

Título de tesis: “Cancro del tallo de soja por *Diaporthe caulivora*: aportes para la detección de la resistencia a la penetración e invasión e infecciones latentes”.

Estudiante: Marina Rosa Alejandra Montoya, Lic. Cs. Biol., M. Sc.

Directora: Azucena del Carmen Ridao, Ing. Agr., Dra. **Asesoras:** Gabriela Alejandra Massa, Lic. en Biotecnol., Dra; Mabel Noemí Colabelli, Ing. Agr., D.E.A.

RESUMEN

El tipo de cancro del tallo de la soja prevalente en Argentina es el causado por *Diaporthe caulivora* (*Dc*), pudiendo causarle serias pérdidas al cultivo. La infección ocurre en estadios vegetativos tempranos y los síntomas aparecen 50-60 días después, aunque *Dc* puede permanecer asintomático en infecciones latentes (IL). El uso de cultivares resistentes es una forma de manejo fitosanitario eficiente. La resistencia ante *Dc* en soja se evalúa generalmente con métodos de inoculación con heridas y micelio (MIC), siendo el más usado el del palillo (PAL). Su agresividad no parece representar la infección natural y alteraría la respuesta de las plantas. El manejo sanitario se complica por el uso de genotipos susceptibles y la ocurrencia de IL en este patosistema. La comparación de los métodos de inoculación PAL, MIC y su variante MICa (micelio, sin herida) y ASC (ascosporas, sin herida) se realizó con *Dc* (wt-*Dc*) en tres experimentos en ambiente semicontrolado con plantas de DM3810RR, SPS3x5RR y A054 en estadios V1–V3. Variables cuantitativas y categóricas fueron registradas desde los 6 a 60 días después de inocular (ddi). Para caracterizar las infecciones se ajustó un protocolo de transformación con *Agrobacterium tumefaciens* para obtener un aislado transgénico de wt-*Dc* con el gen de la proteína verde fluorescente (GFP). Plantas de DM3810RR y SPS3x5RR fueron inoculadas con los métodos MICa y PAL y los aislados original y transgénico. En 20 muestreos secuenciales las plantas fueron evaluadas por síntomas externos, seccionadas y observadas con microscopía de campo claro (azul de anilina 0,1 % para controles y wt-*Dc*) y fluorescencia para seguir la invasión y colonización del patógeno en el tallo desde 12 h después de inocular (hdi) hasta 152 ddi. El método PAL fue el único que diferenció significativamente los genotipos probados. La severidad de síntomas e incidencia aparente fueron bajas y crecientes en ASC, MIC y MICa. Se registraron IL en todos los métodos de inoculación, con mayor frecuencia en MIC y MICa. La incidencia aparente, marchitez y lesión externa medible tuvieron siempre el valor más elevado en el método PAL seguido por MICa, MIC y ASC. Se obtuvieron por primera vez aislados de wt-*Dc* portadores de la GFP. La inserción del ADN-T en el ADN del patógeno causó fenotipos similares a wt-*Dc* y mutantes. La infección por los dos aislados ocurrió 24 hdi en ambos cultivares y métodos. Los síntomas aparecieron 48 hdi. Se observaron hifas asociadas a tricomas desde 12 hdi hasta 75 ddi. En pocas horas el patógeno alcanzó inter y luego intracelularmente, el parénquima cortical, floema, xilema y el parénquima medular. Este patrón fue similar en ambos cultivares. La severidad de síntomas fue significativamente mayor en plantas inoculadas con herida (MIC o PAL) y en DM3810RR comparado con SPS3x5RR. El porcentaje de IL en los cultivares no varió significativamente en el método MICa. Las IL ocurrieron hasta los estadios R5 (SPS3x5RR) y V8 (DM3810RR). No fue posible predecir las IL en los cultivares probados. El método sin herida MICa sería una alternativa viable para mejorar la manifestación del comportamiento de los genotipos ante *Dc*.