

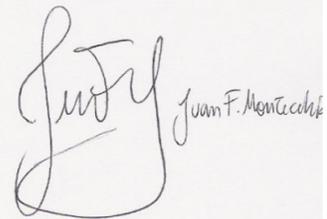
Informe Científico

Beca de Estudio

Comisión de Investigaciones Científicas

Becario: Ing. Agr. Juan Francisco Montecchia

Firma del Becario:



Juan F. Montecchia

Informe Científico

Beca de Estudio

Comisión de Investigaciones Científicas

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:

La Fusariosis de la espiga de trigo (FET), llamada también golpe blanco o tizón de la espiga, es una de las enfermedades más importantes del trigo en todas las regiones cerealeras del mundo (Schroeder y Christensen, 1963; Bai y Shanner, 2004). Esta patología, causada en nuestro país principalmente por *Fusarium graminearum* (Schwabe), produce elevadas pérdidas de rendimiento y deterioro de la calidad del grano (Bai y Shanner, 1999). Esto afecta la utilización industrial del trigo, a través del efecto detrimental de la enfermedad sobre la calidad panadera y la producción de micotoxinas tales como deoxinivalenol (DON), nivalenol (NIV) y zearalenona (ZEA) (Lori et al. 1992; Lori et al. 2003; Rizzo et al. 1997) que comprometen la salud humana y animal. Las pérdidas de rendimiento producidas por esta enfermedad pueden llegar hasta el 50% en condiciones de epidemias severas y cultivares muy susceptibles. Con epidemias moderadas, pueden esperarse pérdidas entre el 10% y el 20% (Galich, 2002). Más allá de las pérdidas directas por disminución del rendimiento, la pérdida del valor comercial de partidas provenientes de lotes afectados por la FET resulta muy significativa a causa de la disminución del peso hectolítrico de los granos, el incremento de la presencia de granos chuzos y la contaminación con micotoxinas (Luqui et al. 1995). La contaminación con DON ha generado serias consideraciones respecto de la seguridad de los alimentos. Los niveles máximos aceptables de DON en harina de trigo destinada a consumo humano varían según los países compradores. La Unión Europea utiliza un umbral de 2 ppm en grano y de 0,75 ppm de DON en la harina utilizada como materia prima para panificados (FAO, 2003).

El período crítico en el que el cultivo es susceptible de ser infectado por el patógeno tiene lugar durante la floración. Las espiguillas son infectadas durante la antesis en donde las anteras expuestas son la vía más efectiva para la infección del patógeno. El período de receptividad abarca desde inicio de floración de la espiguilla hasta la formación de grano lechoso (Schroeder y Christensen, 1963).

El inóculo de la enfermedad está constituido por las ascosporas de *F. graminearum* que se desarrollan en el rastrojo o en los tejidos de malezas hospedantes, subsistiendo tanto en especies gramíneas como en latifoliadas (Carrasco et al. 2005; Mourellos et al. 2011).

Desde una flor infectada el hongo puede difundirse hacia arriba o hacia abajo en la espiga infectando espiguillas aledañas. Dependiendo del grado de madurez de las flores infectadas, el resultado de la infección puede causar el aborto floral, el achuzamiento del grano por la detención del llenado por taponamiento de los conductos xilemáticos del raquis. Éste tipo de taponamiento puede conducir al blanqueo y aborto floral de las espiguillas ubicadas por encima del punto de infección, generándose así uno de los síntomas más característicos de la enfermedad. Esta difusión del hongo en la espiga es determinante del daño causado por la enfermedad.

Dada la imprevisibilidad de la aparición de la enfermedad la estrategia de control químico suele consistir en la aplicación de fungicidas durante el estadio de antesis de modo preventivo (Mesterhazy, 2003) o el uso de fungicidas de aplicación tardía en trigo y cebada (Jones, 2000; Shaner, 2001). Estos tratamientos resultan costosos, de difícil aplicación y es difícil determinar el momento preciso para una aplicación efectiva.

El control a través de la **Resistencia genética vegetal** proveería un control económico y eficiente de la enfermedad. Se ha logrado un desarrollo importante en la búsqueda de hospedantes resistentes en China, Japón y en algunos otros países (Miller et al. 1985; Lu et al. 2001; Ban, 2000). Existen cultivares como el Sumai 3 que poseen resistencia a la dispersión del hongo en la espiga (resistencia Tipo II), siendo este cultivar una de las principales fuentes de resistencia a la FET usada a nivel mundial en los planes de mejoramiento, pero los materiales obtenidos carecen de características agronómicas de interés. (Bai et al. 1996; Wang et al. 1988). Siendo ésta resistencia un carácter cuantitativo, regulado por numerosos genes de efecto menor, es muy difícil de incorporar a variedades comerciales a través del mejoramiento tradicional por la baja heredabilidad que presenta. Por todo esto, la resistencia genética a la FET se ha convertido en una de las mayores metas para los mejoradores a nivel mundial.

La dispersión del micelio en la espiga y las infecciones secundarias causadas por las ascosporas, son condiciones fundamentales para producir el daño causado por la enfermedad.

Schroeder y Christensen (1963) propusieron dos tipos de resistencia del trigo a la FET: Resistencia a la infección inicial (resistencia Tipo I) y resistencia a la dispersión del hongo en la espiga, de espiguilla en espiguilla (resistencia Tipo II). La resistencia Tipo II ha sido profundamente estudiada en Trigo y parece ser más estable y menos afectada por factores no-genéticos que la resistencia Tipo I (Bai y Shaner, 1994). La resistencia Tipo II ha sido reconocida en un amplio número de cultivares de trigo.

Recientemente se ha descubierto que los cultivares de trigo portadores de resistencia a FET activan defensas inducibles mediadas por fitohormonas (Ding, 2011). Las fitohormonas forman parte de los mecanismos de transmisión interna de la señal de estrés, entre ellas se encuentran: el ácido absísico (ABA), el ácido Giberélico, el etileno (E), el ácido jasmónico (AJ) y el ácido salicílico (AS). Otras hormonas como las auxinas, las citoquininas y las poliaminas, también se las relaciona con la señalización de los mecanismos de activación de genes de defensa al estrés, pero en menor medida (Cipollini et al. 2005; Grant y Lamb, 2006).

Los mecanismos **inducibles** de defensa, forman parte de un sistema sistema activo, dependiente de energía, que se expresa a través de cambios morfológicos o fisiológicos que ocurren en respuesta al daño o estrés percibido (Vallad y Goodman, 2004). Son sistemas que reconocen un invasor en forma específica y que conducen a la producción de una proteína o metabolito antagónico. Son responsables de la respuesta de hipersensibilidad (HR), de la síntesis de fitoalexinas y proteínas relacionadas con la patogenicidad (PR) así como de los cambios de la composición de la pared celular. Estos mecanismos están asociados con la resistencia sistémica inducida (ISR) y con la resistencia sistémica adquirida (SAR) contra patógenos. El aumento en la producción “*de novo*” de productos secundarios está correlacionado con la resistencia inducida contra plagas (Heil, 2002). Algunas plantas responden a la presencia de un “elicitador” (inductor) específico, que desencadena una cascada de traducción de señales en el hospedante, que conducen a la activación de una batería de genes de defensa (Azcón –Bieto, 2000).

Los sistemas inducibles de defensa a diferencia de los constitutivos, no se expresan de inmediato, debido al retraso que media entre la infección y la activación de la defensa (desde horas, hasta días) (Boller, 2009). Las plantas poseen un amplio abanico de defensas que pueden expresarse activamente en respuesta a patógenos y parásitos de varias escalas, desde virus microscópicos hasta insectos herbívoros. La coordinación de la activación de estas defensas en el momento adecuado (timing) es indispensable, el que ellas se activen a tiempo determina que la planta tolere o no la infección patogénica. La SAR y la ISR son dos formas de resistencia inducida, en ambas las defensas de las plantas son activadas por una infección previa y le permiten a esta enfrentarse activamente a infecciones subsecuentes (Vallad y Goodman, 2004). La resistencia inducida es un estado de capacidad defensiva incrementada, generada por la elicitación de un estímulo externo, en el que las defensas inherentes de la planta son potenciadas para enfrentar cualquier otro estrés subsecuente proveniente de su entorno (Van Loon et al. 1998).

Objetivos:

El objetivo general del presente proyecto es determinar si en los cultivares y líneas de trigo existen mecanismos de defensas inducibles por medio de la aplicación exógena de fitohormonas, tales como el ácido Giberélico (AG) y el ácido Jasmónico (AJ), que otorguen tolerancia a la infección de *Fusarium graminearum*.

Además de la inducción hormonal se plantea evaluar si la pre-inoculación con *Pseudomonas fluorescens* elicit respuestas defensivas que le otorguen tolerancia a FET incrementando alguno de los Tipos de Resistencia.

Para alcanzar los objetivos generales se han establecido 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 pre-inoculación con rizobacterias (*Pseudomonas fluorescens*) disminuye la incidencia y la severidad de la enfermedad en espigas de trigo inoculadas con *Fusarium graminearum*.
3. Evaluar si los tratamientos de elicitación (AG, AJ, *Pseudomonas fluorescens*) afectan el PMG de los trigos inoculados 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 fueron dos líneas experimentales Doble Haploides y un cultivar comercial:

- Opata x Synthetic (OxS)
Características: Ciclo corto, Porte alto.
- Spark x Rialto (SxR)
Características: Ciclo Largo, Porte Semi-rastrero.
- Klein Zorro (Comercial)
Características: Ciclo corto, Porte Semi-rastrero.

El ensayo fue sembrado bajo un diseño de parcela subdividida, con dos repeticiones (parcelas) por genotipo en un umbráculo de la cátedra de Genética en la ciudad de La Plata (34° 54' LS).

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. Las parcelas se sembraron entre los días 6 y 7 de Julio de 2012. En cada parcela ensayada se evaluaron todos los tratamientos con sus respectivos testigos.

El desmalezado se realizó de forma manual. Se efectuó control de pulgones en todos los ensayos, para lo cual se utilizó el insecticida de contacto Mercaptotión 100% P/V dietil (dimetoxifosfotio) succinato-

Elicidores Hormonales:

Durante el presente año, se evaluó el efecto inductor de ~~sólo~~ dos tipos de elicidores hormonales: Ácido Jasmónico y Ácido Giberélico y un elicitor bacteriano o biológico: Rizofos® (Rizobacter).

La elección del Ácido Giberélico (AG) como elicitor de respuestas defensivas viene dada por la profundización del estudio de los genes de semienanismo, codificantes de Factores Transcripcionales DELLA, y su vinculación con la resistencia o susceptibilidad a diversos tipos de enfermedades por distintos grupos de investigación (Navarro et al. 2008; Srinivasachary et al. 2009; Saville, 2011).

Concentración de soluciones hormonales aplicadas:

Aspersión con las siguientes soluciones hasta chorreo:

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

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 del vegetal. Se buscó en el primer caso aumentar la eficiencia de penetración de los reguladores de crecimiento al tejido y, en el segundo, la adherencia de las esporas a los tejidos del hospedante.

La metodología utilizada para la inducción hormonal consistió en la pulverización de las soluciones hasta chorreo, con una frecuencia de una aplicación semanal desde el estadio de bota hasta alcanzar plena antesis.

Descripción del inoculante bacteriano utilizado:

El Rizofos® es un inoculante (biofertilizante) desarrollado por Rizobacter Argentina S.A formulado con bacterias del género *Pseudomonas*, que en principio contribuiría con una mejor asimilación de nutrientes por parte del cultivo.

Preparación del Inóculo Patogénico:

Para la inoculación se seleccionó una cepa de *F. graminearum* (Colección del CIDEFI) recolectada en la localidad de Los Hornos, partido de La Plata, Provincia de Buenos Aires. La agresividad de esta cepa es moderada y es productora de DON.

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 de Cappellini y Peterson (Booth, 1971). 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 resuspendido 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.

Evaluación del nivel de clorofila en hojas post-inducción hormonal por medio del medidor Minolta SPAD 502:

Luego de alcanzado el estadio de bota y habiendo realizado la primer aplicación hormonal, se procedió a evaluar el contenido de clorofila en hojas con el medidor de clorofila Minolta SPAD para determinar si alguno de los tratamientos de elicitación produjo alguna alteración en ésta variable.

Se tomaron 20 mediciones por tratamiento, siendo cada una de ellas el promedio de tres secciones de la hoja bandera. Se realizó un análisis de la varianza con el programa InfoStat, a fin de determinar luego por el test de Tukey la existencia de diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada genotipo.

Seguimiento de la diferenciación apical de los distintos genotipos:

Para conocer el material vegetal y entrenarme en el manejo del mismo, se hizo un seguimiento de la evolución de los ápices en una parcela distinta a la empleada para los ensayos comprometidos. Este seguimiento tuvo por objeto determinar el momento de entrada en estado reproductivo de ambos genotipos.

El genotipo de ciclo corto OXS entró en estado reproductivo cerca del 20 de agosto, mientras que el de ciclo largo, SxR, lo hizo alrededor del 12 de septiembre.

Método de Inducción e Inoculación:

La inducción hormonal se realizó por pulverización desde el estado de bota, estadio de Zadoks 4.1, con una aplicación semanal hasta alcanzar plena antesis, momento en que se inoculó el patógeno a través de la suspensión de esporas. La pulverización de la solución hormonal se llevó a cabo cubriendo los tratamientos aledaños con cortinas de polietileno para evitar la deriva.

La inoculación se realizó durante la floración plena, con una abundante cantidad de anteras extruídas en el segmento medio de la espiga, mediante dos técnicas que nos permitieron evaluar dos tipos de resistencia. Una de ellas fue la pulverización de la suspensión de esporas, a fin de evaluar la resistencia de la planta a la infección inicial, siendo ésta la vía para evaluar la resistencia de Tipo 1. Se pulverizó manualmente un mililitro de suspensión de esporas por espiga.

El otro método empleado fue el de inoculación puntual, a través del cual se pudo evaluar la dispersión del hongo en la espiga y consecuentemente la 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) y evaluar luego con observaciones semanales la dispersión o el avance de la enfermedad a lo largo de la espiga.

Luego de la inoculación, para ambas técnicas, se cubrieron las espigas con bolsas de polietileno levemente humedecidas para generar un efecto de cámara húmeda que facilite el crecimiento del hongo e inicio de la infección. La cámara húmeda se mantuvo durante 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 incidencia de la enfermedad se determinó realizando un conteo de espigas enfermas sobre espigas totales.

Al estado de madurez fisiológica se cosecharon y trillaron las espigas manualmente, determinándose la severidad.

La severidad de la enfermedad se evaluó mediante el porcentaje de granos enfermos por espiga ($\text{Número de granos enfermos en la espiga} / \text{número total de granos en la espiga} \times 100$) sobre granos totales.

También se evaluó el peso total de la muestra y el peso de 1.000 granos (PMG).

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:

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

n = Número total de observaciones.

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

X_i = Días a la Observación i ésima.

A través del análisis ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) se determinará la cantidad de DON acumulado en los granos provenientes de los distintos tratamientos infectados. Esto permitirá determinar la resistencia Tipo 5 (Bai y Shaner 1996) que corresponde a la acumulación de micotoxina en grano.

Para poder determinar los niveles de micotoxinas presentes en el material de estudio, se molerán 5g de granos de cada uno de los tratamientos y se realizará la determinación de DON.

Ensayo de inducción hormonal y bacteriana en Opata x Synthetic y Spark x Rialto:

Tratamientos:

Se realizaron ocho tratamientos por genotipo sobre las líneas experimentales OxS y SXR, y seis tratamientos sobre Klein Zorro. En éste último no se evaluó al inductor bacteriano.

Los tratamientos se realizaron en dos parcelas por genotipo divididas cada una en cuatro sub-parcelas, tratadas cada una de ellas con un elicitor particular. Las sub-parcelas se trataron con agua, AJ, AG y Rizofos (inoculante). Luego cada sub-parcela fue dividida a la mitad para inocular una mitad con el patógeno e inocular la complementaria con agua, a fin de generar los tratamientos testigo.

De cada sub-parcela se realizaron dos repeticiones y en cada una de ellas se evaluaron las dos técnicas de inoculación. Para la técnica de inoculación puntual se seleccionaron 15 espigas por sub-parcela, lo que permitió obtener 30 espigas de cada tratamiento las cuales serán contrastadas en el análisis con las 30 no inoculadas de su respectivo testigo. Para el caso de la inoculación por pulverización se seleccionaron en cada sub-parcela 25 espigas, lo que nos permitió evaluar 50 espigas por tratamiento.

Evaluación del nivel de clorofila en hojas post-inducción hormonal por medio del medidor Minolta SPAD 502:

Luego de alcanzado el estadio de bota y habiendo realizado la primer aplicación hormonal, se procedió a evaluar el contenido de clorofila en hojas con el medidor de clorofila Minolta SPAD para determinar si alguno de los tratamientos de elicitación produjo alguna alteración en ésta variable.

Se tomaron 20 mediciones por tratamiento, siendo cada una de ellas el promedio de tres secciones de la hoja bandera. Se realizó un análisis de la varianza con el programa InfoStat, a fin de determinar luego por el test de Tukey la existencia de diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada genotipo.

Resultados:

Dado que los resultados corresponden a un solo año de ensayo a campo, se presentarán en forma sintética los resultados preliminares obtenidos al momento de la realización del presente informe.

Resultados de la evaluación del nivel de clorofila en hojas post-inducción hormonal por medio del medidor Minolta SPAD 502:

ANOVA de las mediciones de SPAD del genotipo OxS:

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	188,70	3	62,90	6,77	0,0004
TRATAMIENTO	188,70	3	62,90	6,77	0,0004
Error	705,79	76	9,29		
Total	894,49	79			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,53138

Error: 9,2867 gl: 76

TRATAMIENTO Medias n E.E.

GIBERÉLICO	44,95	20	0,68	A
RIZOFOS	45,79	20	0,68	A
JASMÓNICO	46,98	20	0,68	A B
TESTIGO	49,04	20	0,68	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

El análisis de la varianza nos indica que para el genotipo OxS la inducción hormonal tendió a disminuir el contenido de clorofila en la hoja bandera, si bien no hubo diferencias significativas entre los tratamientos hormonales, el testigo tratado con agua sí las mostró con los tratamientos de ácido giberélico y Rizofos.

ANOVA de las mediciones de SPAD del genotipo SxR:

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	715,92	3	238,64	20,47	<0,0001
TRATAMIENTO	715,92	3	238,64	20,47	<0,0001
Error	885,91	76	11,66		
Total	1601,83	79			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,83606

Error: 11,6567 gl: 76

<u>TRATAMIENTO</u>	<u>Medias</u>	<u>n</u>	<u>E.E.</u>	
RIZOFOS	47,39	20	0,76	A
GIBERÉLICO	49,05	20	0,76	A B
JASMÓNICO	51,79	20	0,76	B
TESTIGO	55,29	20	0,76	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

En el caso del genotipo de ciclo largo, SxR, la tendencia expresada en el otro genotipo se repite y aquí resulta significativamente superior el contenido de clorofila acumulado en la hoja bandera del tratamiento testigo.

Área Debajo de la Curva de Avance de la Enfermedad (AUDPC):

Por medio de esta variable buscamos comparar entre los distintos tratamientos, dentro de cada genotipo, la velocidad y el grado de avance del hongo en la espiga.

Gracias a esta comparación podemos estimar los niveles de resistencia de Tipo 1 y 2 expresados por las plantas en los distintos tratamientos.

Genotipo Opata x Synthetic:

Evaluación de Resistencia Tipo 1:

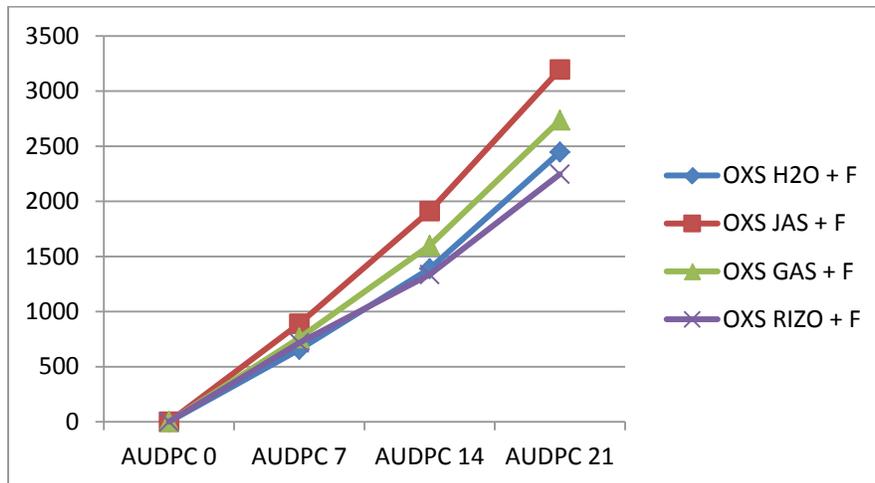


Ilustración 1: Valores de AUDPC para los distintos tratamientos inoculados por pulverización. En el eje de las ordenadas al origen se disponen los valores de AUDPC, mientras que en el de las abscisas encontramos los días post-inoculación en los que se realizaron las observaciones semanales.

Evaluación de Resistencia Tipo 2:

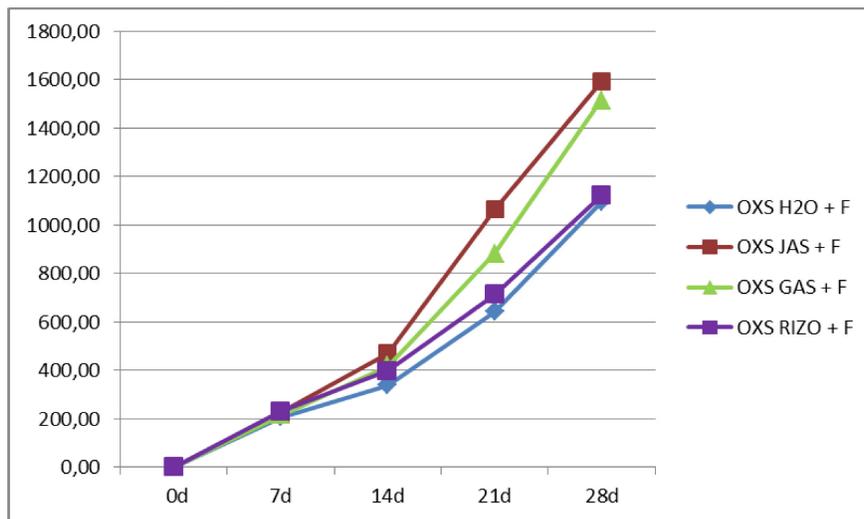


Ilustración 2: Valores de AUDPC para los distintos tratamientos inoculados puntualmente. En el eje de las ordenadas al origen se disponen los valores de AUDPC, mientras que en el de las abscisas encontramos los días post-inoculación en los que se realizaron las observaciones semanales.

Genotipo Spark x Rialto:

Evaluación de Resistencia de Tipo 1:

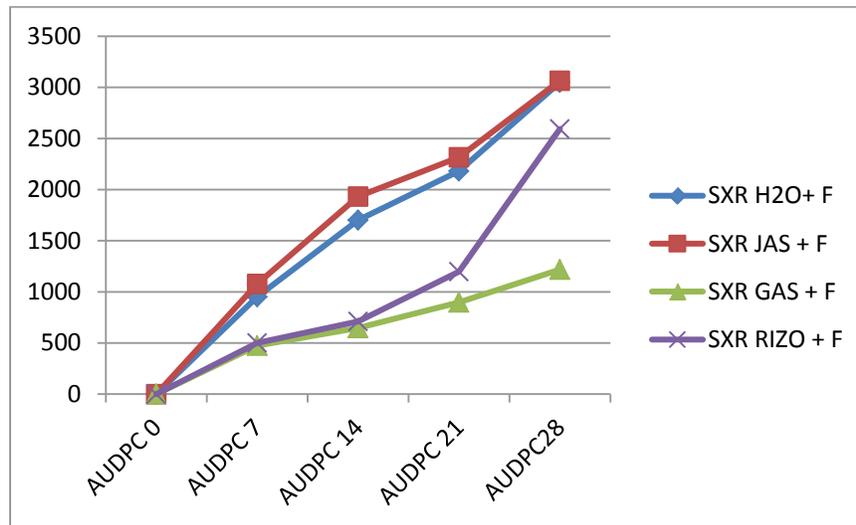


Ilustración 3: Valores de AUDPC para los distintos tratamientos inoculados por pulverización. En el eje de las ordenadas al origen se disponen los valores de AUDPC, mientras que en el de las abscisas encontramos los días post-inoculación en los que se realizaron las observaciones semanales.

Evaluación de Resistencia de Tipo 2:

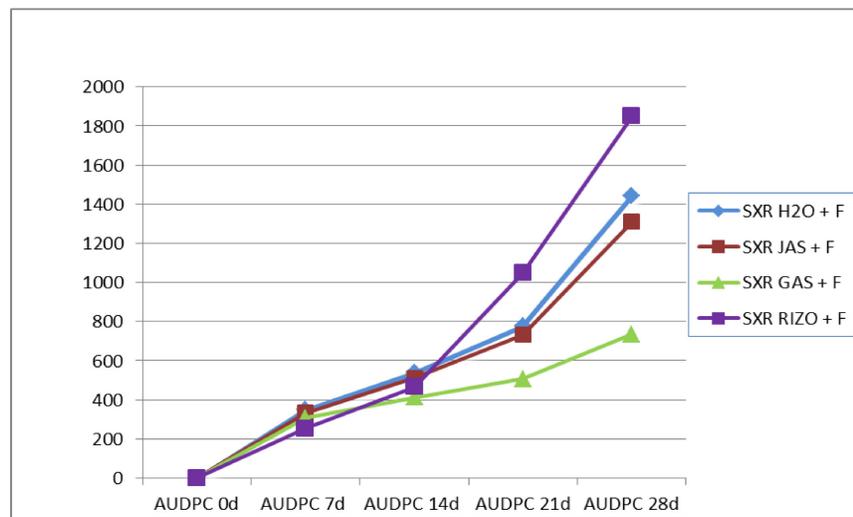


Ilustración 4: Valores de AUDPC para los distintos tratamientos inoculados puntualmente. En el eje de las ordenadas al origen se disponen los valores de AUDPC, mientras que en el de las abscisas encontramos los días post-inoculación en los que se realizaron las observaciones semanales.

Porcentaje de Granos por Espiga y de Granos Enfermos por Espiga Promedio por Tratamiento:

Opata x Synthetic:

Inoculación por Pulverización:

Tabla 3: Porcentajes Promedio de granos por espiga y de granos enfermos por espiga en los distintos tratamientos ensayados sobre Opata x Synthetic. Inoculación por Pulverización para evaluar Resistencia de Tipo 1.

OXS SPRAY	GRANOS/ESPIGA PROMEDIO	%ENFERMOS/ESPIGA	DESVIO ESTANDAR
TESTIGO H2O + SPRAY	21,20	0,29	2,20
H2O + FUS + SPRAY	20,18	43,07	24,24
TESTIGO JASMO SPRAY	23,15	0,08	0,59
JASMO + FUS SPRAY	20,49	55,24	24,80
TESTIGO GAS SPRAY	24,92	0,10	0,77
GAS + FUS SPRAY	19,15	57,88	21,58
TESTIGO RIZO SPRAY	27,96	0,35	1,03
RIZO + FUS SPRAY	22,89	41,04	21,03

Inoculación Puntual:

Tabla 4: Porcentajes Promedio de granos por espiga y de granos enfermos por espiga en los distintos tratamientos ensayados sobre Opata x Synthetic. Inoculación Puntual para evaluar Resistencia de Tipo 2.

OXS PUNTUAL	GRANOS/ESPIGA PROMEDIO	%ENFERMOS/ESPIGA	DESVIO ESTANDAR
TESTIGO H2O PUNTUAL	21,44	1,74	7,38
H2O + FUS PUNTUAL	20,00	33,28	30,30
TESTIGO JASMO PUNTUAL	20,48	0,00	0,00
JASMO + FUS PUNTUAL	18,84	43,46	30,4
TESTIGO GAS PUNTUAL	22,90	0,00	0,00
GAS + FUS PUNTUAL	19,63	39,91	29,26
TESTIGO RIZO PUNTUAL	25,37	0,12	0,62
RIZO + FUS PUNTUAL	22,55	24,08	22,03

Spark x Rialto:

Inoculación por Pulverización:

Tabla 5: Porcentajes Promedio de granos por espiga y de granos enfermos por espiga en los distintos tratamientos ensayados sobre Opatá x Synthetic. Inoculación por Pulverización para evaluar Resistencia de Tipo 1.

SXR SPRAY	GRANOS/ESPIGA PROMEDIO	%ENFERMOS/ESPIGA	DESVIO ESTANDAR
TESTIGO H2O SPRAY	29,10	1,36	3,45
H2O + FUS SPRAY	26,57	33,14	17,22
TESTIGO JASMO SPRAY	25,76	0,62	2,84
JASMO + FUS SPRAY	29,57	30,26	17,89
TESTIGO GAS SPRAY	17,76	1,84	9,90
GAS + FUS SPRAY	16,00	14,51	10,94
TESTIGO RIZO SPRAY	28,80	1,55	5,71
RIZO + FUS SPRAY	27,88	23,20	13,92

Inoculación Puntual:

Tabla 6: Porcentajes Promedio de granos por espiga y de granos enfermos por espiga en los distintos tratamientos ensayados sobre Spark x Rialto. Inoculación Puntual para evaluar Resistencia de Tipo 2.

SXR PUNTUAL	GRANOS/ESPIGA PROMEDIO	%ENFERMOS/ESPIGA	DESVIO ESTANDAR
TESTIGO H2O PUNTUAL	29,28	0,71	2,42
H2O + FUS PUNTUAL	25,56	14,38	9,72
TESTIGO JASMO PUNTUAL	30,83	3,02	5,62
JASMO + FUS PUNTUAL	30,88	10,97	5,89
TESTIGO GAS PUNTUAL	25,20	0,49	1,52
GAS + FUS PUNTUAL	24,12	13,12	13,12
TESTIGO RIZO PUNTUAL	30,60	0,08	0,42
RIZO + FUS PUNTUAL	26,00	10,43	8,20

A partir de los resultados presentados se ha encontrado una gran variación dentro de los tratamientos dado que ambos genotipos respondieron de manera diferente frente a los elicitors empleados.

Al analizar la dinámica de avance de la enfermedad, mediante la AUDPC, se pueden definir las distintas respuestas de cada genotipo en los dos tipos de resistencia que se intentaron evaluar. En el genotipo de ciclo corto y porte alto, OXS, no se observó una respuesta a la inducción significativa frente al nivel de resistencia a la infección inicial. Dado el alto porcentaje de granos enfermos que presentaron las espigas de plantas elicitoradas con AJ, con AG y con Rizofos podría inferirse que el mecanismo de resistencia de Tipo I no se expresó cuando el patógeno fue inoculado por pulverización. Los valores obtenidos nos muestran curvas de avance semejantes entre tratamientos y ningún indicio de que alguno de ellos haya elevado este tipo de resistencia.

En el caso de la resistencia Tipo podría deberse a una atenuación de los mecanismos de resistencia a la dispersión del hongo por parte del AG y del AJ. Lo que se correlaciona con una mayor proporción de granos enfermos por espiga en estos tratamientos, según los datos arrojados por la trilla.

El genotipo SxR, a diferencia de lo acontecido en OxS, sugiere haber tenido una respuesta positiva frente a la elicitación con AG y un incremento en la resistencia de Tipo 1. Esto se ve estrechamente correlacionado con una disminución importante del porcentaje de granos enfermos por espiga. El Rizofos pareciera haber generado un efecto positivo también, sobre este tipo de resistencia, pero en menor medida.

Respecto de la Resistencia de Tipo 2, la inducción con AG sugirió también una respuesta positiva a juzgar por los valores de AUDPC relativos a los demás tratamientos. Sin embargo, esto no se correspondió con lo observado en la trilla al evaluar la proporción de granos enfermos por espiga. Tal observación puede deberse a que la inducción con AG generó una tasa de aborto floral superior a la observada en los demás tratamientos.

Es preciso aclarar que las condiciones climáticas que se presentaron durante la primavera de 2012 promovieron elevadas tasas de infección, ya que fueron muy propicias para el desarrollo de la enfermedad. A pesar de ello, los germoplasmas evaluados presentaron bajos niveles de infección natural, siendo estos no significativos, dado que sólo en uno de los tratamientos testigo se alcanzó un 2% de granos enfermos.

Tareas pendientes:

Las tareas pendientes son el análisis estadístico completo de los resultados, la trilla del cultivar comercial, el pesaje de todas las muestras para poder calcular el PMG y luego la fluctuación de PMG en cada tratamiento, y el análisis de contenido micotoxinas a través del test de ELISA.

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.
- 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 Hemibiotrophic *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.
- 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.
- 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 quimiotaxonomía 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.
- 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., Aulicino, 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.

- 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.
- 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.
- 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.
- Saville, R. J. (2011). Understanding DELLA in Wheat Linking Genotype to Phenotype, (January 2011). Unpublished.
- 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, 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.