

DIAGNÓSTICO DE AGENTES BIÓTICOS VINCULADOS AL SÍNDROME DEL AMARILLAMIENTO DEL GARBANZO (SAG), EN ENSAYOS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA, CAMPAÑA 2021.

Bruno Pugliese, Silvina Pastor, Patricia Rodriguez Pardina,
Juan Edwards Molina



DIAGNÓSTICO DE AGENTES BIÓTICOS VINCULADOS AL SÍNDROME DE AMARILLAMIENTO DEL GARBANZO (SAG) EN ENSAYOS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA, CAMPAÑA 2021

Pugliese B¹⁻², Pastor S¹⁻², Rodríguez Pardina P¹⁻², Edwards Molina J. P³.

1-INTA Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Patología Vegetal (IPAVE); Argentina

2- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Unidad De Fitopatología Y Modelización Agrícola (UFyMA); Argentina

3- INTA Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Estación Experimental Balcarce (EEA Balcarce); Argentina

INTRODUCCIÓN

El Garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es la tercera leguminosa alimenticia más importante a nivel mundial después del poroto común (*Phaseolus vulgaris* L.) y la arveja (*Pisum sativum* L.). India y Turquía son los principales productores que aportan el 73% y el 4,2 % respectivamente a la producción mundial (FAOSTAT 2020). En Argentina el garbanzo es un cultivo que posee un perfil fuertemente exportador, siendo una de las legumbres con menor consumo dentro del país. Las exportaciones aumentaron notablemente en la última década, pasando de un volumen de 17.000 t registrado en 2009 a 136.000 t en 2019 (Calzada y Treboux 2019). En cuanto a la producción nacional, el volumen alcanzado en 2018/19 fue de 189.000 t con un área de siembra de 151.000 ha, sin embargo, en la campaña 2020/21 ambos variables se redujeron a 85.000 t y 81.000 ha respectivamente, implicando una disminución de alrededor del 50 % aproximadamente (MAGyP 2021.). En Argentina la producción de garbanzo se concentra en las provincias de Salta, Córdoba y Tucumán, y en menor grado en Jujuy, Catamarca y Santiago del Estero. Particularmente en Córdoba, según datos de la Bolsa de cereales de la provincia, hubo una reducción interanual del área de siembra del 39% en el 2021. Esto representa un 58% menos de superficie sembrada respecto del promedio histórico de los últimos 5 años. Entre las principales causantes de esta situación, se encuentran los bajos rendimientos ocasionados por problemas sanitarios y las condiciones climáticas adversas (BCCBA 2021; Farías et al. 2018). Como principal limitante sanitaria desde la campaña 2018 hasta la actualidad, se menciona al síndrome de amarillamiento del garbanzo (SAG) una anomalía del cultivo caracterizada por la presencia de clorosis y necrosis de los tejidos aéreos, y en casos severos, enanismo y muerte de las plantas. Una alta incidencia de plantas con esta sintomatología fue observada tanto en el área de producción de Córdoba (más del 60%) como en el noroeste argentino (NOA) (Pastor et al. 2019).

Históricamente el SAG se relaciona con la presencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, causante de la “fusariosis”. No obstante, otros agentes bióticos pueden estar asociados a esta sintomatología (Trapero-Casas y Jimenez-Dias 1985; Jiménez-Fernández 2011; Pandey et al. 2017). Estudios previos realizados por nuestro equipo de trabajo pusieron de manifiesto que esta sintomatología está asociada a *Fusarium* spp., con menor incidencia de *Rhizoctonia*, *Stemphylium* (Pastor, et al. 2019; Bernardi Lima, et al. 2019; Pastor et al. 2021) y algunas virosis entre las que podemos mencionar virus del enrollamiento de la hoja de poroto (BLRV), virus del mosaico de pepino (CMV), virus de la estría de tabaco (TSV) y Virus del enanismo de la soja (SbDV) (Rodríguez Pardina et al. 2018). Por otro lado, condiciones ambientales desfavorables para el normal desarrollo del cultivo, generan estreses abióticos que también ocasionan amarillamiento. Entre estos pueden mencionarse las condiciones meteorológicas, el efecto “carryover” o residualidad de los herbicidas en el suelo y otros problemas edáficos, los que contribuyen a incrementar la incidencia de plantas con amarillamiento (Mckay et al. 2002; Gaur et al. 2013; Choudhary et al. 2015)

El presente trabajo de investigación tiene por objetivo diagnosticar agentes bióticos vinculados al síndrome de amarillamiento del garbanzo (SAG) en una red de ensayos del cultivo de garbanzo situados en la provincia de Córdoba.

MATERIALES Y MÉTODOS

El Cluster de garbanzo Córdoba llevó adelante, durante la campaña 2021, una red de ensayos del cultivo dirigidos a la evaluación de distintos aspectos agronómicos de interés, ubicados en distintos puntos de la zona productora de garbanzo de la provincia de Córdoba. Para la evaluación sanitaria, particularmente del SAG, se seleccionaron 5 ensayos, ubicados en campos de las localidades de Monte de Rosario, Candelaria Sud, Cañada de Luque, Jesús María y Barranca Yaco (Fig. 1). En cada ensayo se sembraron tres variedades de garbanzo, Felipe, Kiara y Norteño con tres repeticiones. Para determinar la presencia de agentes bióticos en plantas afectadas, en cada lote se recolectaron cuatro plantas por repetición/variedad: tres plantas con síntomas y un testigo asintomático, alcanzando un total de 60 plantas. Cada una fue identificada, acondicionada y conservada en bolsas de polietileno hasta arribar al laboratorio del INTA-IPAVE, donde fueron caracterizadas visualmente, fotografiadas y almacenadas a 4°C hasta su análisis.

Para el diagnóstico de los agentes bióticos se determinó, en planta cada, la presencia de hongos y virus mediante análisis en paralelo.

El análisis de **hongos** se realizó a partir de tejido del rizopiano, por tratarse de la zona generalmente afectada en las plantas con amarillamiento (Fig. 2). Para ello, cada una de estas y sus testigos asintomáticos, fueron cortadas transversalmente a la altura de la base del tallo. En la siguiente etapa, los cuellos y raíces de cada planta fueron seccionados longitudinalmente para corroborar el estado sanitario de los tejidos medular y vascular, los que también fueron fotografiados. Ambos cortes así obtenidos, se fragmentaron en porciones milimétricas, desinfectaron adecuadamente, secaron y sembraron en medio de cultivo Agar papa glucosado (APG) más antibiótico. Luego de 7 días de incubación del tejido, el micelio fúngico desarrollado fue identificado mediante microscopía óptica y conservados para posteriores análisis

Por otra parte, para el análisis de **virus**, tejidos del filoplano (hojas y tallos apicales) obtenidos de cada planta (Fig. 2) fueron analizados mediante DAS-ELISA, PTA ELISA o TAS-ELISA con sueros específicos para los distintos virus citados en cultivos de garbanzo: BLRV, SbDV, TSV Y CMV.

Los resultados de los diagnósticos de hongos y virus para cada planta, fueron correlacionados con las imágenes registradas en cada etapa del procesamiento de muestras.

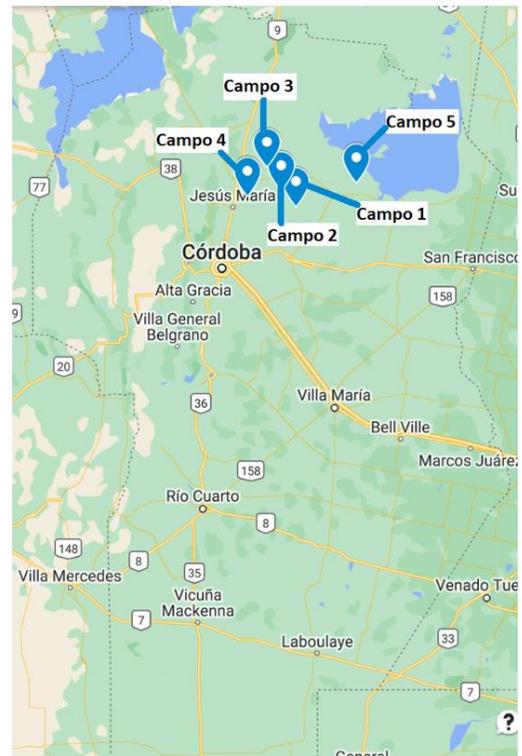


Figura 1: Ubicación de los campos donde se realizó la evaluación sanitaria de los ensayos: Monte de Rosario (Campo 1), Candelaria Sud (Campo 2), Cañada de Luque (Campo 3), Jesús María (Campo 4), Barranca Yaco (5).

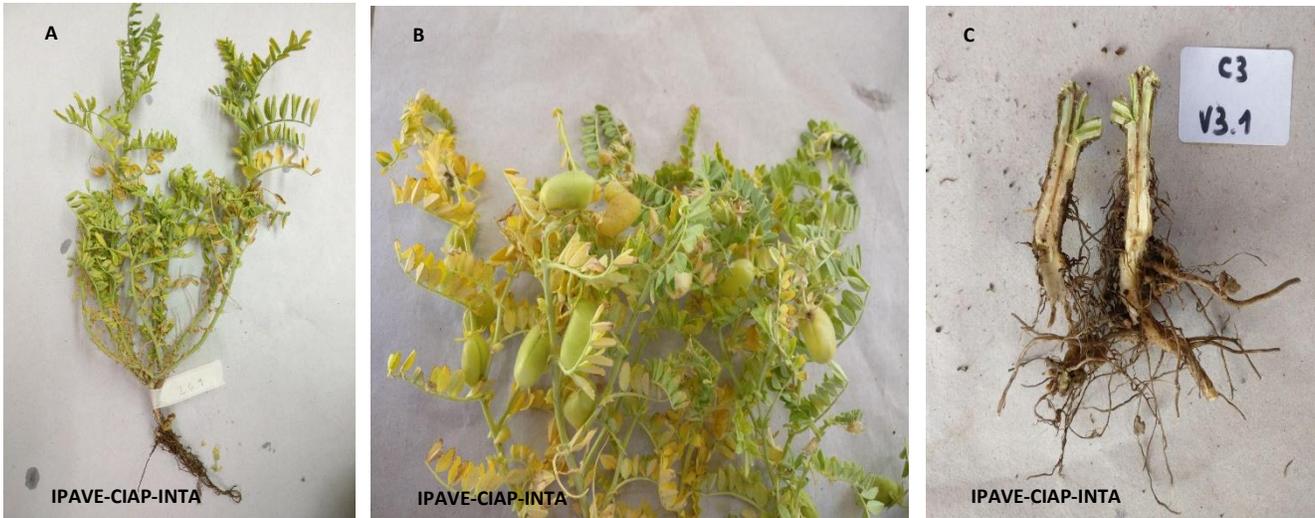


Figura 2: a) Planta con SAG; b) tejido aéreo con amarillamiento analizado para determinación de virus; c) base de tallo y sistema radicular afectados analizados para la determinación de hongos.

RESULTADOS

Los resultados generales de los diagnósticos realizados a todas las plantas recolectadas se observan en el gráfico 1, donde se muestra que el 75% de estas tenían síntomas de SAG y 25% eran testigos asintomáticos. Estos porcentajes están dados por el muestreo dirigido descrito anteriormente, por lo que no son indicadores de la incidencia de la enfermedad en los lotes.

Particularmente en el diagnóstico de hongos, en el 78% de las muestras se identificaron organismos pertenecientes al género *Fusarium*. Lo que resulta interesante destacar es que, de las plantas asintomáticas, la mayor parte fue positiva a *Fusarium* más allá de no presentar síntomas de SAG. Esto podría explicarse de diferentes formas:

una posibilidad es que los aislados de *Fusarium* obtenidos de plantas asintomáticas no sean patogénicos. También es posible que los testigos asintomáticos no hayan presentado síntomas al momento del muestreo pero que, al estar afectados por el hongo, podrían desarrollar SAG con el avance del ciclo del cultivo. Una tercera posibilidad es que el hongo tenga un comportamiento *endofítico*, es decir sea capaz de desarrollarse dentro del tejido vegetal sin generar síntomas visibles en ciertas etapas del ciclo del cultivo. No obstante, es probable que, frente a la presencia de un determinado estrés, el hongo se torne patogénico e inicie el

Resultados diagnóstico
Ensayos Cluster de Garbanzo de Córdoba
2021

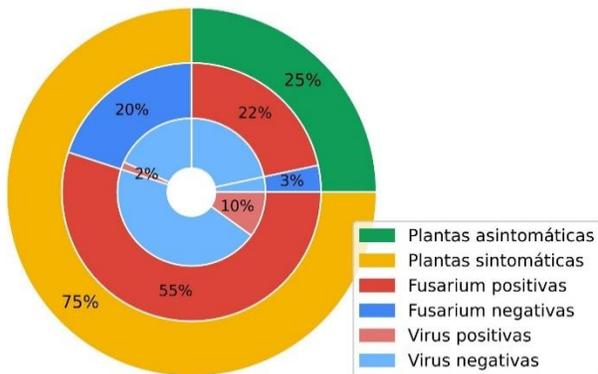


Gráfico 1: Resultados generales de diagnósticos de hongos y virus a partir de plantas con SAG y sus testigos.

desarrollo de los síntomas del SAG a partir de esta instancia, tal como fue señalado para el cultivo de maíz. (Bacon et al. 2001)

Como se explicó anteriormente, si bien la principal especie apuntada como responsable de esta sintomatología en garbanzo es *Fusarium oxysporum*, muchos autores han reportado otras especies de este género afectando al cultivo. Por ejemplo *F. redolens* o *F. proliferatum*. Un primer indicio que guía a inferir acerca de esta posibilidad, es que se obtuvieron 110 aislados de *Fusarium* a partir de 60 plantas analizadas. Esto se debió a que frecuentemente se identificaban en una misma muestra colonias de este género con características macro y microscópicas diferentes, por lo cual fueron aisladas por separado. También es importante considerar que hongos pertenecientes a otros géneros también son capaces de causar síntomas de amarillamiento, tales como *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, entre otros (Chen, et al. 2011; Chatzivassiliou 2021) . Por lo tanto, podríamos incurrir en un error si nos limitáramos a considerar la presencia de la especie *Fusarium oxysporum* como el único agente causal biótico.

Se destaca además, que si bien la mayor proporción de plantas con síntomas de SAG fueron positivas a *Fusarium*, hubo un 19% que no se encontraba afectado por este ni ningún otro hongo. Esto plantea la posibilidad de que otros factores, no necesariamente bióticos, podrían estar generando el amarillamiento, como fue mencionado previamente.

En cuanto al diagnóstico de virus, se detectó un 12% de muestras positivas (Gráf. 1). A diferencia de *Fusarium*, todas las plantas positivas a algún virus presentaban síntomas de SAG. De este 12% de muestras positivas, la mayor parte (10%) también estaba infectada por *Fusarium*. Por lo tanto, ocurrían infecciones mixtas en estas plantas analizadas.

Diagnóstico de Fusarium por campo

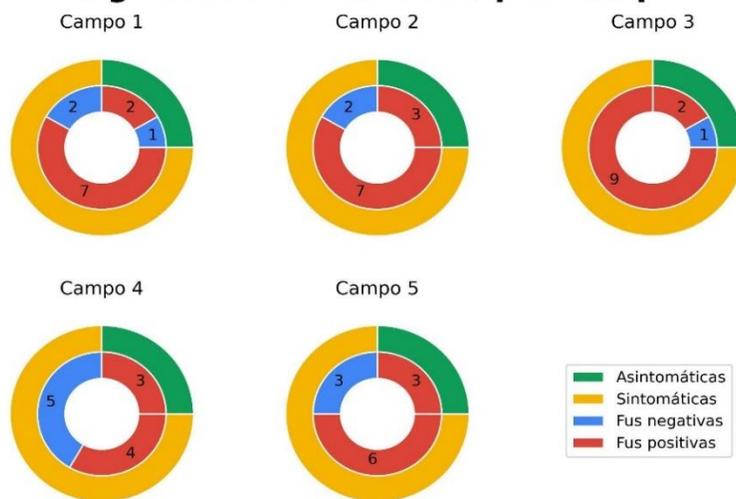


Gráfico 2: Resultados del diagnóstico de hongos por ensayo/campo, expresado en número de plantas.

Con respecto a los resultados obtenidos por ensayo/campo, la presencia relativa de *Fusarium* varió en cada uno de estos, como se muestra en el gráfico 2. Hubo casos con una mayor presencia relativa de *Fusarium* (Campo 2 y 3). También resulta interesante el caso particular de campo 4, en el que la mitad de plantas con SAG no estaban infectadas por hongos. Esto último demuestra que existe más de un factor responsable de esta sintomatología. En cuanto a los virus analizados, se detectó BLRV en tres de los 5 lotes evaluados (60% de prevalencia), mientras que SbDV tuvo una prevalencia del 40% y AMV del 20%, ya que fue detectado en un solo lote. Es importante destacar que en algunos de los ensayos se detectó la presencia de más de un virus, como es el campo 5. Además, no

se registraron casos positivos a CMV en ninguna de las muestras analizadas (Tabla 1). Cabe destacar que si bien AMV, CMV, y BLRV ya fueron detectados en otros cultivos del país (Trucco et al. 2021; 2016;.

Rodriguez Pardina 2020; De Breuil et al. 2005), SbdV no lo fue, por lo que sería importante continuar con los estudios de caracterización de este virus

Todos los hongos aislados y virus obtenidos en los estudios del SAG se encuentran depositados en el banco de patógenos del INTA-IPAVE. Contar con estas colecciones abre la posibilidad a desarrollar los próximos estudios, tales como evaluaciones de patogenicidad, identificaciones moleculares para determinar la especie a la que pertenecen o incluso estudios de diversidad poblacional.

CONCLUSIONES PARCIALES

Hasta el momento, resulta claro que con el SAG nos encontramos frente a un sistema complejo y con multiplicidad de factores intervinientes. Algunos de ellos bióticos, tales como hongos, virus o insectos (estos últimos observados en plantas con SAG en la campaña 2020); y otros abióticos. Además, no debemos perder de vista que estos patosistemas se encuentran insertos en diversos ambientes en los que se desarrolla el cultivo de garbanzo en Argentina. A esto se le suman las diferentes medidas de manejo que también podrían estar participando en el desarrollo del SAG.

Por todo lo expresado es necesario continuar avanzando con las investigaciones desarrolladas en el INTA-IPAVE para, de esta manera, contar con resultados provenientes de los diversos ambientes y campañas agrícolas. Sin embargo, solo disponiendo de toda la información vinculada a cada posible agente causal del SAG, es posible llegar a conclusiones que conduzcan a determinar el/los principales causantes de esta problemática sanitaria que viene afectando las zonas productoras de garbanzo de nuestro país.

El trabajo fue financiado por **Proyectos INTA: PE I132**-Desarrollo de legumbres adaptadas a los territorios y diferenciados por calidad comercial, nutricional e industrial y **PD I090**-Análisis de patosistemas en cultivos agrícolas y especies forestales y caracterización de sus componentes; también por **Cluster de Garbanzo Córdoba** y **Fundación Argeninta**. Se encuentra inserto en el Convenio marco Cluster de garbanzo Córdoba-INTA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bacon, Charles W., Ida E. Yates, Dorothy M. Hinton, and Filmore Meredith. 2001. "Biological Control of *Fusarium moniliforme* in Maize." *Environmental Health Perspectives* 109 (SUPPL. 2): 325–32. <https://doi.org/10.1289/EHP.01109S2325>.

	BLRV	AMV	CMV	SbdV
Campo 1				
Campo 2	33%	11%		
Campo 3				11%
Campo 4	11%			
Campo 5	11%			22%

Tabla 1: Resultados de análisis de virus por ensayo/campo bajo análisis

- BCCBA. 2021. "No Title." 2021. <https://www.bccba.org.ar/informes/calculos-finales-de-produccion-de-garbanzo-en-cordoba-campana-2020-21/>.
- Bernardi Lima, N Crociara, C, A Fekete, M.E Maggio, C Conforto, L Valetti, and S Pastor. 2019. "Ocurrencia de *Fusarium proliferatum* Causando Marchitez de Plantas de Garbanzo En Tucumán, Argentina." In *III Jornadas de Microbiología Sobre Temáticas Específicas Del NOA. Microbiología Agrícola y Ambiental*, 35.
- Breuil, S. De, F. Giolitti, and S. Lenardon. 2005. "Detection of Cucumber Mosaic Virus in Peanut (*Arachis hypogaea* L.) in Argentina." *Journal of Phytopathology* 153 (11–12): 722–25. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2005.01028.x>.
- Calzada, J, and J Treboux. 2019. "Panorama Del Mercado Nacional e Internacional de Legumbres." Rosario. <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/panorama-del-1>.
- Chatzivassiliou, Elisavet K. 2021. "An Annotated List of Legume-Infecting Viruses in the Light of Metagenomics." *Plants* 10: 1413.
- Chen, W, H C Sharma, and F J Muehlbauer. 2011. *Compendium of Chickpea and Lentil Diseases and Pests*. Minnesota USA,: American Phytopathological Society.
- Choudhary, K, Mohanty; M, N.K Nishant Sinha, A Rawat, K.M Hati, R Saha, J Somasundaram, and R.S Chaudhary. 2015. "Rooting Behaviour of Chickpea (*Cicer arietinum*) as Affected by Soil Compaction Levels in Vertisol of Central India." *Indian Journal of Agricultural Sciences* 85 (8): 1085–91.
- FAOSTAT. 2020. "Cultivos y Productos de Ganadería." 2020. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize>.
- Fariás, R, G. A Fiant, L. A Meriggiola, C Rivara, A De Lara Aldalur C, C. D Alonso, M Spinazzé, C Perez, and J.L RuizTroccoli. 2018. *La Cadena de Valor Del Garbanzo En Córdoba*. Córdoba: Bolsa y Cámara de Cereales de Córdoba.
- Gaur, Pooran M., Aravind K. Jukanti, Srinivasan Samineni, Sushil K. Chaturvedi, Partha S. Basu, Anita Babbar, Veera Jayalakshmi, et al. 2013. "Climate Change and Heat Stress Tolerance in Chickpea." *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*, November, 837–56. <https://doi.org/10.1002/9783527675265.CH31>.
- Jiménez-Fernández, Daniel. 2011. "Estudio de La Interacción de *Fusarium* Spp. Con Cultivares de Garbanzo (*Cicer Arietinum* L.) Asociados a La Fusariosis Vascular Mediante Técnicas Biotecnológicas." Universidad de Córdoba, Servicio de Publicaciones. <http://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/4471>.
- MAGyP. n.d. "Estimaciones Agrícolas." Accessed March 15, 2022. <https://datosestimaciones.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones>.
- Mckay, Kent, Perry Miller, Brian Jenks, Jack Riesselman, and Karnes Neill. 2002. "Growing Chickpea in the Northern Great Plains." Fargo. <http://www.pulseusa.com/docs/chikpea.pdf>.
- Pandey, R.N., N.M. Gohel, and Pratik Jaisani. 2017. "Management of Wilt and Root Rot of Chickpea Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* and *Macrophomina phaseolina* through Seed Biopriming

and Soil Application of Bio-Agents.” *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6 (5): 2516–22. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.282>.

- Pastor, S., N.B Lima, C.S. Crociara, B.D Pugliese, A. Fekette, and J.P Rodríguez Pardina, P Edwards Molina. 2021. “Caracterización Morfológica e Identificación Molecular de Especies de Fusarium Aisladas de Plantas Con Síndrome de Amarillamiento Del Garbanzo Del Noroeste Argentino.” In *5° Congreso Argentino De Fitopatología y 59th Meeting Of The APS Caribbean Division*, 183.
- Pastor, Silvina, P. Rodriguez Pardina, and J. P. Edwards Molina. 2019. “Estudio Del Complejo de Agentes Causales Del Amarillamiento Del Garbanzo En La Provincia de Córdoba.” In *Jornadas de Actualización Técnica (JAT)*, 63–64.
- Rodriguez Pardina, P., Verónica Trucco, Pablo Reyna, Silvina Pastor, and Fabián Giolitti. 2018. “Detección del Bean Leafroll Virus En Cultivos de Garbanzo Del NOA.” *Horticultura Argentina* 37 (94): 247.
- Rodriguez Pardina, P.E. 2020. “Viral Diseases in Common Bean Crops in Argentina.” *Current Topics in Virology* 17: 94–110.
- Trapero-Casas, A, and M Jimenez-Dias. 1985. “Fusarium Wilt and Root Rot Diseases of Chickpea in Southern Spain.Pdf.” *Phytopathology* 75 (10): 1146–51.
- Trucco, Verónica, Soledad de Breuil, Nicolás Bejerman, Sergio Lenardon, and Fabián Giolitti. 2016. “Bean Leafroll Virus (BLRV) in Argentina: Molecular Characterization and Detection in Alfalfa Fields.” *European Journal of Plant Pathology* 146 (1): 207–12. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0899-5>.
- Trucco, Verónica, Onias Castellanos Collazo, Carlos Gastón Vaghi Medina, Dariel Cabrera Mederos, Sergio Lenardon, and Fabian Giolitti. 2021. “Alfalfa Mosaic Virus (AMV): Genetic Diversity and a New Natural Host.” *Journal of Plant Pathology*, October. <https://doi.org/10.1007/S42161-021-00961-8>.

RESUMEN

Durante la campaña agrícola 2021 se realizaron diagnósticos fúngicos y virales a plantas de garbanzo afectadas por el síndrome de amarillamiento de garbanzo (SAG), pertenecientes a cinco ensayos de garbanzo implementados por el Cluster de Garbanzo Córdoba. Cada ensayo estaba constituido por tres variedades (Felipe, Kiara y Norteño) con tres repeticiones. Para la determinación de la presencia de agentes bióticos relacionados al SAG se recolectaron, en cada lote, cuatro plantas por repetición/variedad (tres plantas con síntomas y un testigo asintomático) y cada una de ellas fue analizada para determinar la presencia de hongos de suelo y virus. En el 78% de las muestras se identificaron organismos pertenecientes al género *Fusarium* y en 12% diferentes especies de virus, tales como, virus del enrollamiento de la hoja de poroto (BLRV), virus del mosaico de pepino (CMV), virus de la estría de tabaco (TSV) y Virus del enanismo de la soja (SbDV), detectándose infecciones mixtas en algunos casos y sin infección en otros.

