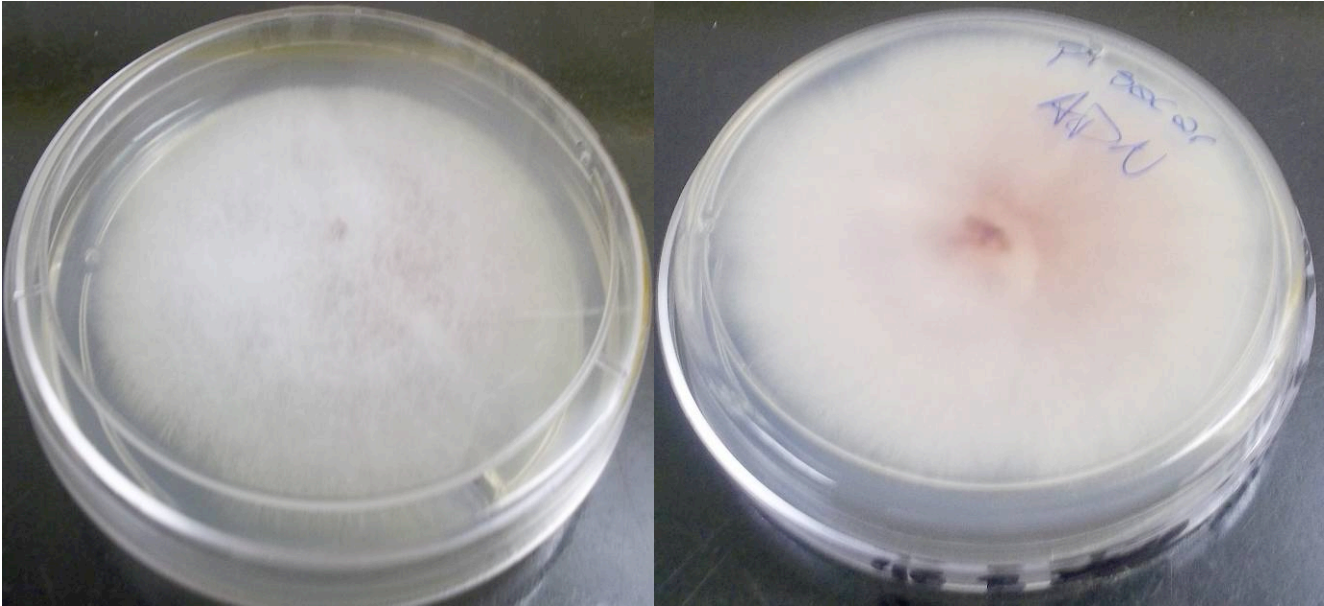
Condiciones predisponentes:

En General el desarrollo de la enfermedad se ve favorecido por temperaturas altas (28 a 35 °C) y baja humedad edáfica.

En el cultivo de **Girasol**, la muerte prematura, se ve favorecida por condiciones de estrés lumínico por acumulación de días nublados en el período que va desde floración a madurez, siembras tardías, altas densidades de siembra, estrés por exceso o déficit hídrico (lotes con "piso de arado" o presencia de tosca), heridas, daño de insectos, deficiencia de boro, etc. Cultivares de ciclo corto sembrados tardíamente son más susceptibles a muerte.

♣ Lote 46 B (ADN)

Secuenciación de ITS: *Fusarium oxysporum*



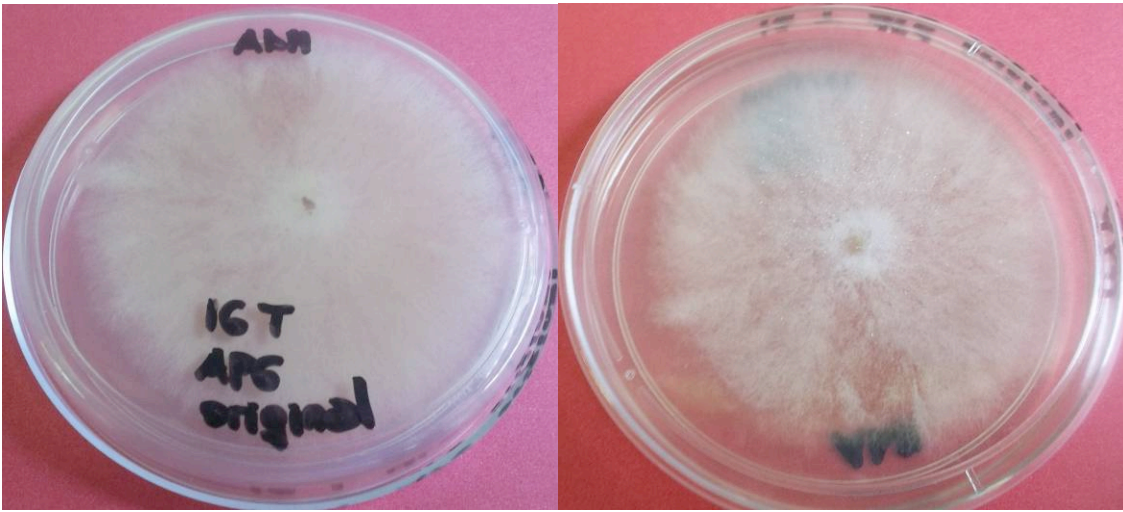
♣ Lote 46 D (ADN)

Secuenciación ITS: *Fusarium solani* (cobertura de 94%, identidad del 99%)

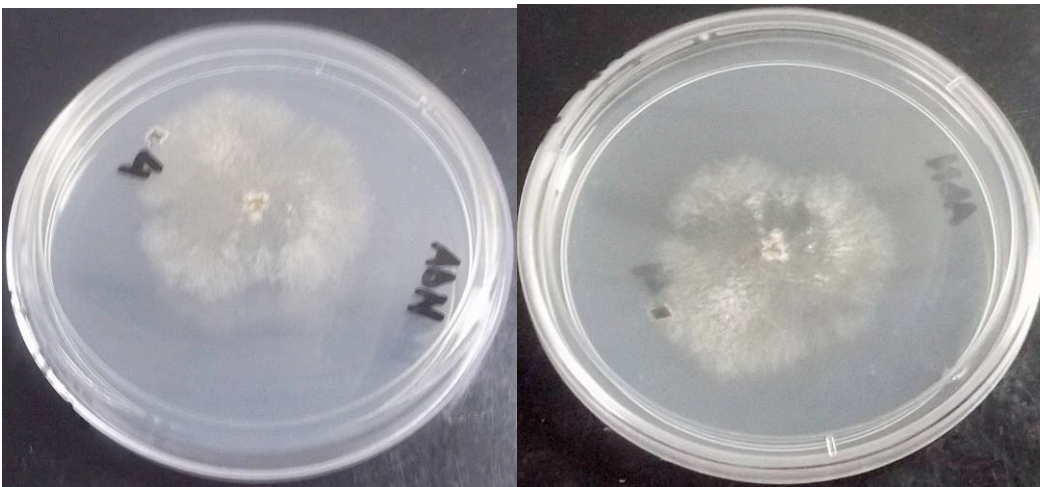


Los aislados de *Rhizoctonia solani* obtenidos corresponden al grupo de anastomosis AG 4 HGI

- ♣ Lote 16 T (ADN) Secuenciación de ITS: *Rhizoctonia solani* (Cobertura de 98%, identidad del 99%)



- ♣ Placa 4 (ADN) corresponde al Lote 16 R - Secuenciación de ITS: *Rhizoctonia solani* (Cobertura de 98%, identidad del 99%)



- ♣ Placa 5 (ADN) corresponde al Lote 16 T- Secuenciación de ITS: *Rhizoctonia solani* (Cobertura de 98%, identidad del 99%)



(De los tres aislados de *Rhizoctonia solani* obtenidos del Lote 16 (cultivo de soja, anteceso trigo) se están esperando las secuencias reverse del ITS amplificado.)

Rhizoctonia solani

Plaga (nombre vulgar): Damping off, mal de los almácigos, cancro del cuello, costra negra o podredumbre negra de la raíz

Tipo de plaga: Hongo

Hospederos: Alfalfa, Papa, Pimiento, Soja, Sorgo, Tabaco, Tomate

Características Biológicas:

Taxonomía: Dominio: Eukaryota, Reino: Fungi, Phylum: Basidiomycota, Clase: Basidiomycetes, Subclase: Agaricomycetidae, Orden: Ceratobasidiales, Familia: *Ceratobasidiaceae*.

Descripción: Como típico hongo del suelo sobrevive de distintas formas: como saprofito sobre restos orgánicos, como parásito en las raíces y otros órganos de plantas y, en forma pasiva, como esclerocios. El hongo puede infectar en muy distintas condiciones de temperatura y humedad, pero como patógeno relativamente débil ataca principalmente en tejido estresado y debilitado del hospedante. El ataque en los frutos se produce en condiciones húmedas y calurosas. Ocurre en frutos que tocan el suelo y que son invadidos en forma directa o en frutos más o menos distantes del suelo donde el inóculo llega por el salpicado de la lluvia o riego por aspersión.

Síntomas específicos según cultivo:

En el cultivo de **Soja**, el hongo causal puede provocar pérdidas considerables reduciendo el stand de plantas de los cultivos por damping-off de pre y postemergencia y la podredumbre radical. La podredumbre de la raíz y del cuello puede ocurrir en cualquier momento durante períodos prolongados de humedad. Esta enfermedad generalmente predomina más en las plántulas que en las plantas jóvenes.

Aparecen síntomas típicos en la base del tallo, corona y raíces más viejas como la podredumbre marrón rojiza de la capa cortical externa. Esta podredumbre puede desarrollarse en un cancro penetrante de color marrón rojizo que a veces ciñe el tallo a nivel del suelo o inmediatamente por encima de éste. Generalmente, dichos cancos están localizados. Bajo condiciones favorables, se pueden extender hacia arriba y hacia abajo sobre el tallo.

Los síntomas aparecen en los tallos, hojas y vainas comenzando en la parte inferior de la planta y ascendiendo posteriormente. Las hojas infectadas están al principio embebidas en agua pero luego toman un color marrón verdoso a marrón rojizo, y luego se vuelven de color canela, marrón o negro. Las lesiones varían en tamaño y forma que van desde pequeñas manchas al total atizonamiento de la hoja. Las plantas gravemente infectadas sufren defoliación. Los tejidos enfermos con lesiones viejas que no se extienden, generalmente se caen durante tiempo seco dando el aspecto de agujereados o acribillados. Las lesiones de color marrón se pueden formar en los pecíolos y tallos. Las lesiones de las vainas varían de pequeñas manchas color marrón al total atizonamiento de la vaina. La humedad elevada estimula el crecimiento micelial y la formación de esclerocios en las lesiones.

En el cultivo de **alfalfa** forma parte del complejo de podredumbre de la corona y la raíz. Este complejo (CPCR) es un problema crónico de la alfalfa y se hace más manifiesto a medida que el alfalfar envejece. En el CPCR actúan e interactúan varios hongos patógenos, organismos no patogénicos y agentes abióticos que desencadenan la podredumbre.

Valores porcentuales en plantas afectadas de 4 años oscilan entre 12 y 30 % en distintas localidades de la Argentina (Hijano et al., 1986). El CPCR se manifiesta por la necrosis pardo oscura que afecta algunos sectores de la corona, con tonalidades más claras, o rojizas, o violáceas, dependiendo de la especie del invasor secundario. Los estados avanzados suelen resultar afectados los vasos conductores de la planta, que presentan un color pardo rojizo.

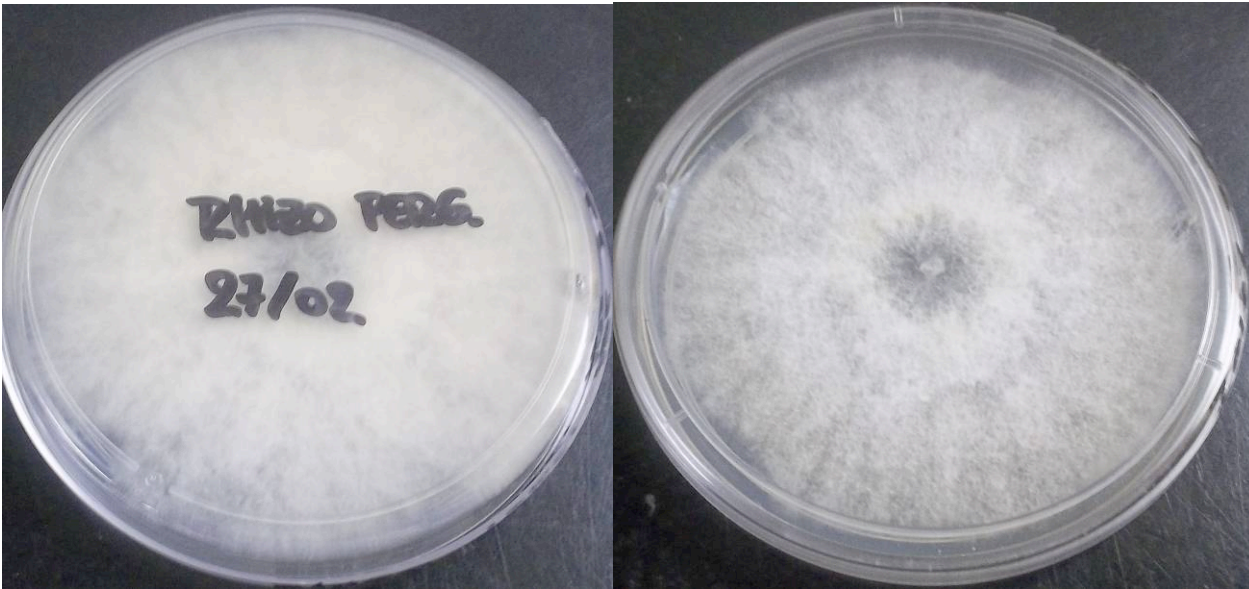
Este complejo de enfermedades produce un crecimiento asimétrico de la planta, ya que la zona necrosada impide la formación de brotes que dan origen a los tallos. La muerte de la planta sobreviene en forma muy lenta, aunque en este proceso un estrés climático puede acelerarla en forma muy manifiesta.

No existen variedades resistentes.

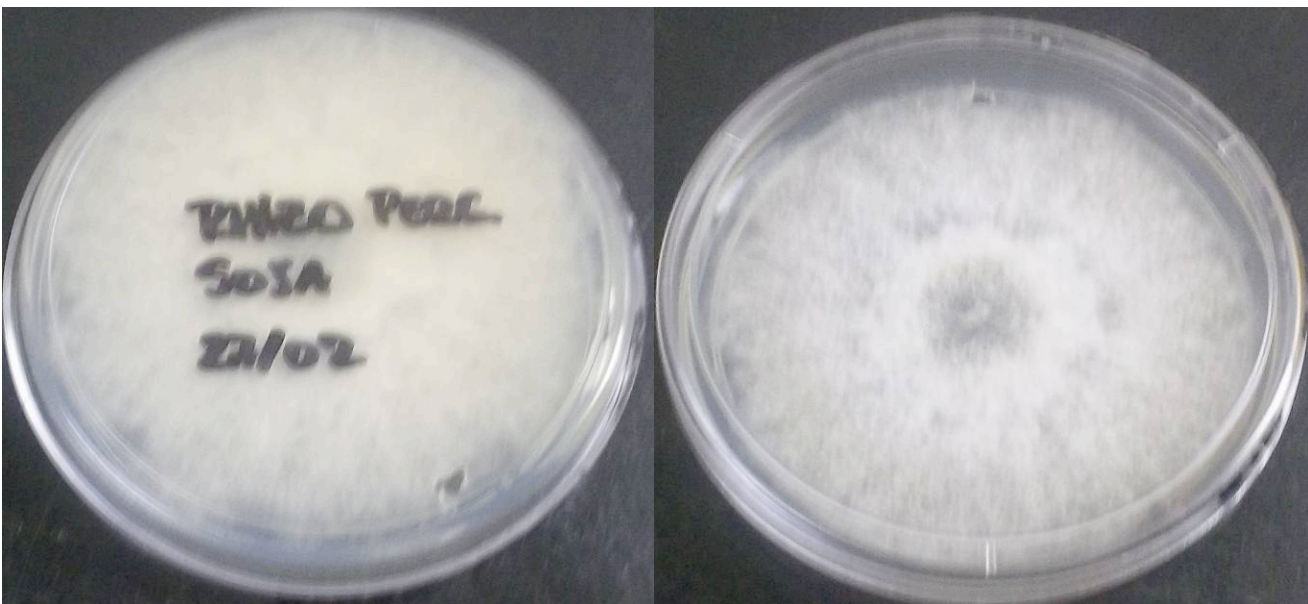
Condiciones predisponentes:

En el cultivo de **Soja**, con un clima relativamente seco y ventoso, las plantas que tienen sus tallos y sistema radicales intensamente dañados, se secan y mueren. La fase de podredumbre de raíz y tallo, es más grave en los suelos pesados y poco drenados. La temperatura óptima para el desarrollo de la enfermedad es de 25-29°C. La lluvia seguida de un tiempo frío y luego cálido, favorece el desarrollo de la enfermedad. La gravedad de la podredumbre de la raíz por *Rhizoctonia* en la soja aumenta cuando las plantas crecen en suelos deficientes en calcio, hierro, magnesio, nitrógeno, fósforo, azufre, o la combinación de cualquiera de estas deficiencias. La falta de aplicación de fungicidas protectores de semillas incrementa la emergencia.

- ♣ Rhizoctonia Pergamino (ADN) - Secuenciación de ITS: *Phomopsis longicolla* (Cobertura de 92%, identidad del 99%)



- ♣ Rhizoctonia Pergamino Soja (ADN) - Secuenciación de ITS: *Phomopsis longicolla* (Cobertura de 89%, identidad del 99%)



Plaga (nombre vulgar): Tizón de la vaina y el tallo y prodredumbre de la semilla por phomopsis

Sinonimia: Diaporthe phaseolorum var. sojae [telomórfico]

Tipo de plaga: Hongo

Hospederos: Soja

Características Biológicas:

Taxonomía: Dominio: Eukaryota, Reino: Fungi.

Descripción: La forma asexual o anamorfa presenta picnidios negros, solitarios o agregados, que producen dos tipos de conidios: los alfa, fusiformes y los beta, filiformes. En el caso de *P. longicolla*, los picnidios presentan un cuello largo. Este patógeno solo ha sido detectado en semillas (sitio de sobrevivencia).

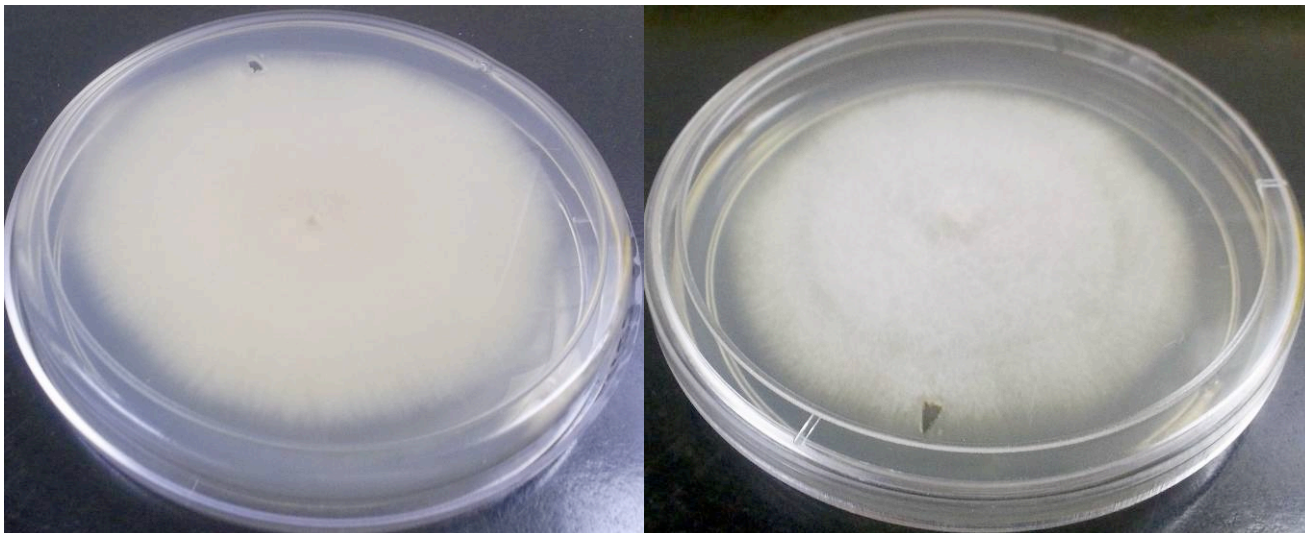
Es una enfermedad endémica en todas las regiones sojeras del mundo. Afecta los rendimientos, pero sobre todo, disminuye la calidad de la semilla.

Síntomas y signos: Bajo condiciones climáticas normales, los síntomas no se observan hasta el fin del ciclo del cultivo. Cuando comienza la senescencia de las plantas, se observa la aparición de hileras de picnidios negros en los tallos, y en forma dispersa en las vainas. A partir de la vaina la infección pasa a la semilla, la cual a veces no presenta síntomas (a pesar de estar infectada) y a veces se encuentra agrietada, arrugada, y en ocasiones cubierta por una eflorescencia blanquecina. Los patógenos colonizan en primer lugar el episperma, causando fisuras y achatamiento de la semilla, y luego invaden el embrión. La semilla infectada tiene menor peso y produce aceite de inferior calidad.

Cuando se siembra la semilla enferma se puede producir podredumbre de la misma y "Dumping off" de pre y postemergencia. Este síntoma también puede ser ocasionado por el inóculo presente en el rastrojo. Es decir, la fuente de inóculo primario está constituida por las estructuras presentes en los restos de cultivos anteriores y por la semilla infectada. Las plantas pueden ser infectadas en etapas posteriores pero los síntomas se observan hacia el fin del ciclo, o sea que la enfermedad tiene un largo período de latencia. Cuando se produce la fructificación del hongo se reinicia el ciclo.

Tanto los conidios como las ascosporas que se forman en estructuras presentes en los tallos, son dispersados por salpicaduras de agua de lluvia e infectan las plantas sanas. La introducción de la enfermedad en un campo donde no existía, o su diseminación a grandes distancias, se produce a través de la semilla infectada.

♣ Lote 40 D (ADN) - Secuenciación de ITS: *Trichoderma gamsii* (Cobertura de 92%, identidad del 99%)



♣ Rhizoctonia Pergamino Sorgo (ADN) - Secuenciación de ITS: *Trichoderma* (Cobertura de 41%, identidad del 99%)

