

Identificación de patología de origen desconocido (POD) asociada al genotipo 44-2x de *Urochloa ruziziensis*.

Camelo, R¹; Malatesta, C.¹; Hernandez, Luis¹; Jauregui, Rosa^{1*}

¹Alliance bioersity international and CIAT

* r.jauregui@cgiar.org

Iniciativa: Accelerated breeding initiative

Metodos

Se tomaron muestras del genotipo 44-2x de *Urochloa ruziziensis* que presentaban síntomas de POD para su procesamiento en laboratorio. Inicialmente se hizo una identificación y descripción de síntomas de cada una de las plantas en campo y en laboratorio con ayuda de un estereoscopio y microscopio. Luego se pasó a realizar el aislamiento de los posibles patógenos en medio PDA para hongos y Agar nutritivo para posibles bacterias.

Resultados

En cuanto a *Urochloa ruziziensis*, el genotipo de interés nombrado 44-2x, presenta como sintomatología clorosis sectorizadas a lo largo de las hojas, sin observarse necrosamientos y pudriciones húmedas de los tejidos. Tampoco se observa crecimiento en el haz o el envés de estructuras típicas de hongos como micelios o masas de esporas (figura 1 A). Al realizar montaje de tejidos en PDA y Agar nutritivo (Figura 1 B) se obtuvieron resultados negativos para PDA donde no creció ningún hongo a partir de los explantes a los 3 días después de siembra, y en Agar Nutritivo se obtuvo prueba positiva teniendo un crecimiento bacteriano a partir de los explantes (figura 1 C).

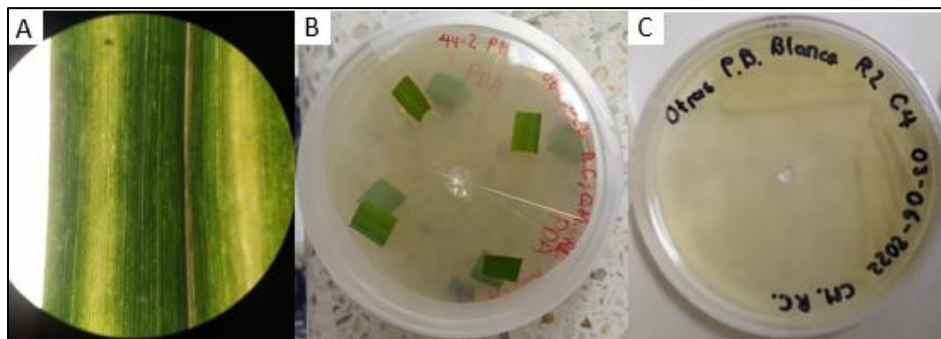


Figura 1. Observaciones realizadas en el genotipo 44-2x de *Urochloa ruziziensis* identificando **A)** sintomatología de clorosis localizada a lo largo de hojas, **B)** prueba negativa de crecimiento de hongos y **C)** prueba positiva de crecimiento bacteriano.

A partir de los crecimientos bacterianos obtenidos, se aislaron 7 colonias diferentes las cuales, con ayuda del laboratorio de fitopatología de arroz se les hizo análisis molecular con primers

específicos para las bacterias *Burkholderia glumae* (figura 2), *Xanthomonas oryzae* pt. *Oryzae*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (figura 3) y *Acidovorax avenae* (figura 4).

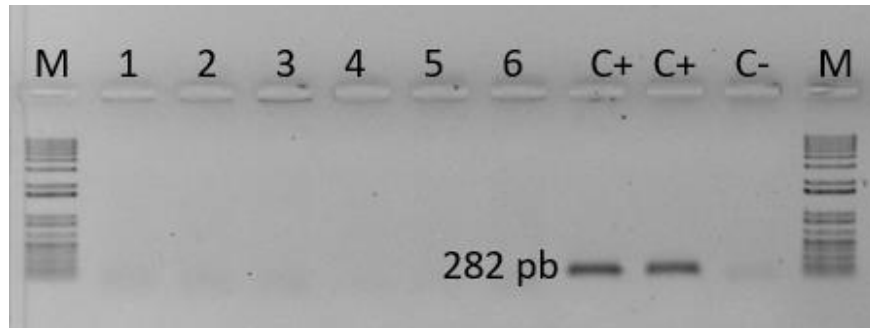


Figura 2. Detección por PCR de *B. glumae* en muestras de semillas de arroz. en muestras de semillas de arroz. 1)CS0580; 2)CS0581; 3)CS0582; 4)CS0583; 5)CS0584; 6)CS0585; 7)CS0586; 8)CS0587; 9)CS0588; C+1 Control positivo DNA de bacteria. *B. glumae* (3252-8); C+2 Control positivo DNA de bacteria. *B. glumae* (3252-8) lisis; C- Control negativo coctel sin DNA. M) Marcador de peso molecular 1kb plus (Invitrogen).

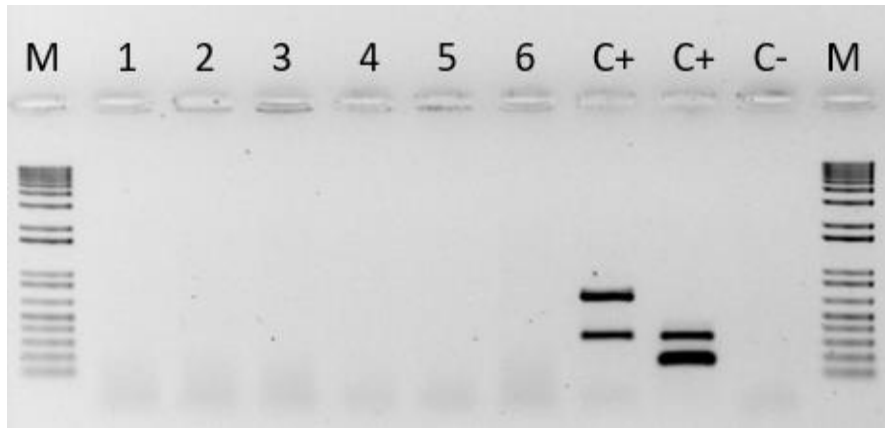


Figura 3. Detección por PCR de *X. oryzae* pv *oryzae* y *X. oryzae* pv *oryzicola* en muestras de semillas de arroz. 1 en muestras de semillas de arroz. 1)CS0580; 2)CS0581; 3)CS0582; 4)CS0583; 5)CS0584; 6)CS0585; C+1 control positivo *X. oryzae* pv. *oryzae* PX99 (Asia); C+2 control positivo *X. Oryzae* pv. *oryzicola* BLS256 (Asia); C- Control negativo coctel sin DNA. M) Marcador de peso molecular 1kb plus (Invitrogen).

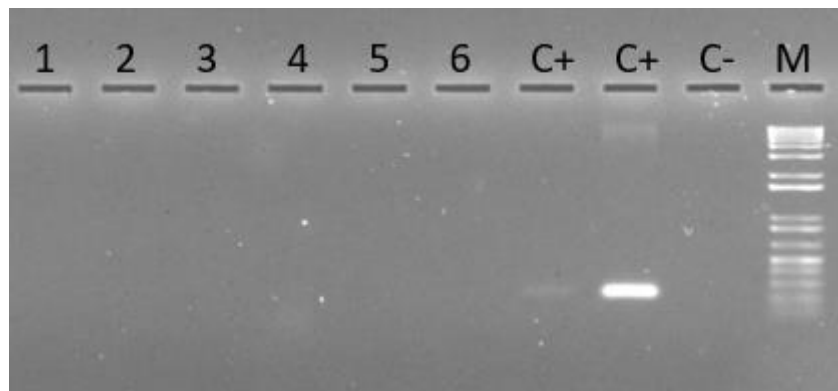


Figura 4. Detección por PCR de *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* en muestras de semillas de arroz. en muestras de semillas de arroz. 1)CS0580; 2)CS0581; 3)CS0582; 4)CS0583; 5)CS0584; 6)CS0585; 7)CS0586; 8)CS0587; 9)CS0588; C+1 Control positivo DNA de bacteria. *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (4008-2) lisis; C+2 Control positivo DNA de bacteria (4008-2A); C+3 Control positivo DNA de bacteria. *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (4008-2B); C- Control negativo coctel sin DNA. M) Marcador de peso molecular 1kb plus (Invitrogen).

Al correr los PCR para cada bacteria con las 7 respectivas colonias, se descartó que alguna de las colonias problema correspondiera a los primers evaluados.

Al mismo tiempo, muestras del genotipo 44-2x fueron ingresadas al laboratorio de fitosanidad del edificio Semillas del Futuro de CIAT (Palmira, Colombia), donde se realizaron pruebas de detección de patógenos como bacterias, hongos y virus con pruebas visuales y moleculares. De este análisis se obtuvo como resultado la presencia de los hongos *Fusarium avenaceum*, *Phoma* sp, *Didymella* sp. Y la usencia de virus y bacterias cuarentenarias en forrajes. Sin embargo, al hacer la comparación de los síntomas de las planas con los provocados por los hongos reportados, se descartó que alguno de estos hongos fuera el agente causal. Así mismo, al correr 7 marcadores moleculares para bacterias cuarentenarias con resultado negativo para todas las colonias encontradas, se puede pensar que las bacterias obtenidas en Agar nutritivo pueden corresponder a bacterias endófitas, por lo cual se decidió realizar el envío de material vegetal (figura 5) al laboratorio de sanidad vegetal de la universidad de Florida (UF-IFAS Plant Diagnostic Center) para un análisis más detallado.

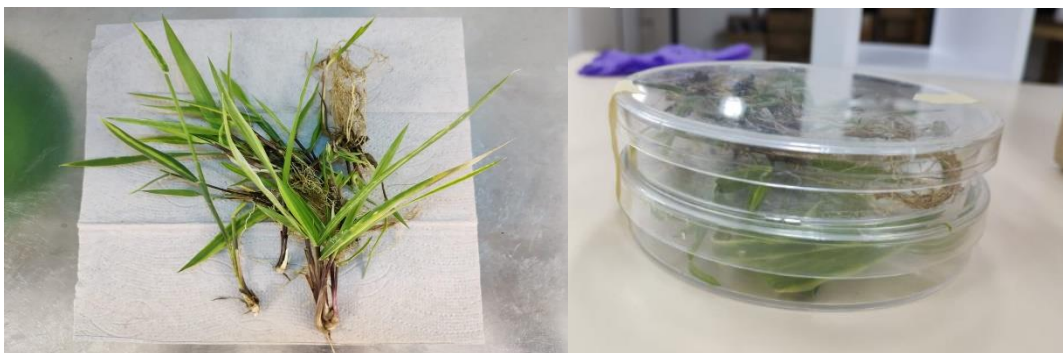


Figura 5. Tejido vegetal con síntomas típicos de la POD enviado al UF-IFAS Plant Diagnostic Center.

Como resultado de envío, se confirmó la presencia de un virus del género *Potyvirus* en la muestra a través de un Agdia Immunostrip para el grupo *Potyvirus*. Los potyvirus se propagan mediante vectores pulgones desde plantas o malas hierbas infectadas a plantas sanas. Debido a que los áfidos adquieren y propagan los virus de manera no persistente, el control con insecticidas no es eficaz. Al tener una alta carga de áfidos en los invernaderos de propagación del material vegetal y con la similitud en los síntomas producidos, los pasos a seguir se centrarán en intentar identificar a nivel de especie el *Potyvirus* encontrado y establecer metodologías de rescate in vitro de estas plantas.