



TALLER CIENTÍFICO



Caracterización de la diversidad y estructura genética de *Verticillium dahliae* de girasol en Argentina e identificación de marcadores para discriminación de posibles razas

Aguilera, P.; Colombo, D. ; Ben Guerrero, E. ; Montecchia, J.F. ; Troglia, C. ; Corro Molas A. ; Maringolo, Carla , Deperi, S. ; Lia, V. ; Martínez, M. C. ; Paniego, N.

Respuesta diferencial del bacterioma rizosférico de líneas endocriadas de girasol inoculadas con *Verticillium dahliae*

Ben Guerrero, E.; Lasa, A.V., Aguilera, P.; Fernández González, A.; Martínez, M.C.; Fernández López, M.; Paniego, N.

Grupo Genómica de Girasol



Marchitamiento por *Verticillium dahliae*

- Causada por el hongo de suelo *Verticillium dahliae*.
- Afecta a más de 200 especies dicotiledóneas.
- Persiste en los suelos por periodos de entre 10 -15 años.
- El inóculo está presente en el sur de Buenos Aires y el centro-Este de La Pampa que representan más del 50% de la superficie total cultivada con girasol.



TALLER CIENTÍFICO

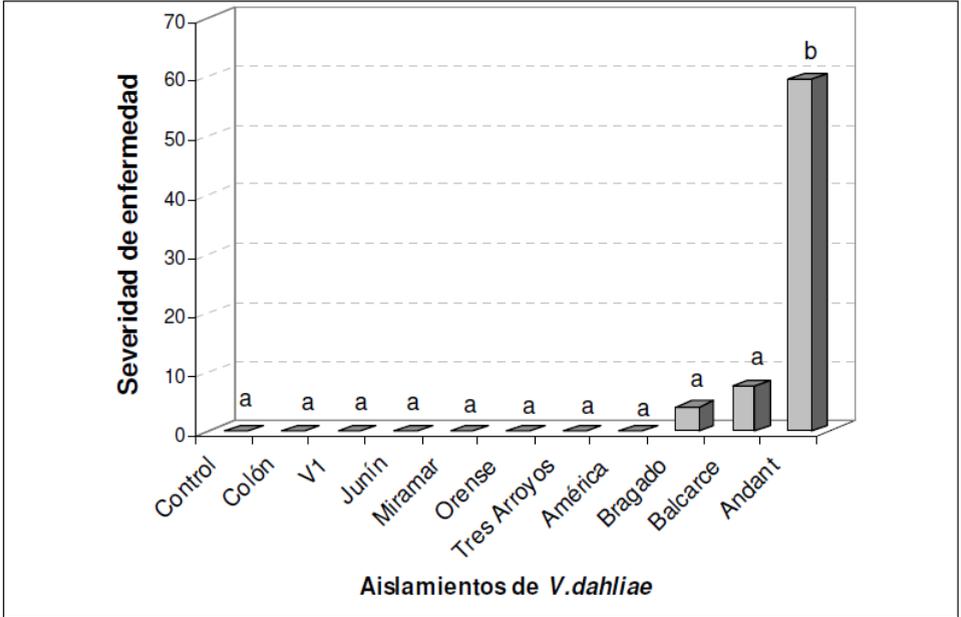
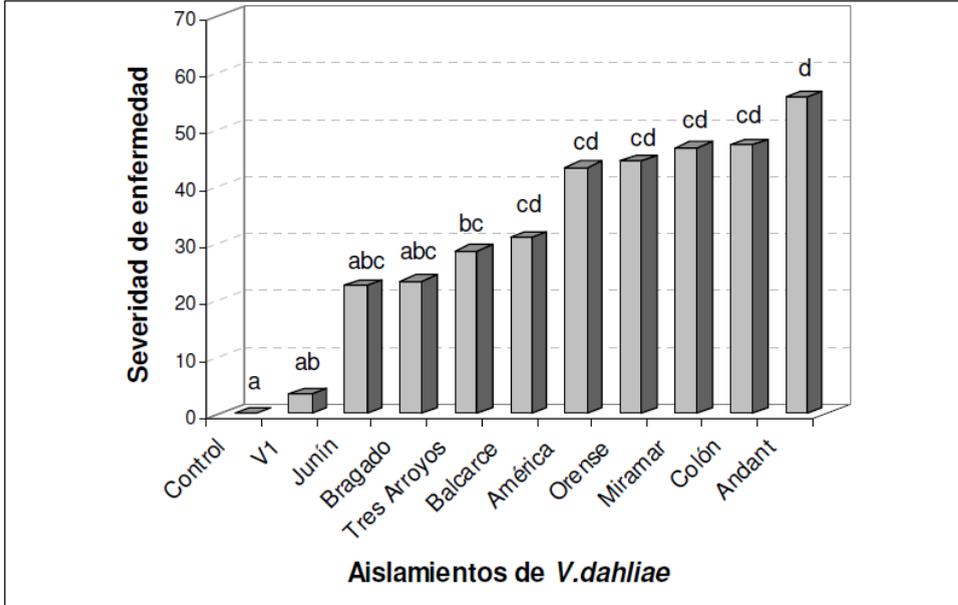
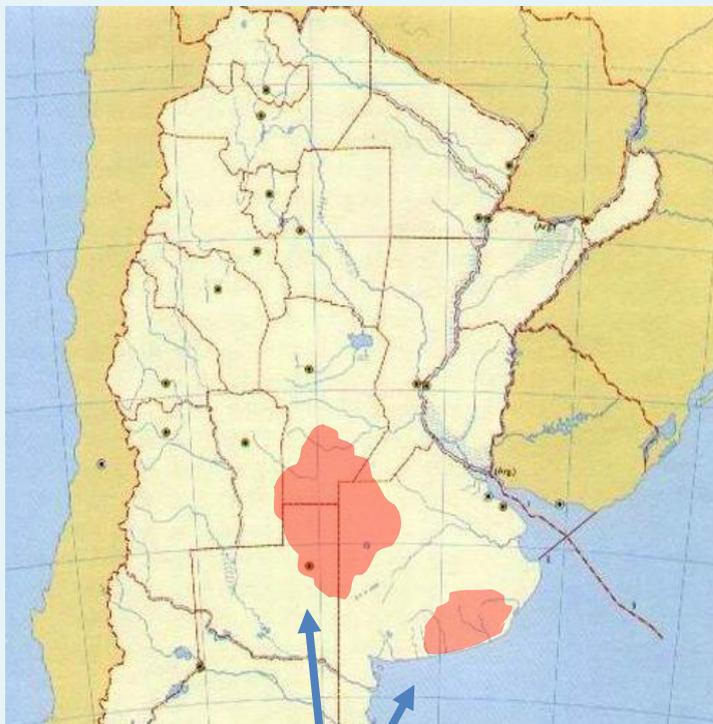


UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Verticillium dahliae en la región

Colón -> Raza 1
Andant -> Raza 2



~50% del área dedicada al cultivo de girasol

Patogenicidad de cepas de *V. dahliae* en el híbrido susceptible Cauquén y resistente Paraíso 22. (Clemente et. Al, 2017)



TALLER CIENTÍFICO



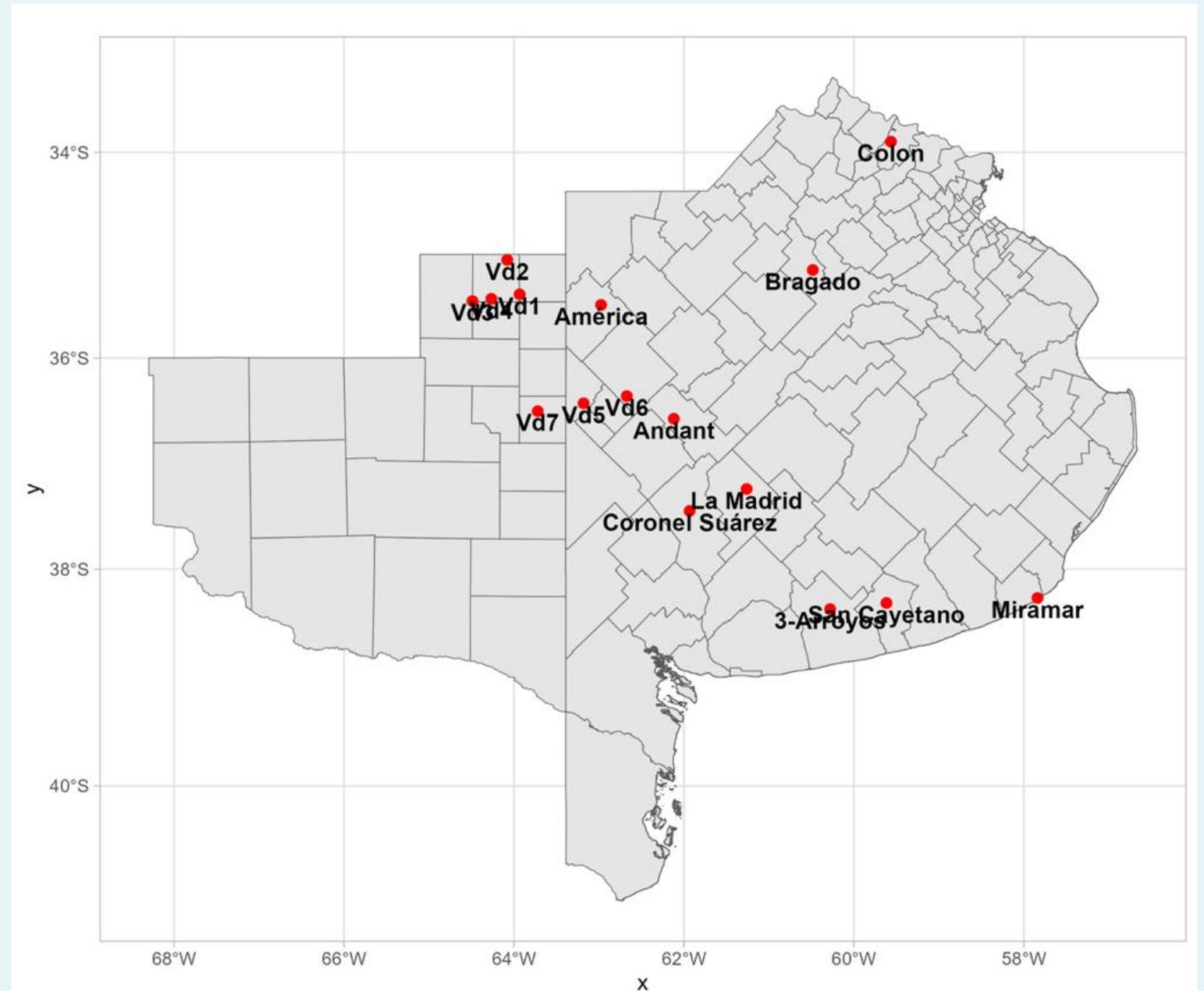
UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



Muestreo

17 aislamientos argentinos

- 10 de EEA INTA Balcarce (Bs. As.)
- 7 de EEA INTA Anguil (La Pampa)



TALLER CIENTÍFICO

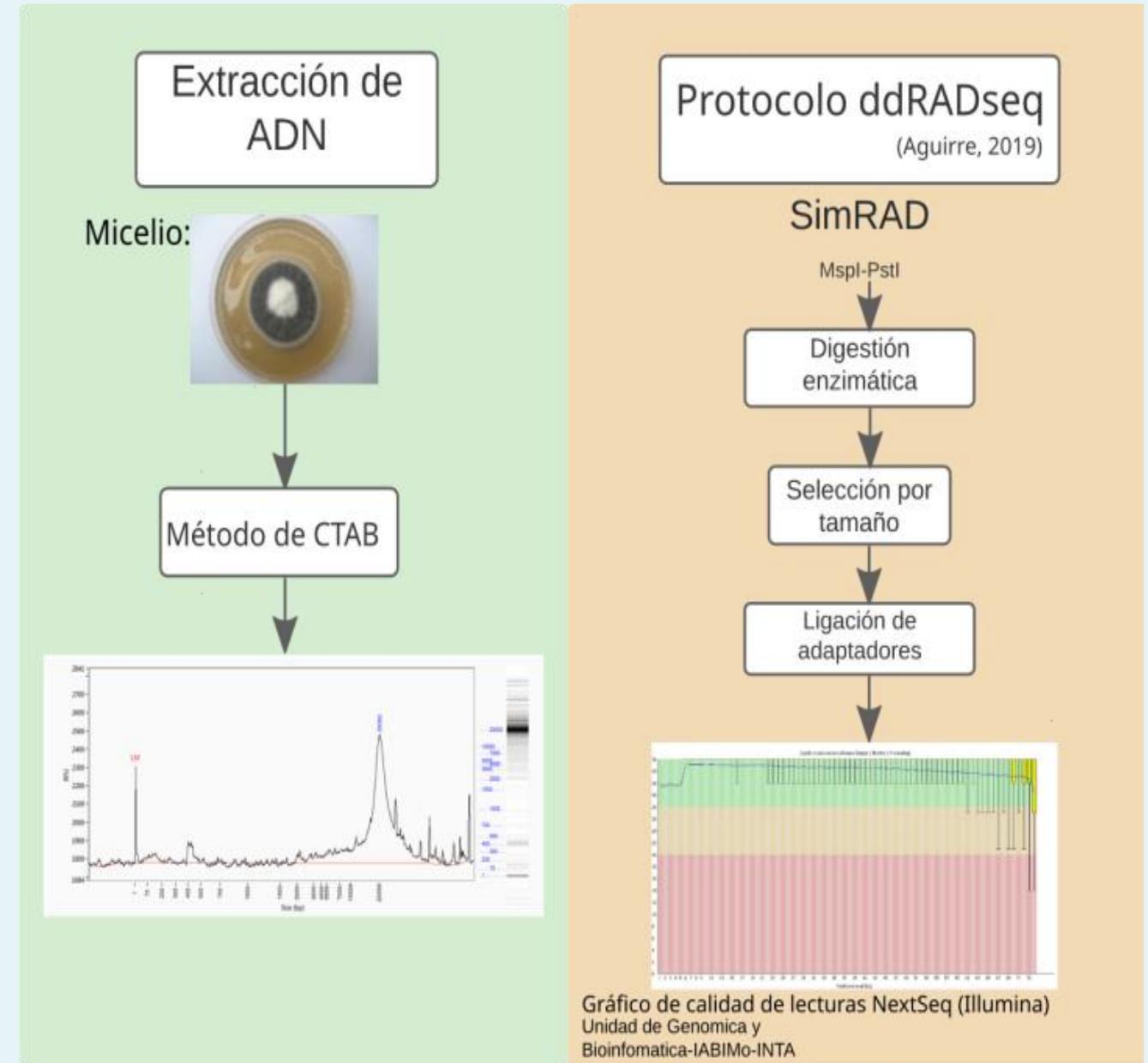


UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS

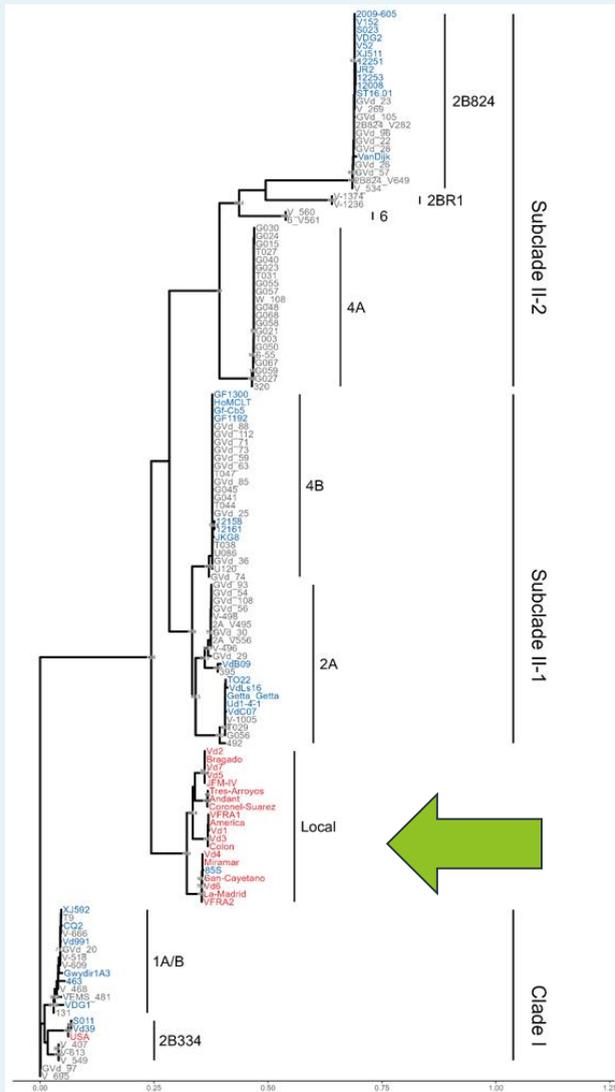


Análisis por ddRAD-seq

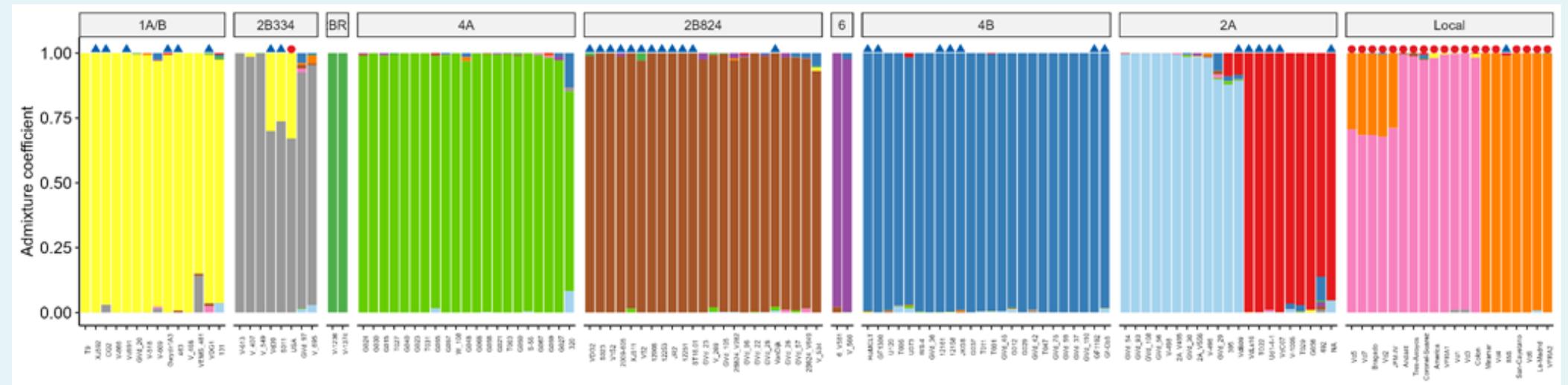
- En este trabajo se caracterizaron 20 aislamientos de *Verticillium dahliae* mediante la técnica de genotipificación por secuenciación, ddRAD-seq.
- 17 aislamientos locales
- 2 aislamientos franceses
- 1 aislamiento de EE.UU



Análisis de los linajes de *V. dahliae*



- Se obtuvieron 1.165 SNPs
- Los aislamientos argentinos y franceses se encuentran en un clado propio

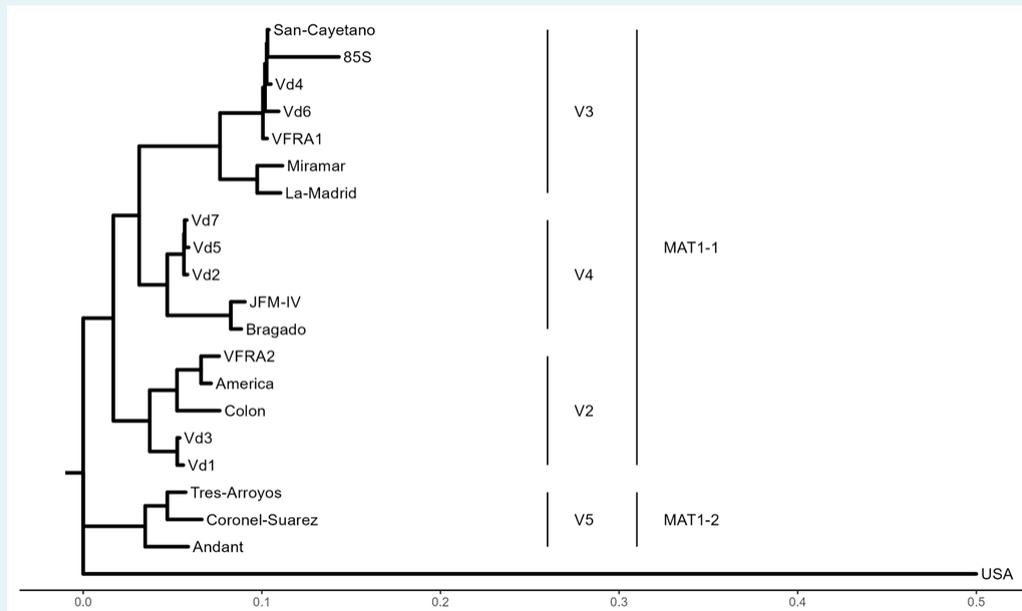


Análisis del nuevo clado

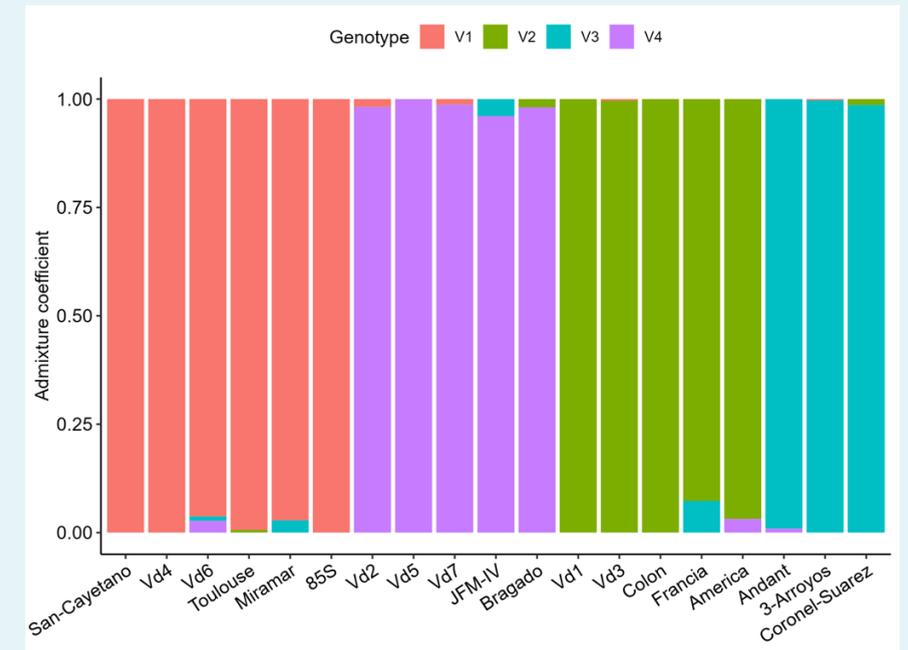
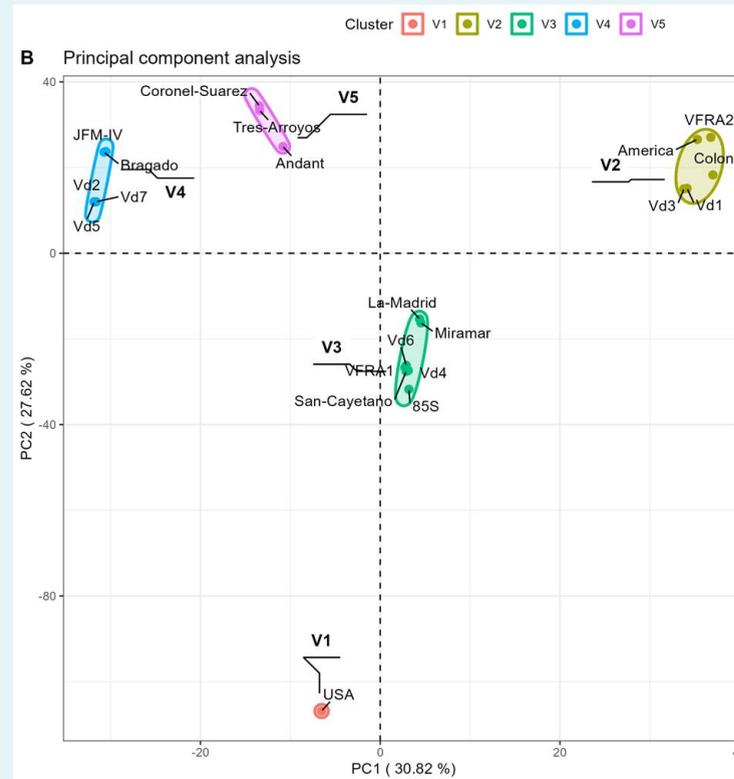
Se obtuvieron 16.471 SNPs

Se identifican 4 grupos

+400 posiciones informativas

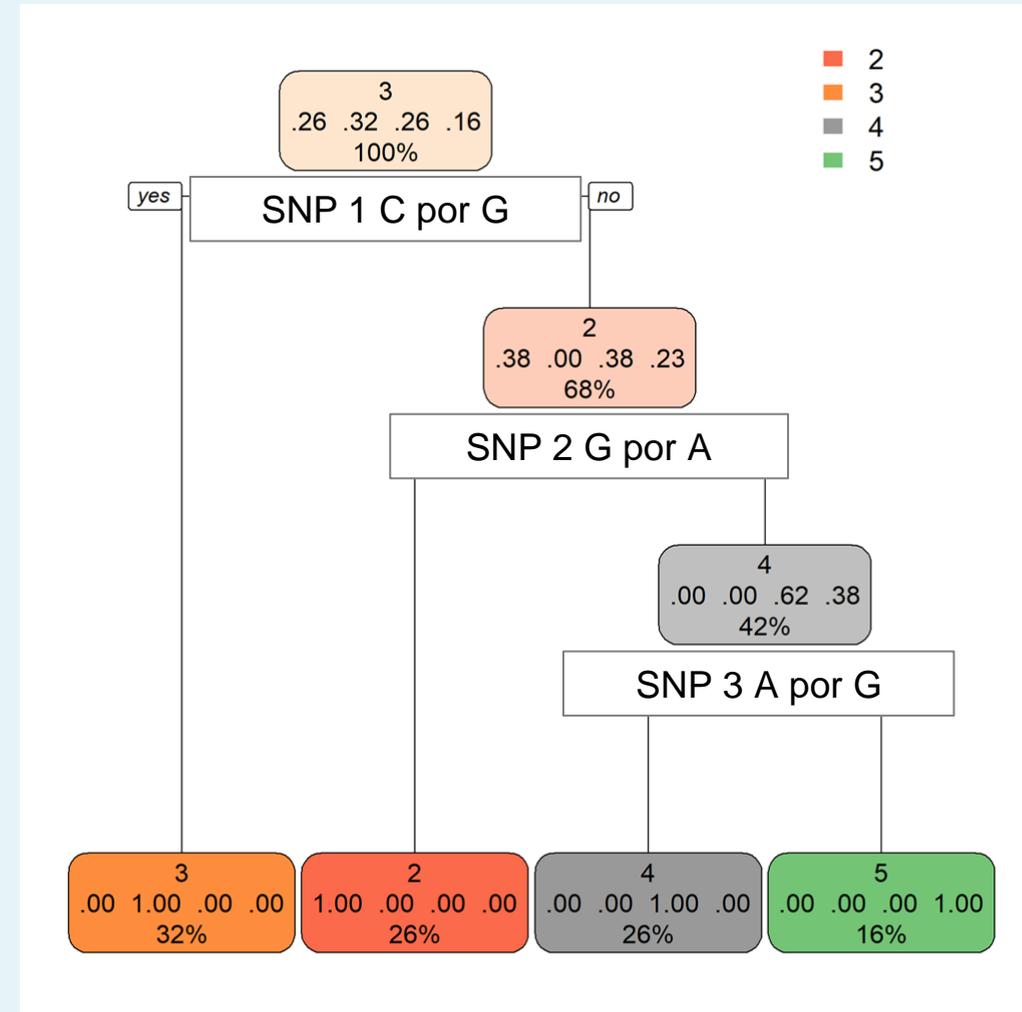
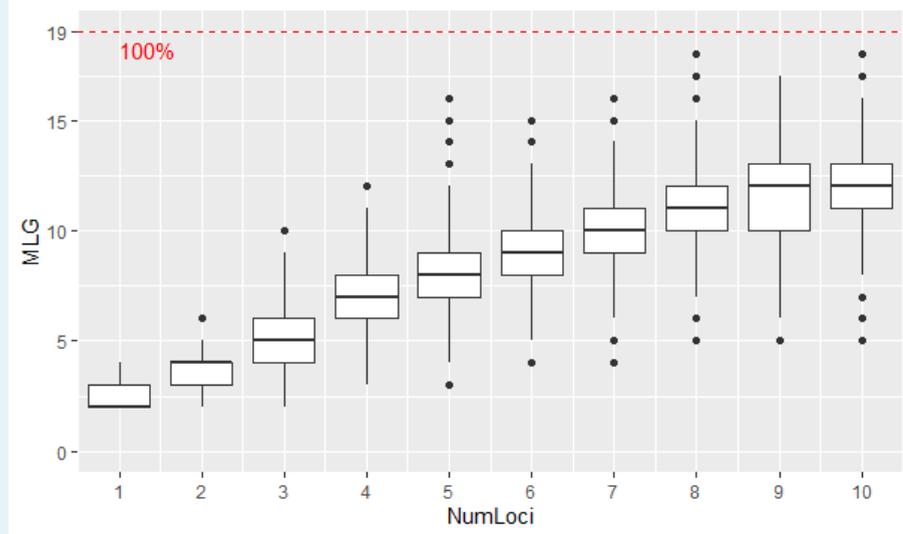


Los aislamientos de un grupo amplifican un idiotipo MAT distinto al resto



Identificación molecular de grupos

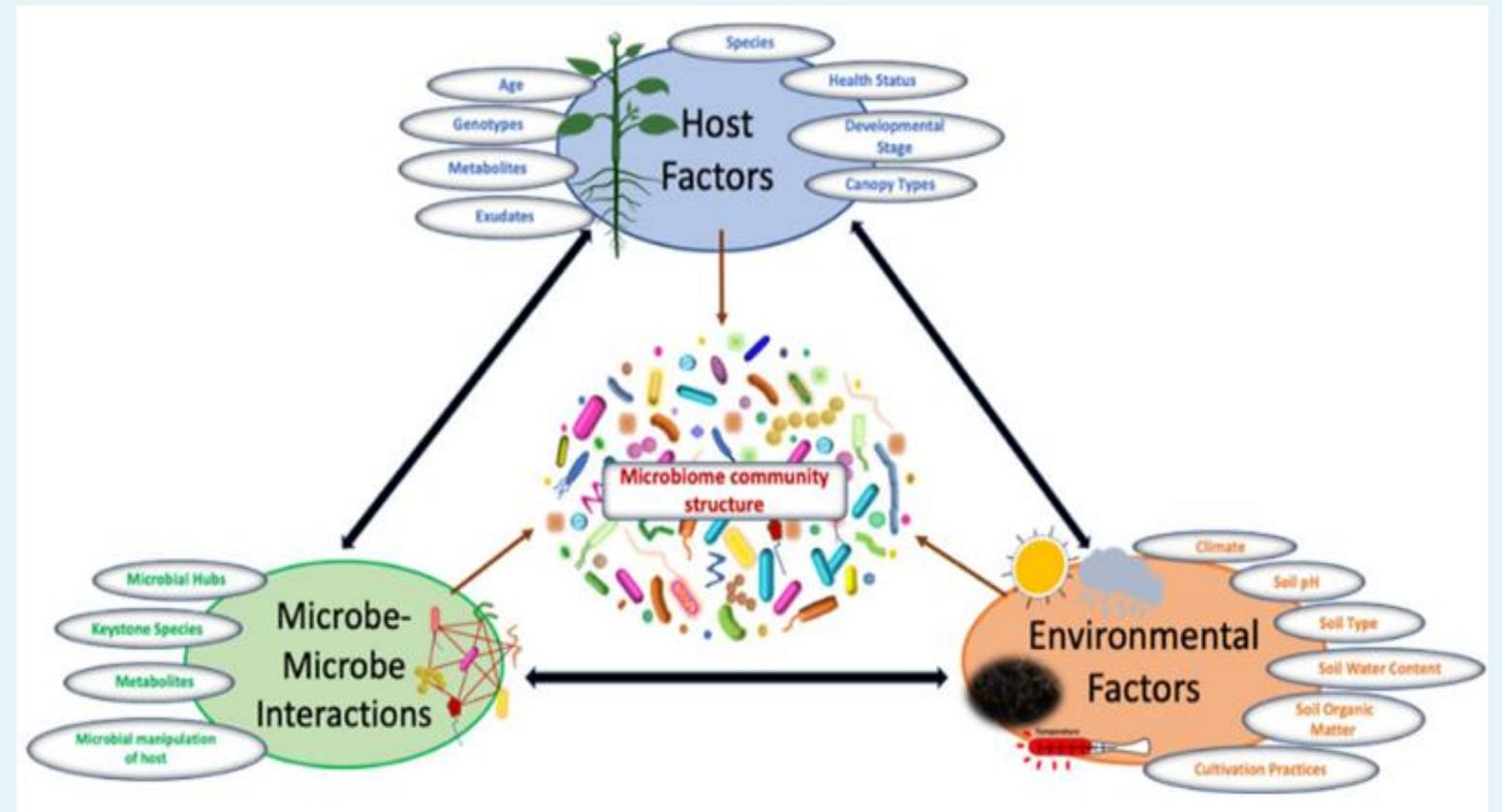
Con 10 SNPs se pueden distinguir todos los individuos y con 3 SNPs se pueden discriminar los 4 grupos.



Microorganismos rizoféricos

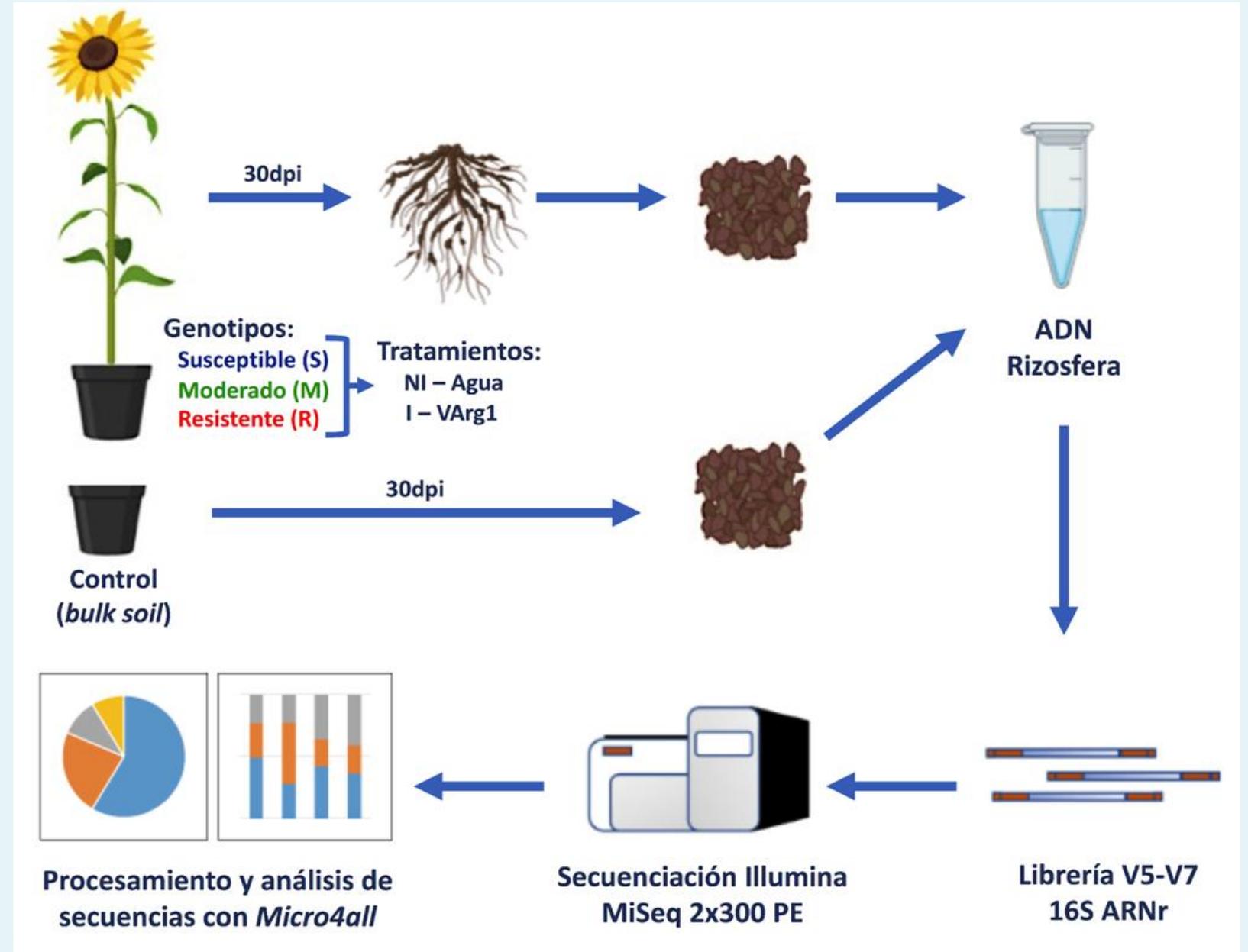
La **rizosfera**, es definida como la interfaz raíz-suelo de las plantas, alberga diversos microorganismos como bacterias, arqueas, hongos, nematodos, protozoos, invertebrados y otros organismos que interactúan entre sí.

- El ensamblaje de los microbiomas no ocurre al azar, sino que su formación depende de las interacciones binarias planta-microbio y del contexto de la comunidad, incluidas las interacciones microbio-microbio y microbio-planta-microbio.
- El microbioma de la rizosfera juega un rol importante en la salud de las plantas.
- La variación genética intra-específica puede alterar las comunidades de la rizosfera asociada.



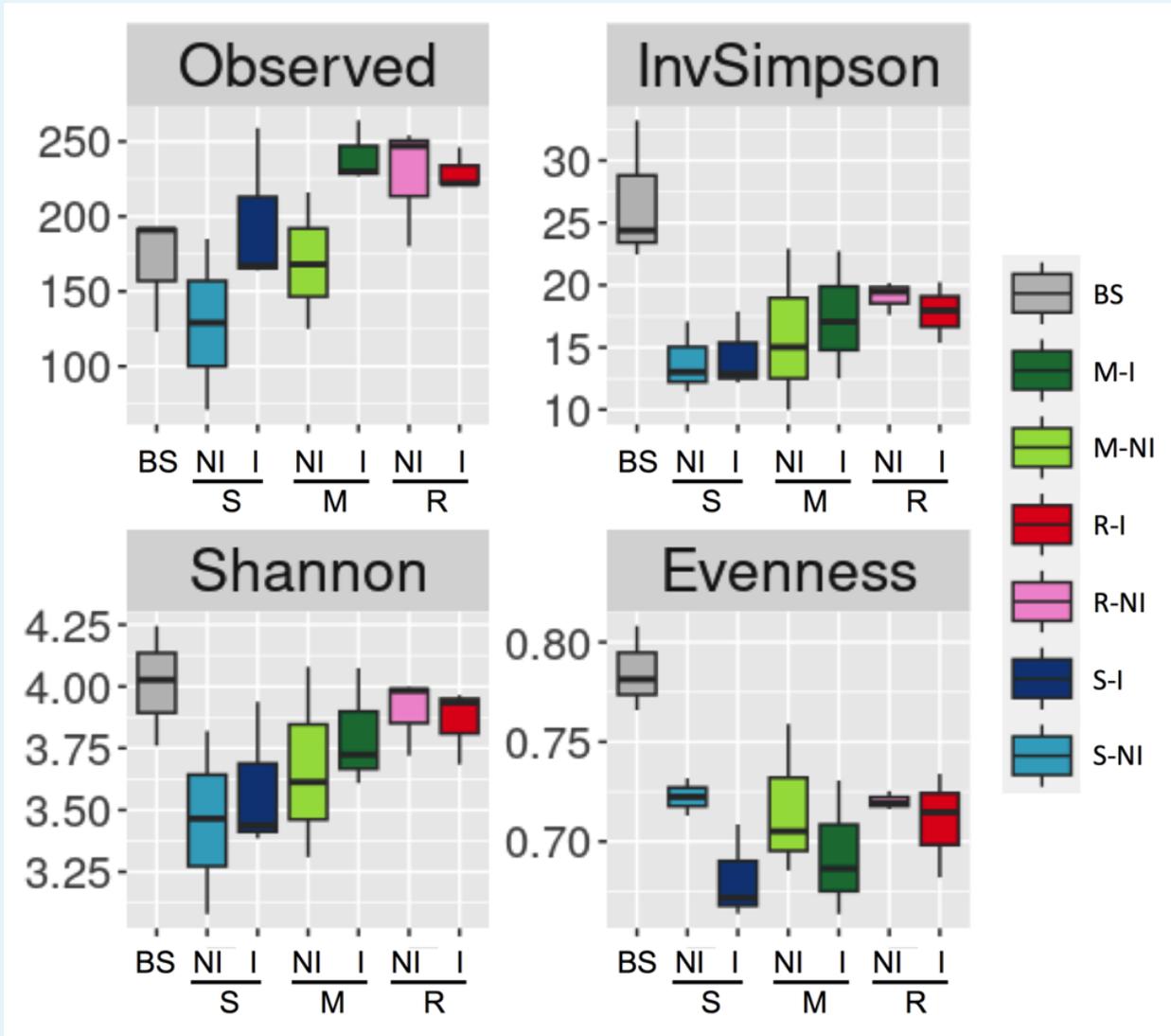
Objetivo y diseño experimental

El objetivo de este trabajo consiste en estudiar el efecto del genotipo de tres líneas endocriadas (LEs) de girasol, que difieren en su resistencia a la marchitez por *Verticillium*, sobre la composición y estructura de la comunidad bacteriana presente en la rizosfera asociada en presencia de *Verticillium dahliae*.

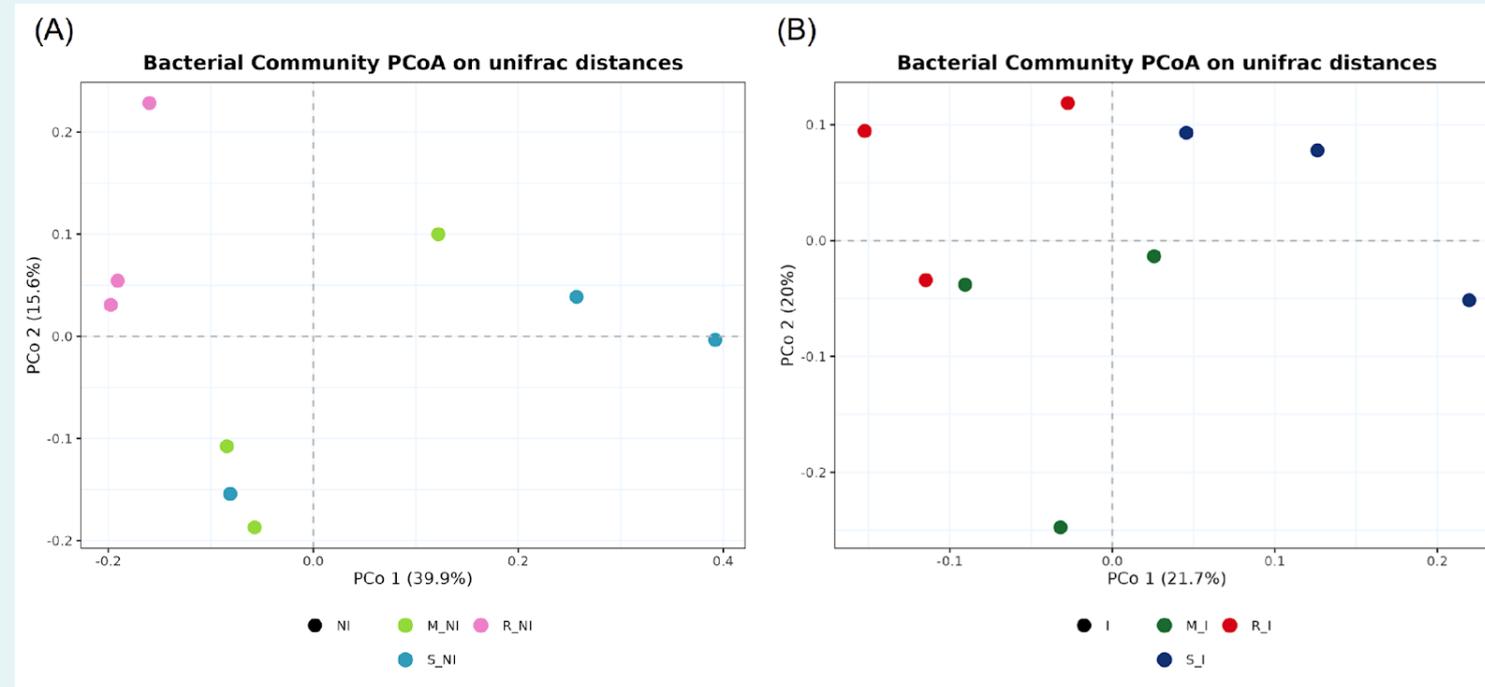


Análisis de la diversidad bacteriana

Diversidad alfa



Diversidad beta

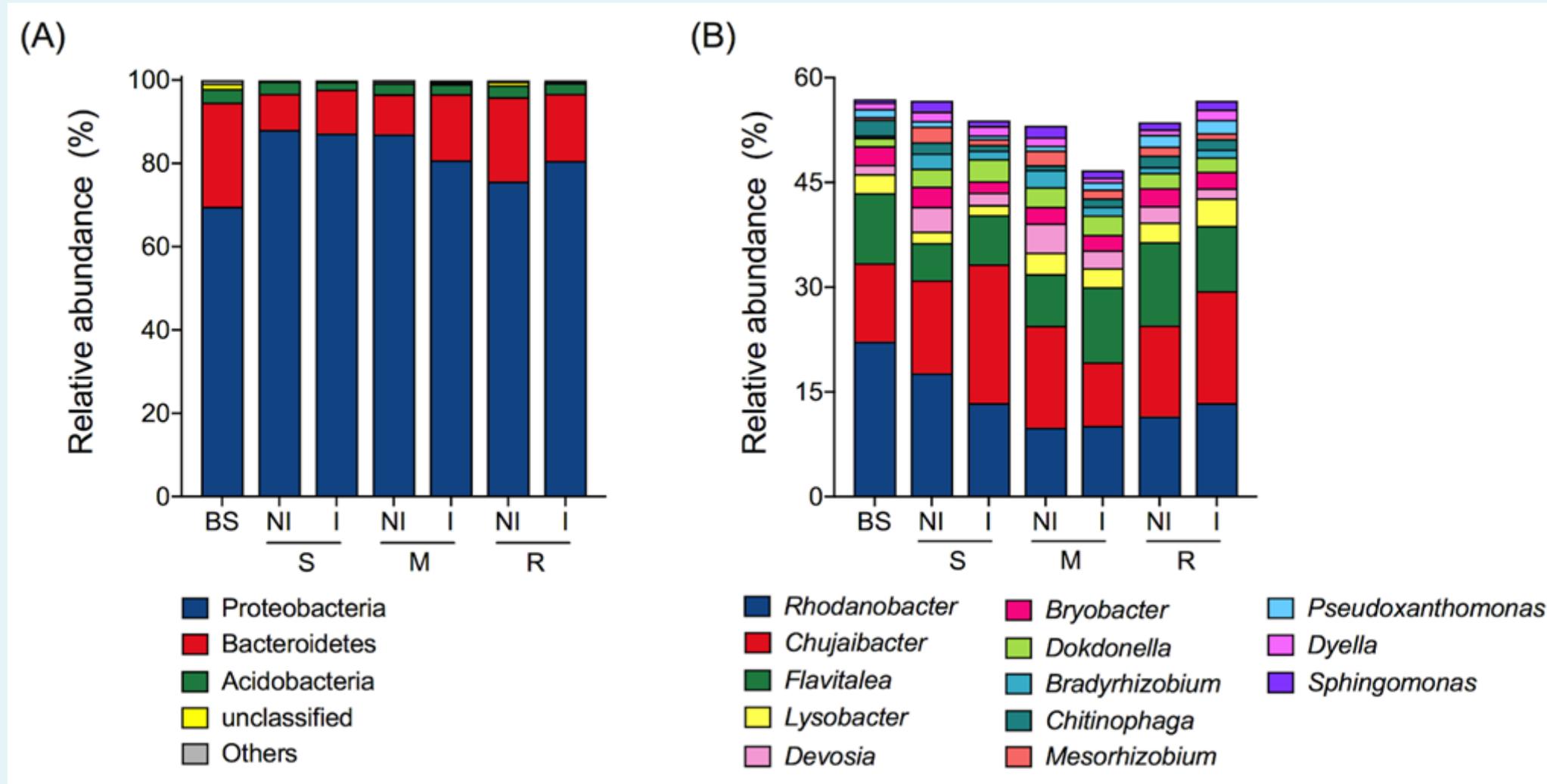


PERMANOVA

Analysis level	Unifrac		BETADISPER
	R2	p-value	p-value
Phenotype NI	0.50565487	0.002	0.299



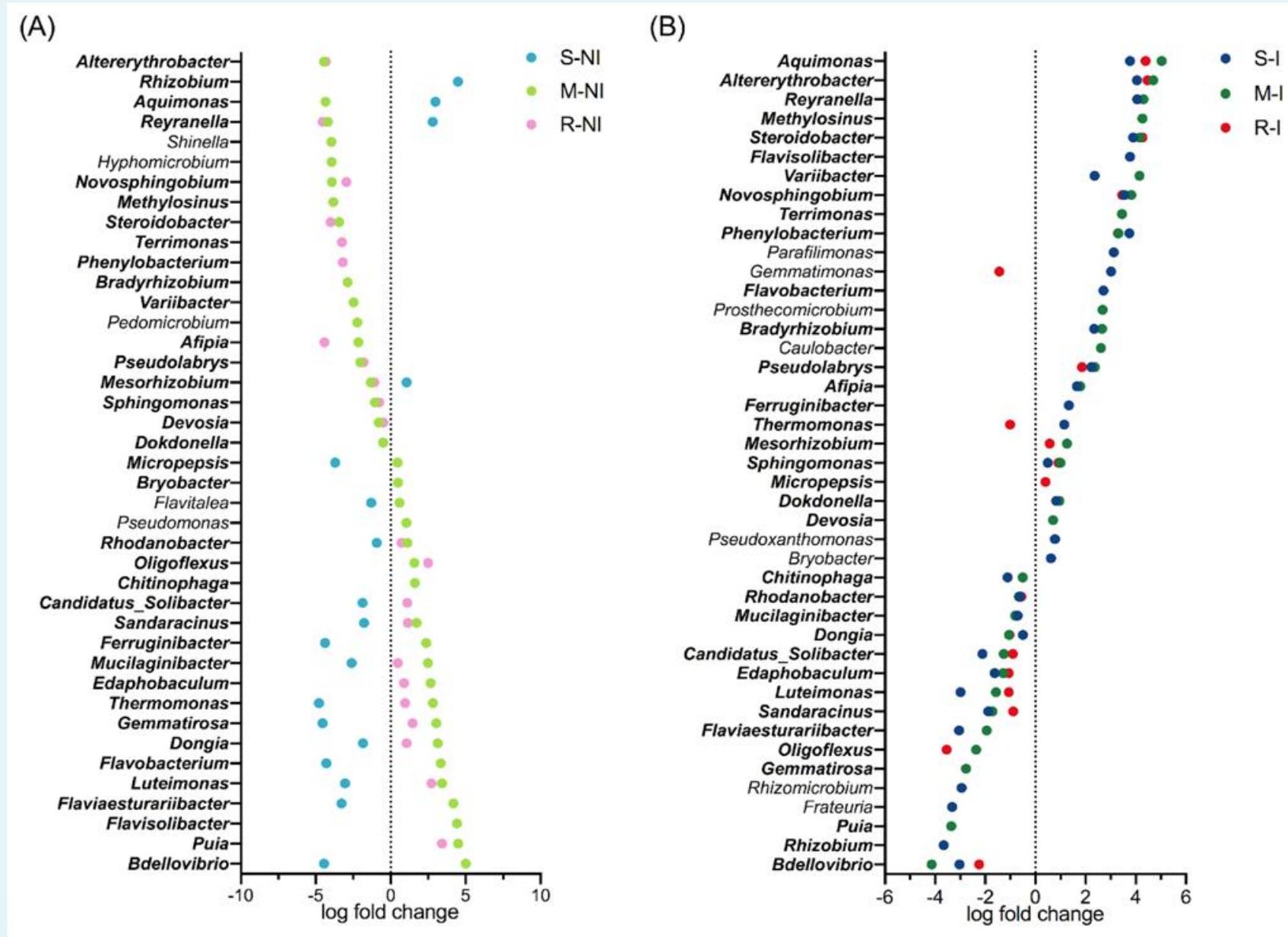
Análisis de la diversidad bacteriana



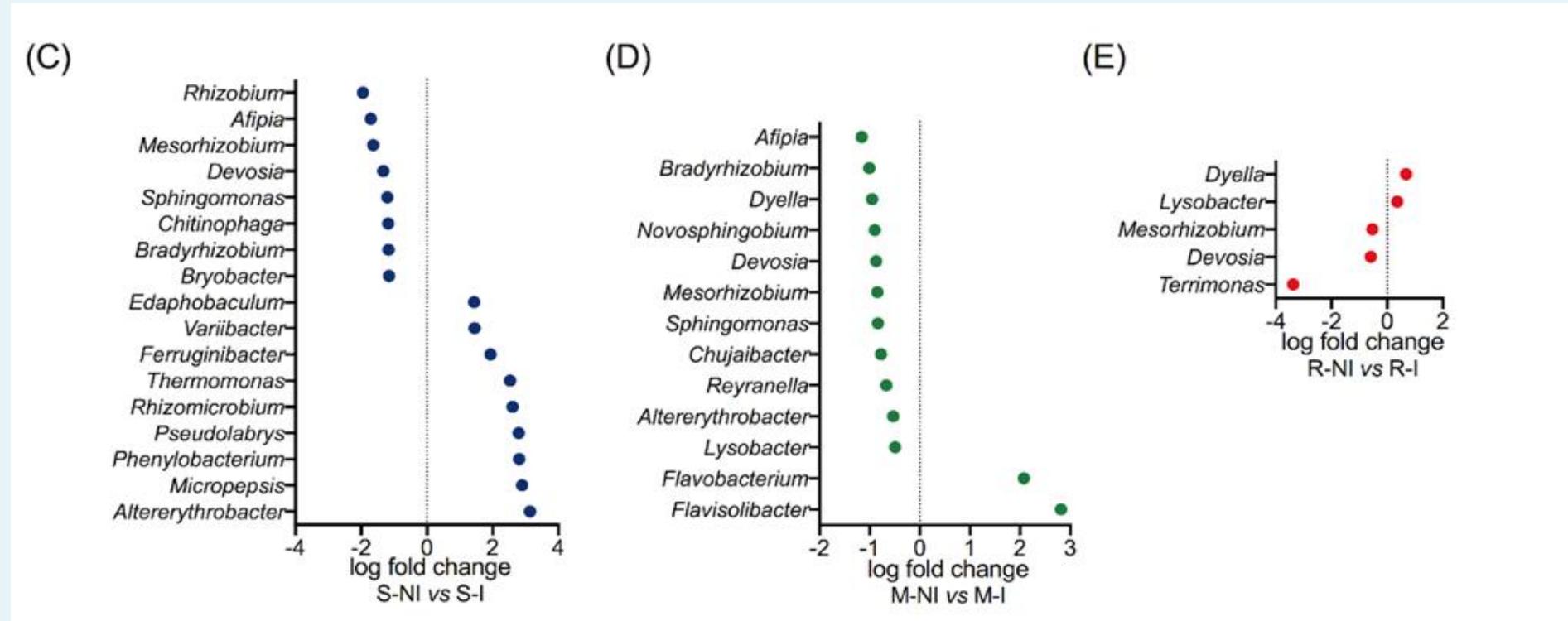
Perfiles taxonómicos bacterianos de la rizosfera de las LEs de girasol y del bulk soil control a nivel de filo (A) y género (B). Sólo se muestran los taxones principales. Los filos que representan <1% de la abundancia relativa promedio se agruparon en otros. NI: no inoculados; I: inoculado; BS: *bulk soil*; S: susceptible; M: moderado; R: resistente.



Análisis de abundancias diferenciales - ANCOMBC



Análisis de abundancias diferenciales - ANCOMBC



Gráficos de abundancias diferenciales entre taxones. Se muestran aquellos géneros bacterianos con diferencias estadísticamente significativas según ANCOM-BC ($P < 0,05$) y que presentaron un *Log Fold Change* $\geq 1,5$ o $\leq -1,5$. **(A)** Bulk soil vs rizosfera NI. **(B)** Bulk soil vs rizosfera I. **(C)** Rizosfera S-NI vs S-I. **(D)** Rizosfera M-NI vs M-I. **(E)** Rizosfera R-NI vs R-I. Los géneros en negrita se comparten entre (A) y (B). S: susceptible; M: moderado; R: resistente; NI: no inoculados; I: inoculado.



| Conclusiones

- o Los aislamientos Argentinos junto con aislamientos franceses agrupan en un nuevo linaje no reportado hasta la fecha.
- o Dos de las cuatro razas fitopatógenas reportadas previamente fueron corroboradas a través de estudios moleculares y las otras dos están en proceso.
- o Con un mínimo número de marcadores se pueden identificar tanto a los 4 grupos reportados como a los distintos aislamientos analizados.
- o El perfil microbiano de la rizosfera es dependiente del genotipo.
- o El genotipo resistente recluta bacterias antagonistas a Vd en forma basal y su microbiota es mas estable en presencia del patógeno.
- o La microbiota de la raíz de los genotipos medianamente resistente y susceptible varia en presencia de Vd hacia un perfil similar al genotipo resistente.



TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS



| Financiación

- 1087. Caracterización de la diversidad genética de plantas, animales y microorganismos mediante herramientas de genómica aplicada.
 - Exploración de la microbiota asociada a las respuestas de resistencia a *Verticillium* en girasol.
- 1089. Microbiomas en ecosistemas agropecuarios: la conexión integradora del enfoque Una Salud.
- Fundación ArgenINTA. Aproximaciones genómicas al estudio de microbiomas y microorganismos de impacto en la salud vegetal y animal.



TALLER CIENTÍFICO



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS





Gracias
por su atención



UNIVERSIDAD NACIONAL de MAR DEL PLATA
FACULTAD de CIENCIAS AGRARIAS

