



TALLER CIENTÍFICO



Cancro del tallo y podredumbre seca del capítulo de girasol

Ing. Agr. Denis N. Colombo
EEA INTA Anguil "Guillermo Covas"
colombo.denis@inta.gob.ar



31 de Junio de 2024



- Agentes causales
 - Relevamiento
 - Fungicidas
- Validación de genes candidatos



TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Agentes causales reportados en Argentina

Diaporthe helianthi
Diaporthe gulyae
Diaporthe kongii
Diaporthe longicolla
Diaporthe caulivora
Diaporthe sojae
Diaporthe ambigua



Zambelli, A., Mancebo, M. F., Bazzalo, M. E., Reid, R. J., Sanchez, M. C., Kontz, B. J., & Mathew, F. M. (2021). Six species of *Diaporthe* associated with *Phomopsis* stem canker of sunflower in southern pampean region of Argentina. *Plant Health Progress*, 22(2), 136-142.

Colombo, D. N., Corro Molas, A. E., Paniego, N. B., & Comerio, R. M. (2023). *First report of Diaporthe ambigua causing Phomopsis stem canker on sunflower in Argentina*. Wiley.



TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Además, en el resto del mundo...

Confirmados

Diaporthe kochmanii
Diaporthe stewartii
Diaporthe novem
Diaporthe phaseolorum
Diaporthe eres

MAYO 2024

Diaporthe riccionae
Diaporthe berteroaie

Persoonia 27, 2011: 80–89
www.ingentaconnect.com/content/nhn/pimj

RESEARCH ARTICLE

<http://dx.doi.org/10.3767/003158511X617110>

Stem cankers on sunflower (*Helianthus annuus*) in Australia reveal a complex of pathogenic *Diaporthe* (*Phomopsis*) species

S.M. Thompson^{1,3}, Y.P. Tan², A.J. Young², S.M. Neate¹, E.A.B. Aitken³, R.G. Shivas²

Persoonia 35, 2015: 39–49

www.ingentaconnect.com/content/nhn/pimj

RESEARCH ARTICLE

<http://dx.doi.org/10.3767/003158515X687506>



Green and brown bridges between weeds and crops reveal novel *Diaporthe* species in Australia

S.M. Thompson^{1,2}, Y.P. Tan³, R.G. Shivas³, S.M. Neate¹, L. Morin⁴, A. Bissett⁵, E.A.B. Aitken²

Diaporthe novem isolated from sunflower (*Helianthus annuus*) and other crop and weed hosts in Australia

S. M. Thompson · Y. P. Tan · S. M. Neate ·
R. M. Grams · R. G. Shivas · K. Lindbeck ·
E. A. B. Aitken

BIO Web of Conferences 18, 00010 (2020)

Diaporthe species infecting sunflower in Russia

Maria Gomzhina* and Philipp Gannibal

Diversity and aggressiveness of the *Diaporthe* species complex on sunflower in Serbia

Slobodan Krsmanović, Luca Riccioni, Boško Dedić, Febina Merlin Mathew, Miodrag Tolimir, Vera Stojšin, and Kristina Petrović

Published Online: 30 Apr 2024 | <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-24-0195-RE>

> MycoKeys. 2023 Oct 23:99:319-362. doi: 10.3897/mycokeys.99.110043. eCollection 2023.

Four new endophytic species of *Diaporthe* (Diaporthaceae, Diaporthales) isolated from Cameroon

Christopher Lambert^{1,2,3}, Lena Schweizer³, Blondelle Matio Kemkuignou^{1,2},
Elodie Gisèle M Anoumedem⁴, Simeon F Kouam⁴, Yasmina Marin-Felix^{1,2}

Thompson SM, Tan YP, Shivas RG (2023) Nomenclatural novelties. Index of Australian Fungi 7: 1–7. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7972551>

Potenciales

Diaporthe masirevicii
Diaporthe goulteri
Diaporthe miriciae
Diaporthe sackstonii
Diaporthe serafiniaie

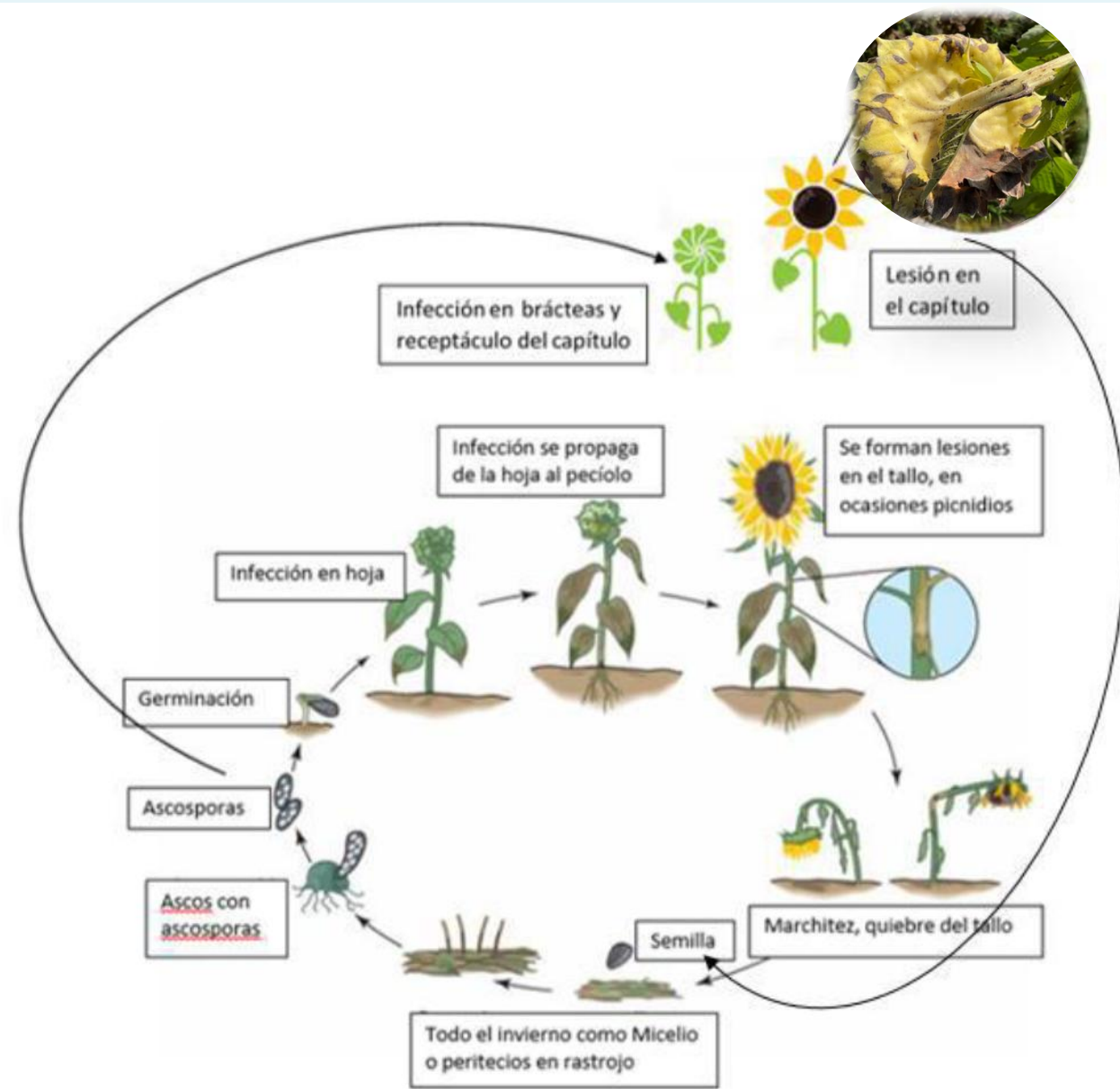


TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



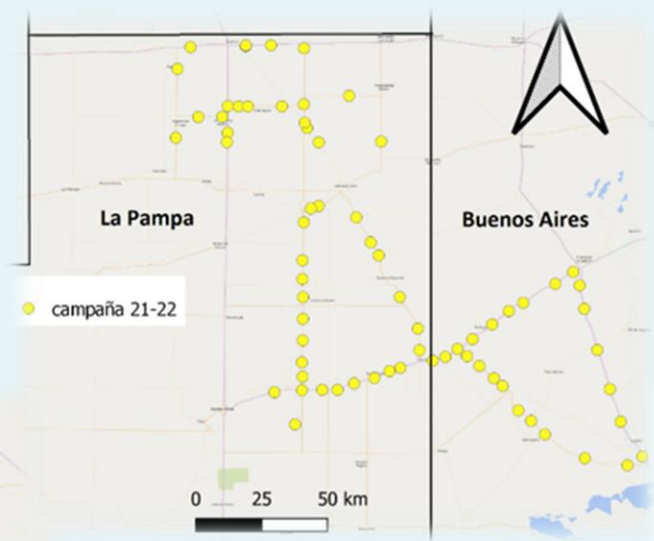
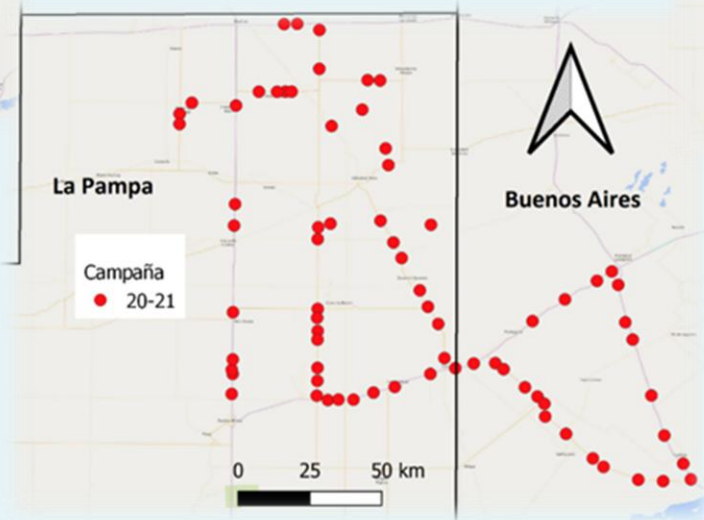
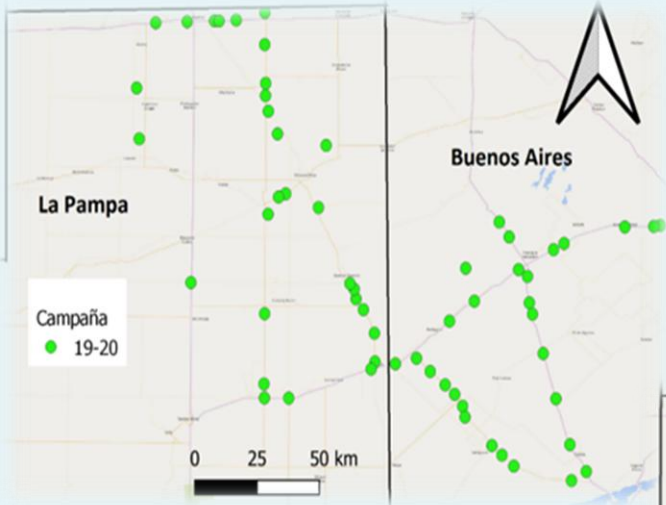


Ciclo de las enfermedades

(Imagen adaptada de Mathew et al., 2018 y de Mancebo 2021).



Relevamiento región semiárida pampeana campaña 2019/2020 – 2022/2023



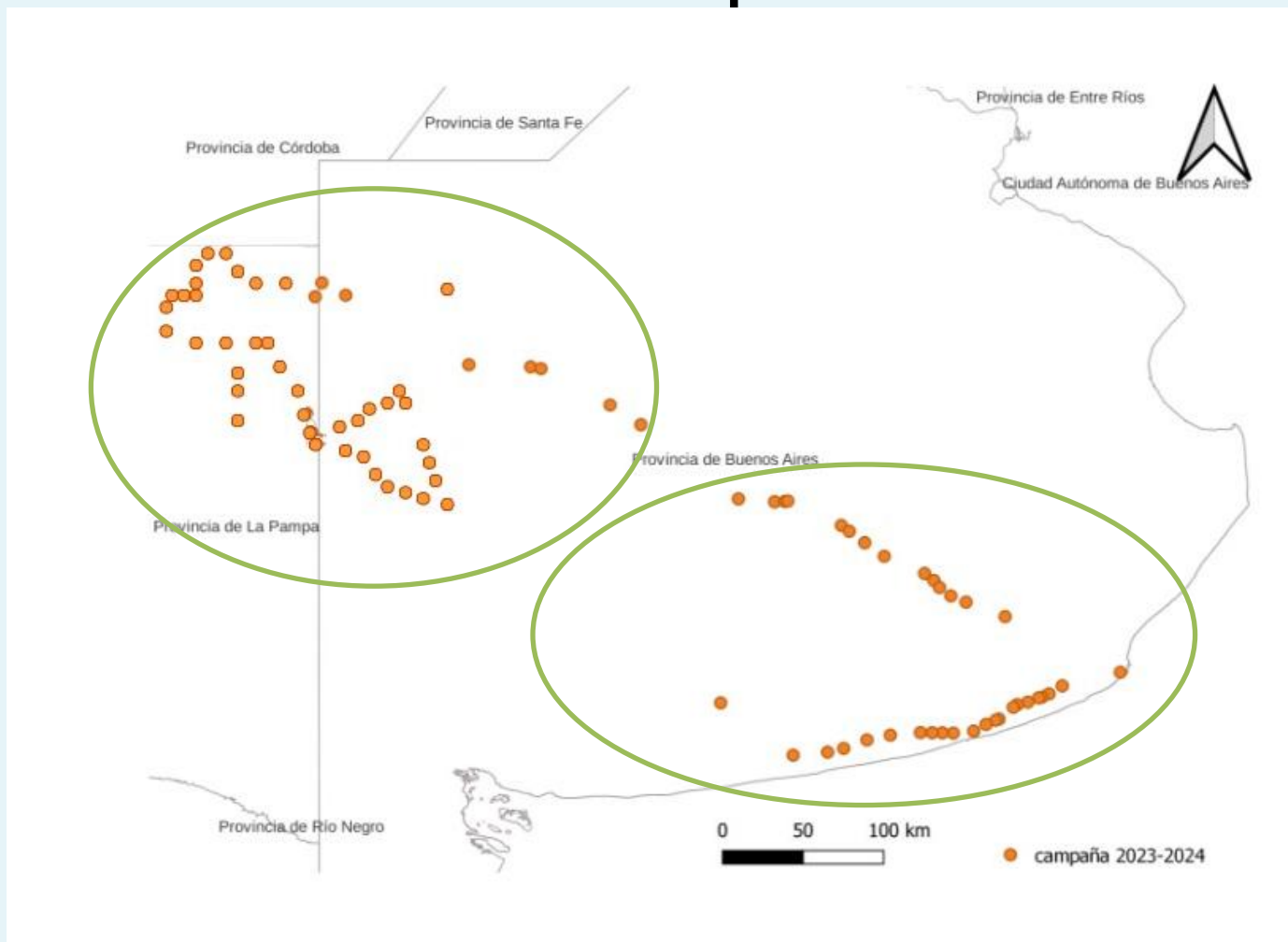
TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Relevamiento región semiárida pampeana y sudeste bonaerense campaña 2023/2024



TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Cepario INTA

- Consolidación de un cepario de especies de *Diaporthe* relacionadas al CT y PSC. Alrededor de 400 aislamientos
- Capacidad de discriminar diferentes especies de *Diaporthe*.



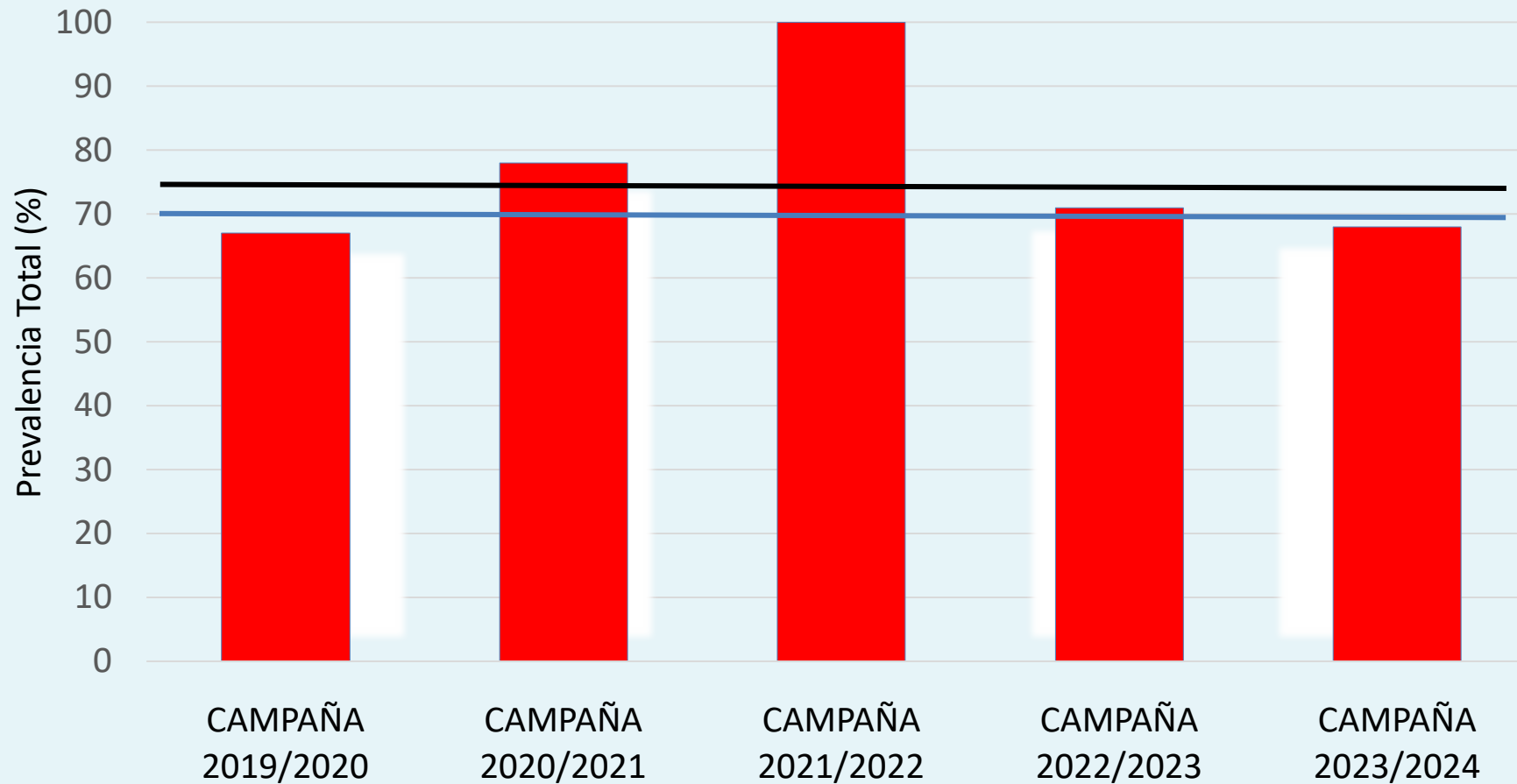
TALLER CIENTÍFICO



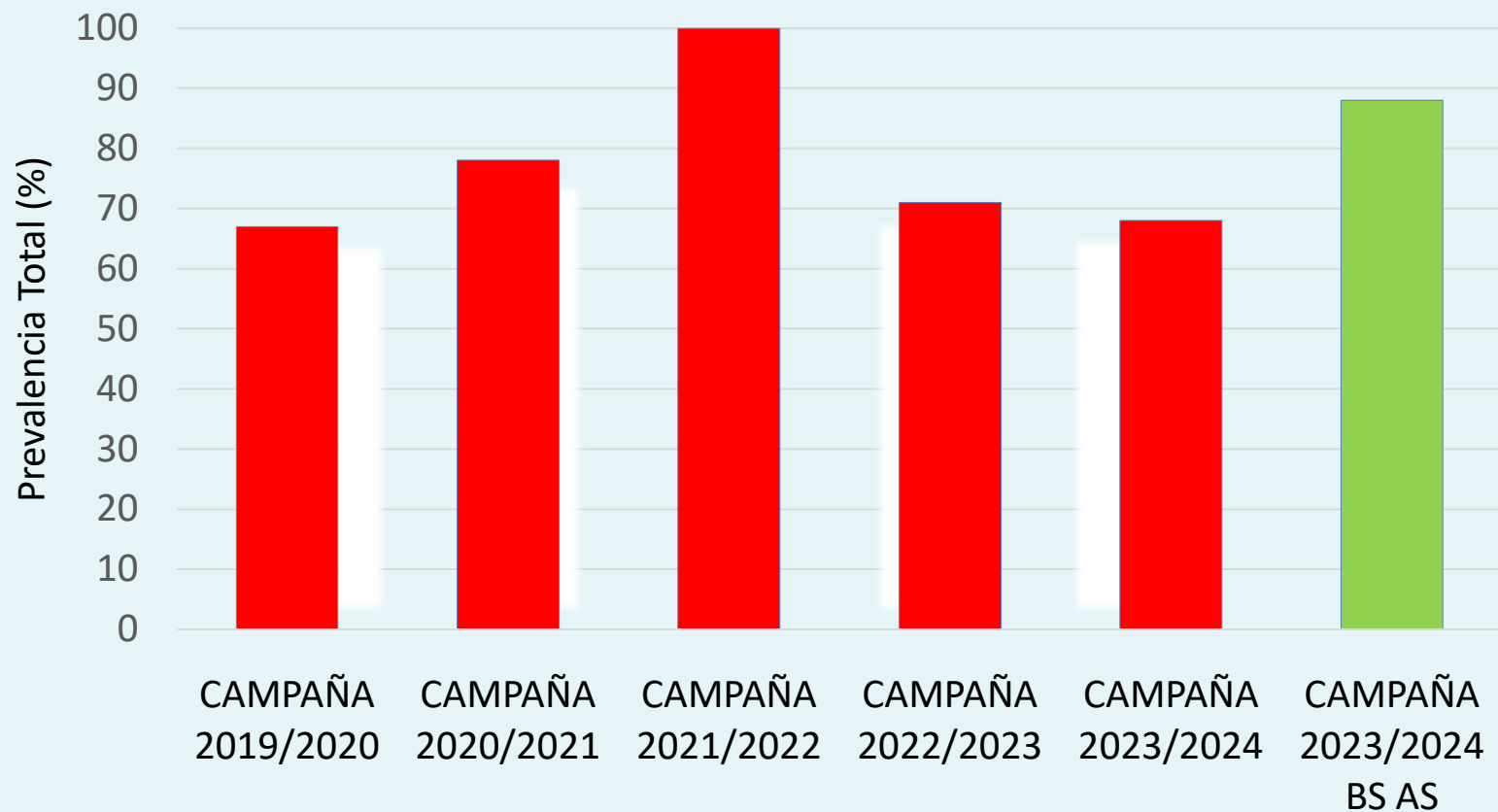
UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Resultados relevamiento



Resultados relevamiento



TALLER CIENTÍFICO

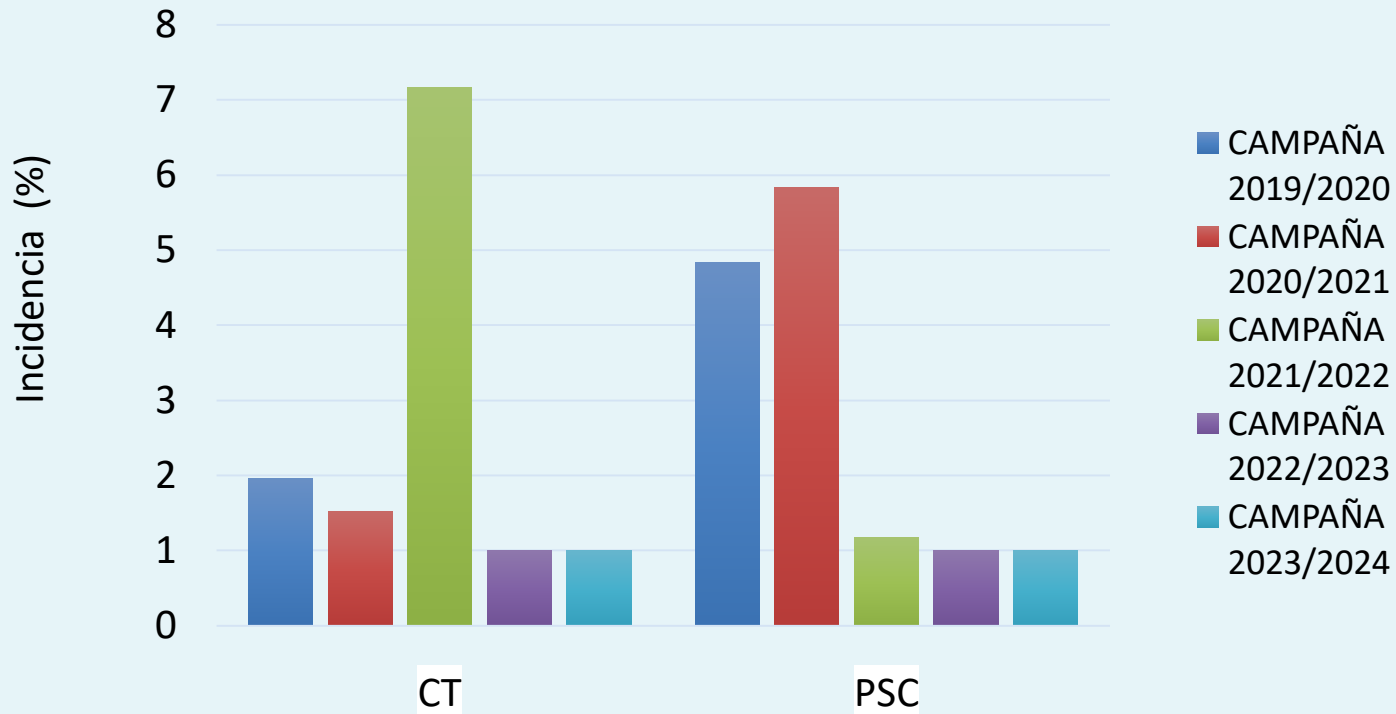


UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



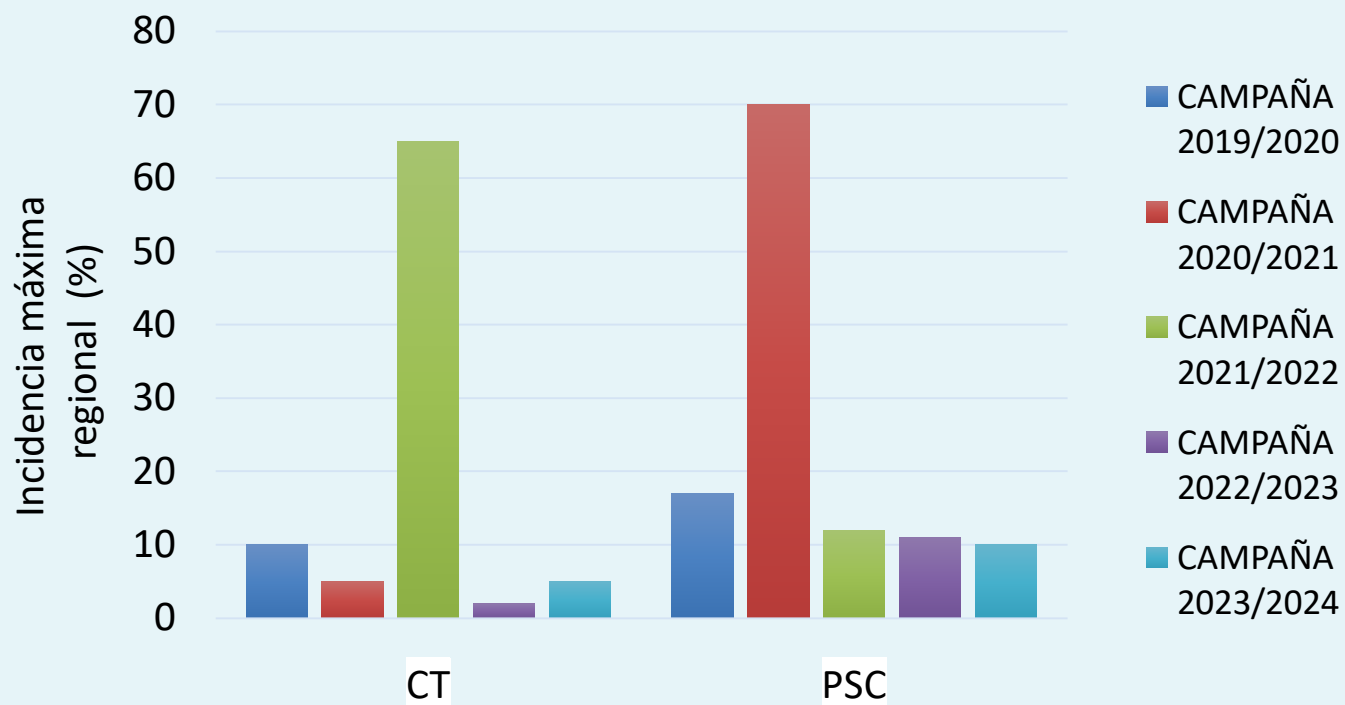
Resultados relevamiento

- Incidencias promedio



Resultados relevamiento

- Máximas incidencias detectadas

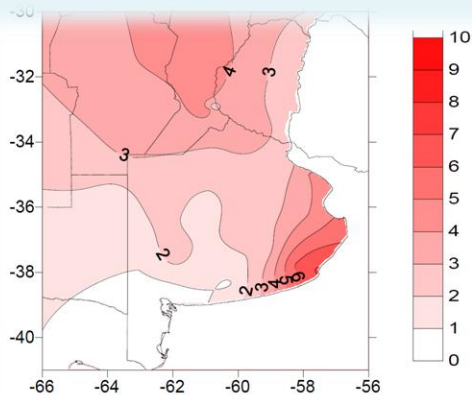


Ensayo de fungicidas

Chacra Experimental Miramar
(-38,150869; -57,986942)

Diseño experimental: BCA
4 repeticiones

Tratamientos aplicados en R1



Escala de evaluación:

- 0 Planta sin síntomas de toxinas
- 1 Planta con síntomas en una o dos hojas y presencia de cancro incipiente
- 2 Planta con síntomas en más de 2 hojas hasta 50 % de hojas, y presencia de cancro
- 3 Planta con síntomas de toxina en varias hojas, presencia de cancro y alguna hoja verde al momento de evaluación
- 4 Planta con todas las hojas secas y presencia de cancro

Figura 3 Distribución espacial de los valores medios de días con ocurrencia de liberaciones severas de ascosporas (PrS>PrL) en el período extendido desde el 1/12 al 15/12



TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Ensayo de fungicidas

Tratamientos	Nombre comercial	Dosis comercial (cm ³ /ha)	Ingrediente activo y concentración	Grupo químico	Código FRAC
1	Control	---	---	---	---
2	Opera	1000	Pyraclostrobin 13.3% + Epoxiconazole 5%	Strobilurin + Triazole	11 + 3
3	Nanok	800	Asoxistrobina 12,5 % + Flutriafol 12,5%	Strobilurin + Triazole	11 + 3
4	Cripton	700	Prothioconazole 17,5% + Trifloxistrobin 15 %	Strobilurin + Triazole	11 + 3
5	Melyra	1000	Mefentrifluconazole 20 % + Pyraclostrobin 20 %	Triazole + Strobilurin	3 + 11
6	GF3307	1500	Fenpicoxamid 5% + Prothioconazole 10 %	Internal Quinone Inhibitor + Triazole	21 + 3
7	Onsuva	330	Fluindapyr + Difenconazole	Carboxamide + Triazole	7 + 3
8	Fidresa	920	Fluindapyr + Prothioconazole	Carboxamide + Triazole	7 + 3
9	Orquesta Ultra	1200	Fluxapyroxad 5% + Pyraclostrobin 8,1% + Epoxiconazole 5%	Carboxamide + Strobilurin + Triazole	7 + 11 + 3
10	BAS 760 F	1330	Fenpropimorf 53,3 % + Mentrifluconazole 20 %	Morpholine + Triazole	5 + 3



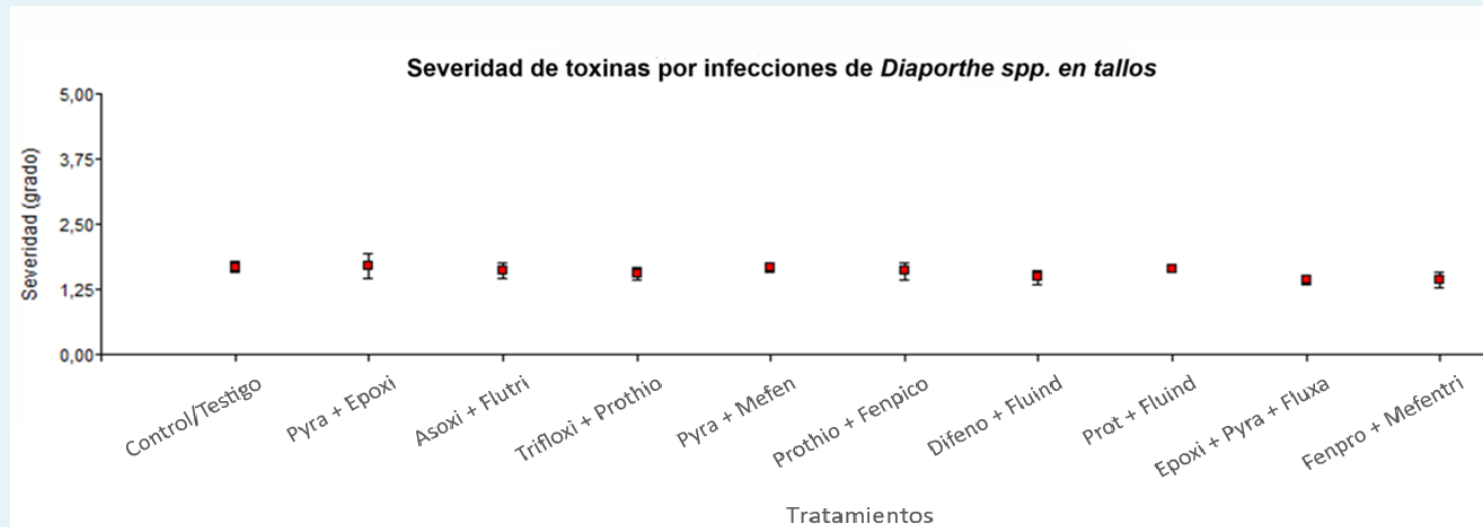
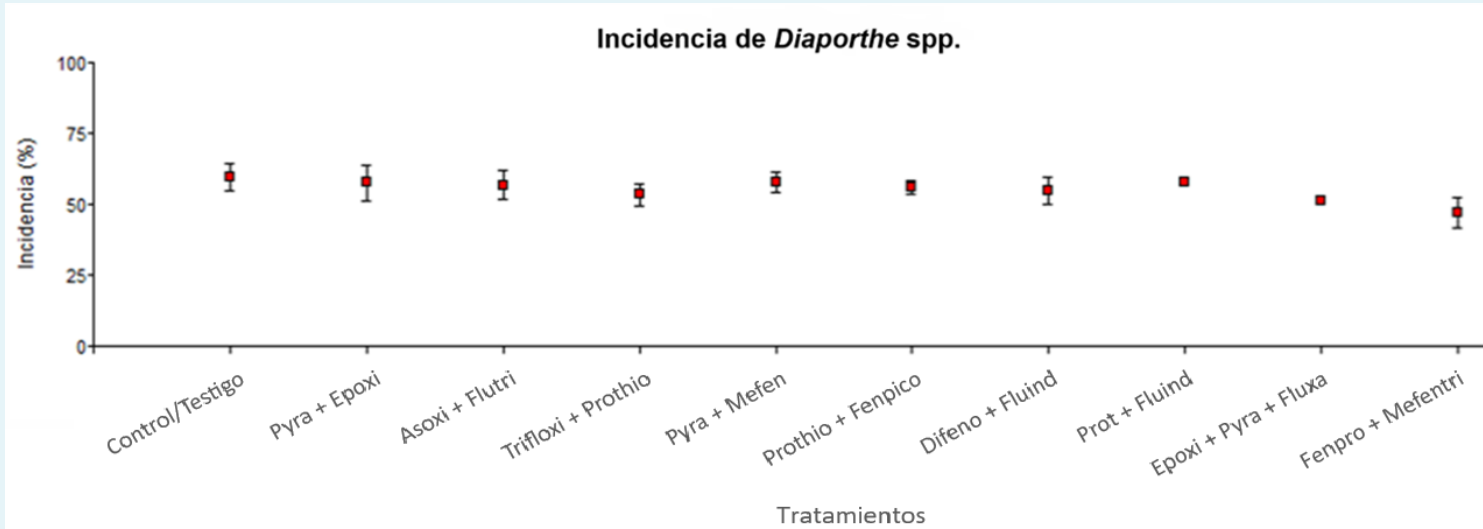
TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Resultados ensayo de fungicidas



La incidencia de CT sobre el testigo fue de 60%.



TALLER CIENTÍFICO

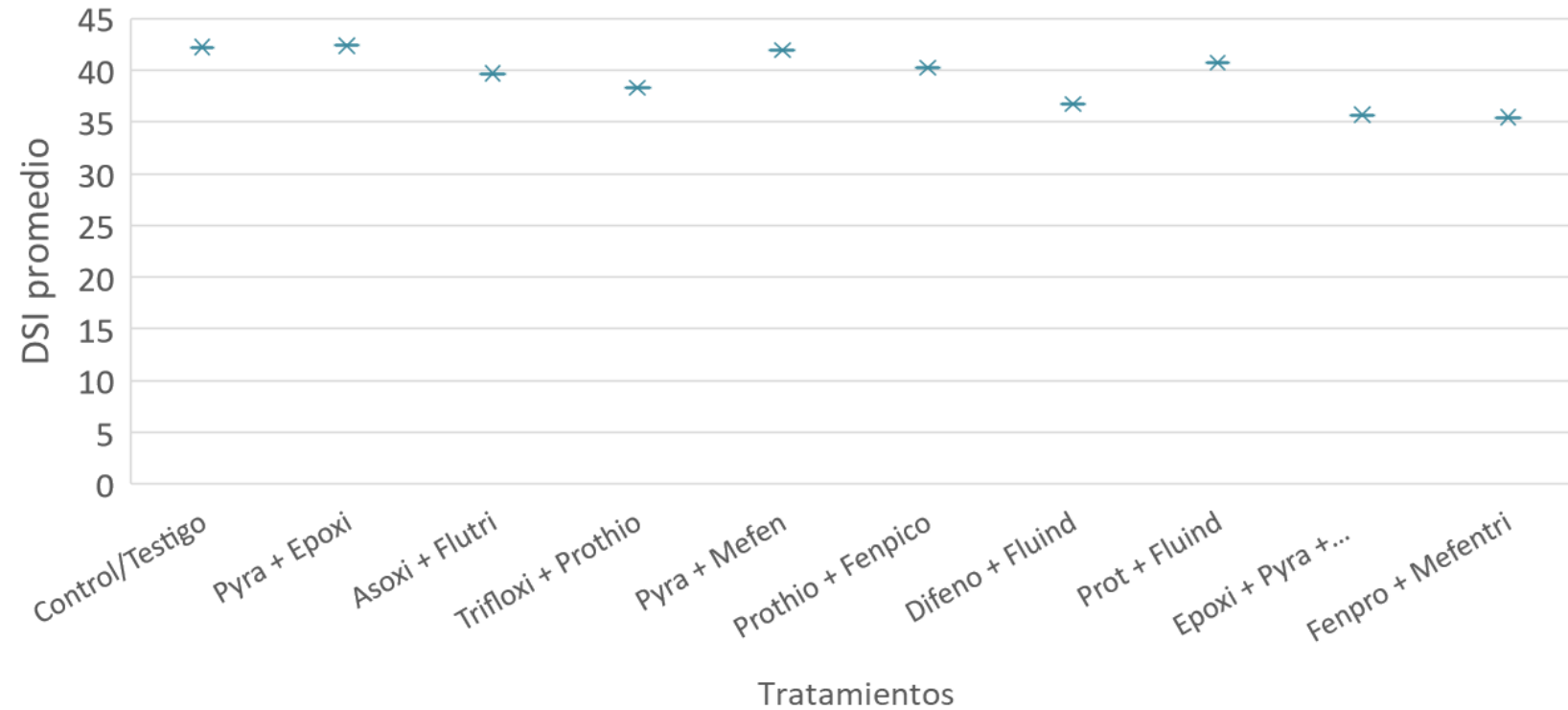


UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Índice DSI

$$DSI (\%) = \frac{\sum(P \times Q)}{(M \times N)} \times 100$$



Kashyap, R., Markell, S. G., Harveson, R. M., Rekabdarkolae, H. M., & Mathew, F. M. (2023). Application of Pyraclostrobin Fungicide at Miniature Floral Head Development Growth Stage Is Efficacious Against Phomopsis Stem Canker Fungi in Sunflower (*Helianthus annuus*). *Plant Health Progress*, 24(1), 24-31.



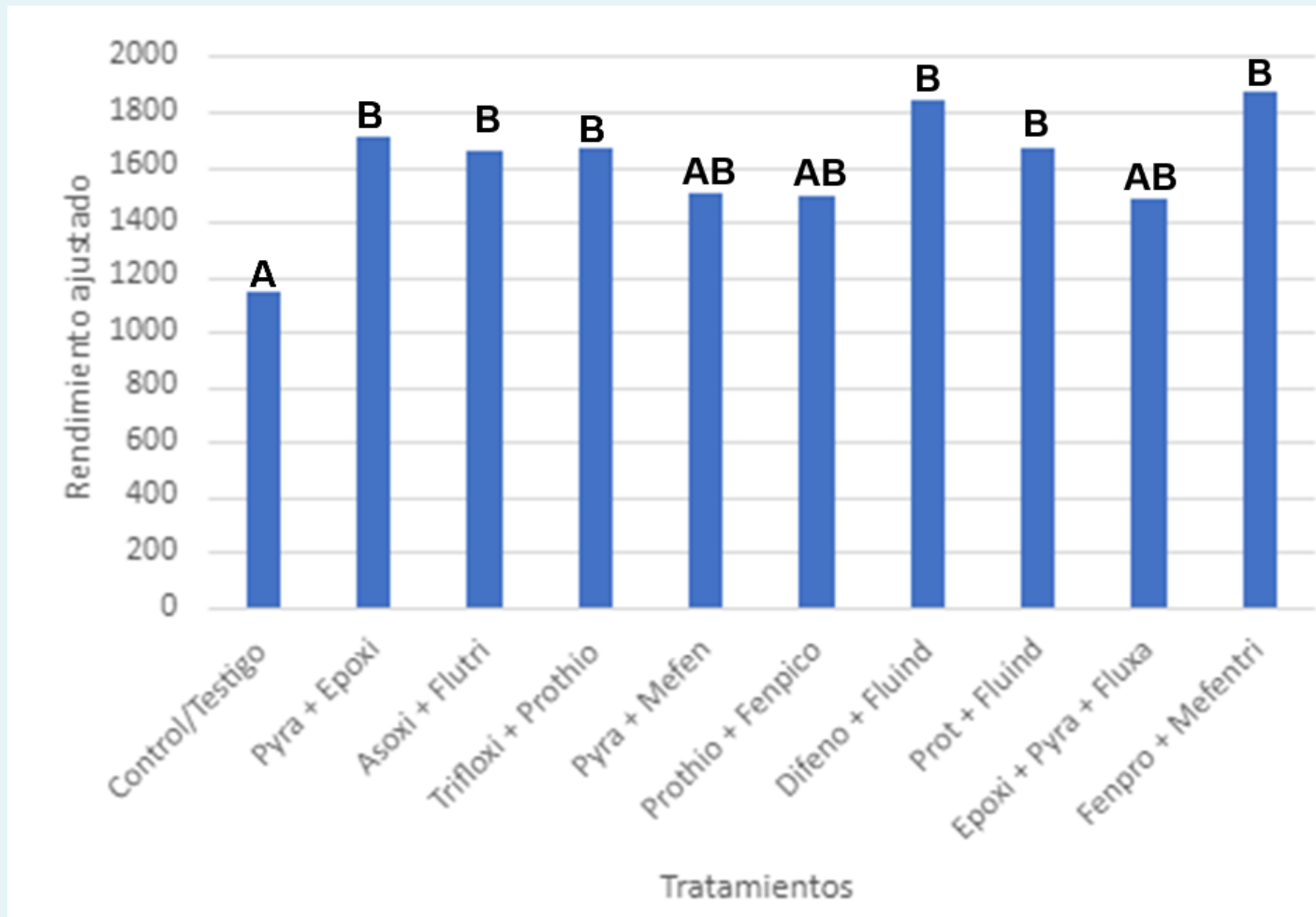
TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Rendimiento ajustado



- No se encontraron diferencias significativas en rendimiento y contenido de materia grasa.
- Seis de los tratamientos con fungicidas evaluados aumentaron el rendimiento bonificado por materia grasa con relación al testigo, pero no se diferenciaron del resto.
- La media de aumento por aplicación de fungicida alcanzó el 45% (515 kg/ha).



Experiencia en North Dakota State University

Plant Pathology Department

Research Scholar



TALLER CIENTÍFICO

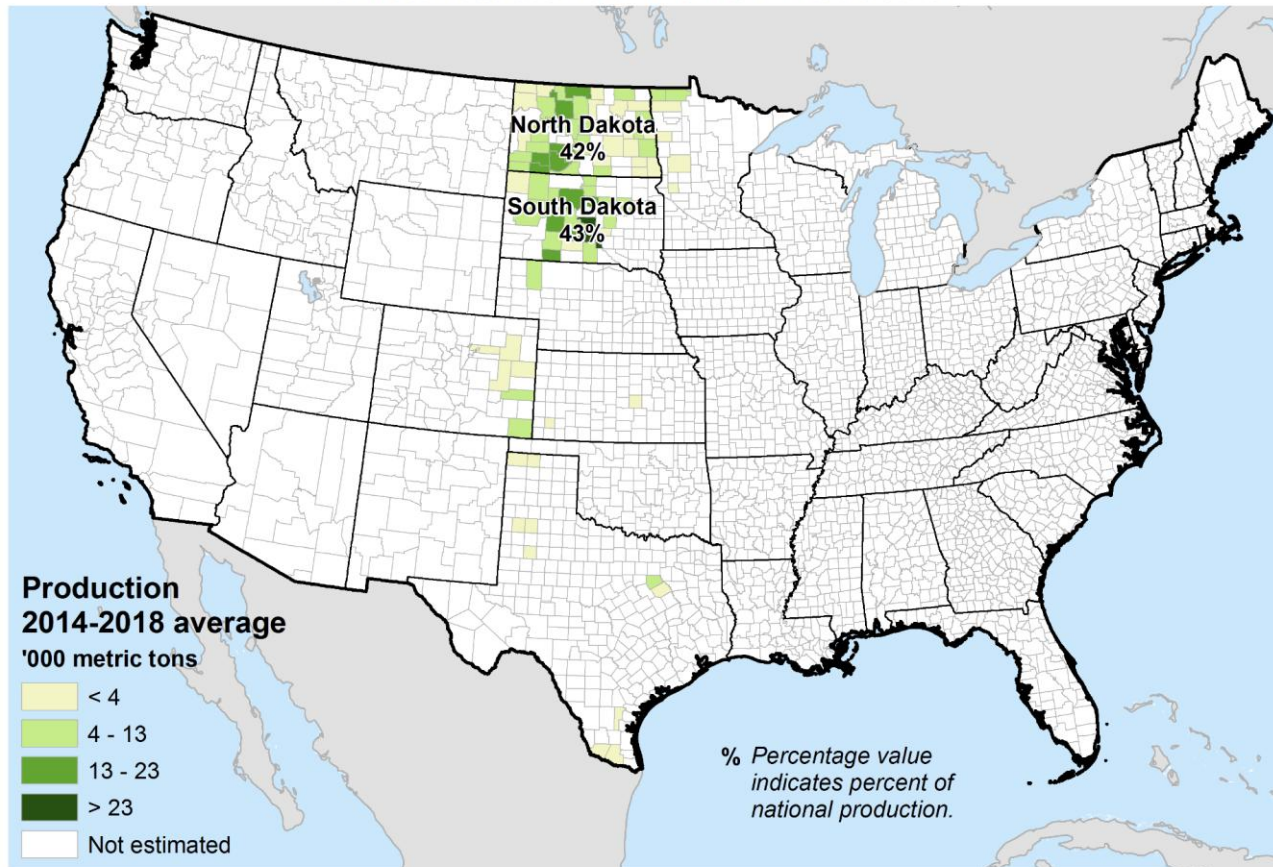


UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



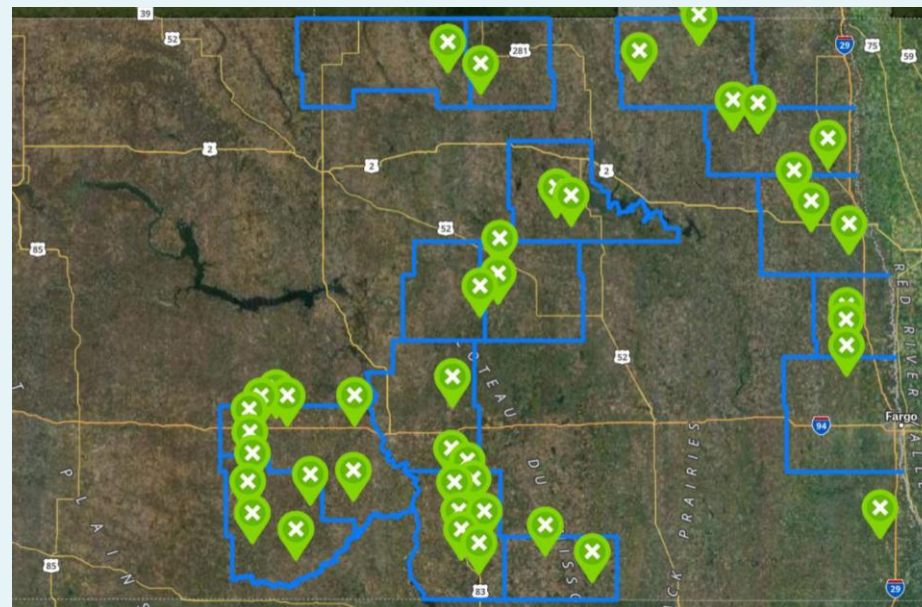
Relevamiento en North Dakota

United States: Sunflower Production



USDA Foreign Agricultural Service
Global Market Analysis
International Production Assessment Division

Source: U.S. Department of Agriculture,
National Agricultural Statistics Service



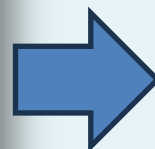
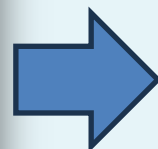
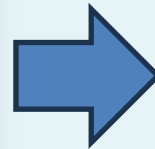
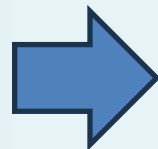
<https://www.sunflowerusa.com/uploads/research/1431/NSAPaperforJanuaryPresentationSubmittedFinal.pdf>

Validación de genes candidatos para *D. helianthi*

- Inoculaciones en cámara con control de temperatura y humedad



Extracción de RNA y cDNA



✓ QIAGEN RNeasy Plant
Mini Kit (Qiagen Sciences,
Maryland, USA)

✓ NanoDrop spectrophotometer
✓ Quality and quantity of RNA

✓ cDNA synthesis
✓ High-Capacity RNA-to-cDNA™ Kit
(Thermo Fisher Scientific Baltics UAB)



TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



PCR cuantitativa

Primers diseñados a partir de un estudio previo GWAS. (Guidini et al. 2023)

Candidate Gene	Chromosome Number	Biological function description
Ha412HOChr09g0421111	9	F-box/kelch-repeat protein At1g74510
Ha412HOChr12g0549821	12	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase
Ha412HOChr04g0150221	4	Disease resistance protein RPV1 isoform X1
Ha412HOChr16g0758001	16	Probable WRKY transcription factor 31



Análisis de datos

- The genes' relative expression levels were calculated using the $2^{-(\Delta\Delta CT)}$ method (Schmittgen and Livak 2008)

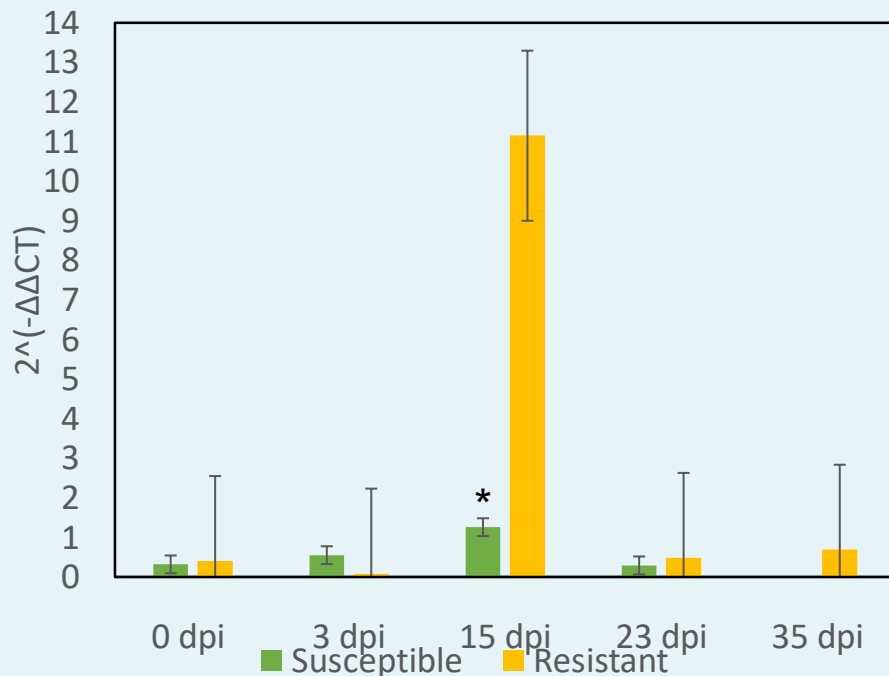
$$\Delta CT = CT(\text{target gene}) - CT(\text{reference gene})$$
$$\Delta\Delta CT = \Delta CT(\text{inoculated plant}) - \Delta CT(\text{uninoculated})$$

- A fold change of '1' at $P < 0.05$ was regarded as cutoff for differential expression
- One-way ANOVA and Tukey HSD using 'Agricolae' package in R v4.3.0



Análisis de Expresión relativa

- ***Ha412HOChr11g0518081* (B-box zinc finger gene family)**



A significant time effect was observed for susceptible and resistant (P= 0,0001)

- Genotipo susceptible
15 dpi
Fold change = > 1

- Genotipo resistente
15 dpi
Fold change = > 11

Colombo, D., Mohan, K., Rafi, N., Markell, S., Harveson, R., Paniego, N. B., & Mathew, F. (2023) Validating Candidate Genes Associated with *Diaporthe helianthi* Causing Phomopsis Stem Canker of Sunflower [Abstract]. ASA, CSSA, SSSA International Annual Meeting, St. Louis, MO.

<https://scisoc.confex.com/scisoc/2023am/meetingapp.cgi/Paper/155491>



TALLER CIENTÍFICO

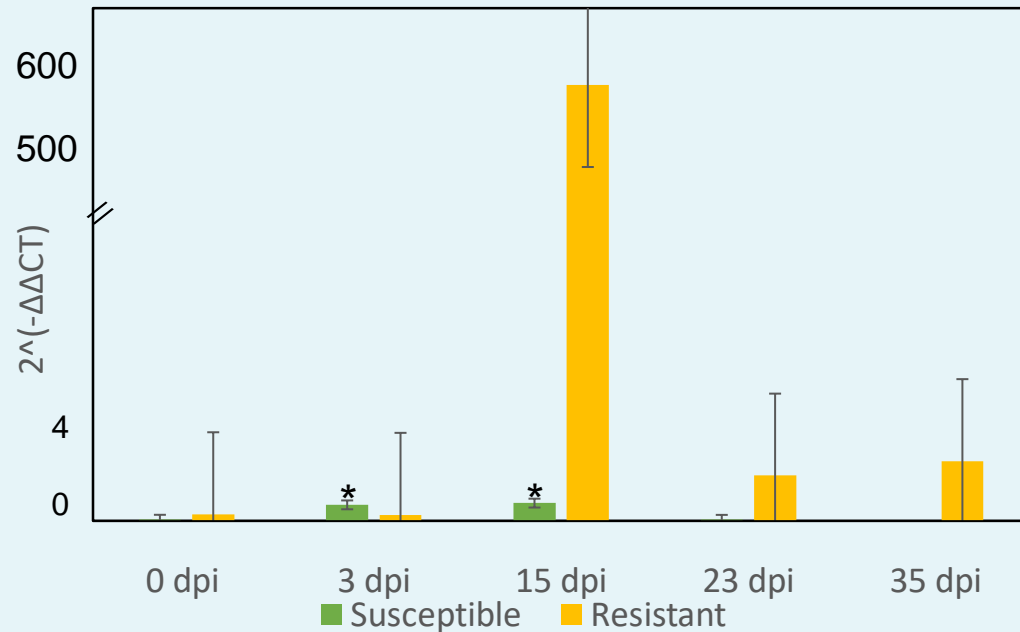


UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Análisis de Expresión relativa

- ***Ha412HOCh08g0344501* (Adenosine diphosphate-Ribosylation Factor family)**



A significant time effect was observed for susceptible and resistant ($P= 0,0001$)

- Genotipo susceptible
3 dpi y 15 dpi
Fold change = > 1
- Genotipo resistente
15 dpi
Fold change = > 500

Colombo, D., Mohan, K., Rafi, N., Markell, S., Harveson, R., Paniego, N. B., & Mathew, F. (2023) Validating Candidate Genes Associated with *Diaporthe helianthi* Causing Phomopsis Stem Canker of Sunflower [Abstract]. ASA, CSSA, SSSA International Annual Meeting, St. Louis, MO.

<https://scisoc.confex.com/scisoc/2023am/meetingapp.cgi/Paper/155491>



TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Consideraciones Finales

- El inóculo de *D. helianthi* se encuentra distribuido en toda la región girasolera estudiada.
- Continuar con evaluaciones de tratamientos fungicidas para CT y PSC como complemento de la mejora genética de híbridos.
- La técnica de inoculación presentada es una herramienta consolidada en la validación de genes candidatos.





TALLER CIENTÍFICO

Gracias

por su atención



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS

