PROVINCIA DE BUENOS AIRES CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

IMPULSO AGRICOLA:

ENFERMEDADES Y PLAGAS EN

CULTIVOS BONAERENSES

MONTAJE DE LABORATORIO

DESARROLLO DE PROTOCOLOS

COORDINACION DE MONITOREO

DICIEMBRE DE 2006

Ing. Agr. Blanca Lía Ronco

INDICE

Ajustar los protocolos para la identificación molecular específica de la roya de la soja
"asiática" y "americana", causadas por <i>Phakopsora pachyrhizi</i> y <i>P. meibomiae</i>
respectivamente empleando "real Time PCR". Ajustar protocolos para la
identificación de nematodos fitopatógenos en soja por RT-PCR3
llustrar a los productores del área de influencia de las distintas delegaciones,
mediante seminarios y talleres, sobre diversos aspectos de las enfermedades de los
cultivos bajo estudio y, en especial, de roya y nematodo de la soja, incluyendo su
manejo5
Capacitar a los técnicos del MAA para la detección y diagnóstico de enfermedades
en los cultivos bajo estudio, en especial de la roya y nematodo quiste de la
soja7
Coordinar el relevamiento y diagnóstico de situación de los cultivos bajo estudio en
la Provincia de Buenos Aires, en especial con relación a la "roya de la soja" y
"nematodo quiste de la soja"10

RESUMEN

En el marco del convenio entre el Consejo Federal de Inversiones y el Ministerio de Asuntos Agrarios, para el desarrollo del Proyecto Provincial "Red de Alerta para Enfermedades y Plagas en los Cultivos de la Provincia de Buenos Aires", se implementarán técnicas de relevamiento de los cultivos y monitoreo de enfermedades y plagas de impacto, en la producción a nivel provincial, aplicando innovaciones en lo relativo a metodologías de diagnóstico.

Sobre los cultivos seleccionados para desarrollar este proyecto, soja, cítricos, trigo, tomate, pimiento y lechuga, se intervendrá con distintas acciones en problemas sanitarios tales, como roya y nemátodo quiste de la soja, cancrosis de los cítricos, enfermedades de cultivos hortícolas, hongos fitopatógenos y toxicogénicos de interés agroalimentario (micotoxinas) y cualquier contingencia sanitaria.

Ajustar los protocolos para la identificación molecular específica de la roya de la soja, "asiática" y " americana", causadas por *Phakopsora pachyrhizi* y *P. meibomiae* respectivamente empleando "Real Time PCR". Ajustar protocolos para la identificación nematodos fitopatógenos en soja por RT-PCR.

Dada la importancia de la identificación de agentes patógenos por medio de técnicas moleculares, por sus características de rapidez y confiabilidad y a pesar de no contar aún con el equipamiento para su ajuste y puesta en marcha, se prosiguió con la lectura de trabajos específicos sobre el tema.

Para tal fin se consultó la siguiente bibliografía:

- BAKAN, B.; C. GIRAUD-DELVILLE; L. PINSON; D. RICHARD-MOLARD; E. FIER et al. Identification by PCR of Fusarium culmurum strains producing large and small amounts of deoxynivalenol. Appl. Environ. Microbiol. 68:5472-5479, 2002.
- JURGENSON, J.E.; R.L. BOWDEN; K.A. ZELLER; J.F. LESLIE; N.J. ALEXANDER AND R.D. PLATTNER. A Genetic Map of Giberella zeae (Fusarium graminearum). Genetics 160: 1451-1460, 2002.
- REID, D.F; C.L. SNYDER; G.L. PETERSON and M. BONDE. Polymerase Chain Reaction Assays for the detection and Discrimination of the Soybean Rust Pathogens *Phakopsora pachyrhizi* and *P. meibomiae*. Phytopathology 92: 217-227, 2002.
- WATSON, J.; M. GILMAN; J. WITKOWSK & M. ZOLLER. The Polymerase Reaction in Recombinant ADN, Chapter 6, 2nd. Edition Scientific American Books, 1992.

Ilustrar a los productores del área de influencia de las distintas delegaciones, mediante seminarios y talleres, sobre diversos aspectos de las enfermedades de los cultivos bajo estudio, y en especial, de roya de la soja y nematodo de la soja, incluyendo su manejo.

Se prosiguió con el proceso de interiorizar a los productores y a los asesores técnicos de los mismos, sobre la problemática sanitaria de sus cultivos y aspectos de alternativas de manejo de plagas y enfermedades. Se destacó la importancia del monitoreo como base para la aplicación del MIP.

Para tal fin se elaboró una publicación de divulgación sobre "Enfermedades de cultivos hortícolas en invernadero" para ser publicada en el Boletín Hortícola de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales – UNLP. (ANEXO 1)

Se realizó una visita el día 20 de noviembre al establecimiento del Sr. Ciencia, integrado al proyecto de monitoreo de plagas y enfermedades junto a la Ing. Mariana del Pino. Se observó la presencia de los siguientes problemas sanitarios en cultivos de tomate y pimiento:

CULTIVO	PLAGA	ENFERMEDAD
TOMATE	- Mosca blanca: Trialeurodes	- Oídio: Erysiphe sp.
	vaporiarorum y/o Bemisia tabaci	- Moho de la hoja: <i>Fulvia</i>
	- Pulgones	fulva.
	- Polilla: Tutta absoluta	- Deficiencia de Mg
PIMIENTO		-Marchitamiento:
		Sclerotium rolfsii

El 30 de noviembre se visitó el establecimiento del Sr. Binci, junto a la Ing. Agr. Mariana del Pino y 6 monitoreadores donde se identificaron los siguientes problemas:

CULTIVO	PLAGA	ENFERMEDAD
TOMATE	- Mosca blanca: Trialeurodes	- Oídio: Erysiphe sp.
:	vaporiarorum ylo Bemisia tabaci	- Moho de la hoja: <i>Fulvia</i>
	- Pulgón: Myzus persicae	fulva.
	- Polilla: Tutta absoluta	- Deficiencia de Mg
	!	-Marchitamiento:
		Sclerotinia sclerotiorum
		-Moho gris: Botrytis
		cinerea

PIMIENTO	- Trips	Virosis
<u> </u>		

Se recibieron consultas de productores y asesores técnicos para el diagnóstico de enfermedades en las siguientes especies: tomate, pimiento, berenjena y frutilla.

Capacitar a los técnicos de MAA para la detección y diagnóstico de enfermedades en los cultivos bajo estudio, en especial de la roya y nematodo quiste de la soja.

Respecto a este tema se recibieron consultas de productores y técnicos sobre diversas problemáticas en cultivos hortícolas (mencionadas en item anterior), por los cual se procedió a capacitar a los técnicos en la metodología a aplicar para el diagnóstico:

- Identificación del hospedante.
- Observación y descripción de síntomas y signos.
- Detalles de la historia del lote.
- Distribución de las plantas enfermas.
- Prácticas culturales realizadas.
- Tratamientos fitosanitarios efectuados.
- Realización de cámara húmeda.
- Aislamiento.
- Identificación del agente patógeno.

A modo de prueba orientativa, se instalaron trampas cazaesporas para capturar estructuras reproductivas de *Giberella zeae/Fusarium graminearum* y se está capacitando para la lectura de las mismas.

El día 29 de noviembre se visitó junto al Delegado de la DRF II (San Pedro), un lote de trigo en el partido de Baradero con la finalidad de colaborar en el reconocimiento de espigas de trigo afectadas por golpe blanco.

Se continúa la capacitación en la identificación de Xanthomonas axonopodis pv. citri,

Coordinar el relevamiento y diagnóstico de situación de los cultivos bajo estudio en la Provincia de Buenos Aires, en especial con relación a la "roya de la soja" y "nematodo quiste de la soja".	
quiste de la soja .	

Las acciones desarrolladas en este período se orientaron hacia las siguientes problemáticas: cancrosis de los cítricos, fusariosis del trigo, monitoreo de plagas y enfermedades de pimiento y tomate y enfermedades de la soja.

Cancrosis de los cítricos

Con la finalidad de coordinar el monitoreo de la enfermedad en el partido de San Pedro, se realizó una reunión el día 2 de noviembre en la sede de la Cámara de Productores y Empacadores Zona Norte Bs. As. (CAPROEM).

La misma contó con la asistencia de :

Ing. Agr. Susana Gamboa Dirección Sanidad Vegetal - MAA

Ing. Agr. Andrés Molina Delegación Regional Fitosanitaria II -

MAA

Sr. Joaquín Gonzalez de la Fuente CAPROEM

Ing. Agr. Lorenzo Camescasse Asociación de Ingenieros Agrónomos de

la Costa Norte Bonaerense (ASIACONB)

Ing. Agr. Alfredo Cancelar ASIACONB

Ing. Agr. Carlos Acosta ASIACONB

Ing. Agr. Lía Ronco CFI

Durante la misma se trataron los siguientes temas:

- 1 El MAA planteó el objetivo de realizar el monitoreo de cancrosis de los cítricos, a fin de determinar el estado sanitario respecto a esa enfermedad en el partido de San Pedro.
- 2 La iniciativa fue muy bien recibida y se ofreció por parte de CAPROEM y ASIANCOB todo tipo de apoyo para su concreción.
- 3 Se acordó realizar el monitoreo en montes de naranja y de pomelo, cuya producción se destina a mercado interno.

4 - Se evaluará la incidencia de la enfermedad en un 10% de la superficie, distribuyendo las unidades de muestreo en forma representativa en el área productiva del partido.

5 – El monitoreo se realizará siguiendo las normas implementadas por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), para el Programa de Certificación de Cítricos para Exportación. (ANEXO 2, PLANILLA 1)

El monitoreo semanal, realizado por los laboratoristas y técnicos del MAA, se inició el 15 de noviembre y se continuó el 22, 29 y 6 de diciembre.

Paralelamente a esta tarea, se extraen muestras de plantas enfermas para continuar con las prácticas de aislamiento y caracterización de la bacteria por técnicas convencionales.

Golpe blanco o fusariosis del trigo

En el período noviembre/ 06 de diciembre se recepcionaron muestras de espigas procedentes de los partidos de San Pedro, Baradero, Ramallo, Saladillo, Chivilcoy, Las Flores, Guaminí, Daireaux, Balcarce, Gral. Alvarado, San Cayetano, Bolívar, Azul, Olavarría y Benito Juárez. (ANEXO 3)

En el mismo período se procedió al aislamiento, evaluación, repiques e identificación de *Fusarium* spp. en 14 muestras de rastrojo aplicando las técnicas de dilución y de trozos.

En carácter de prueba piloto y a fines de adiestramiento para la futura lectura de urediniosporas de roya de la soja, se instalaron trampas cazaesporas en los partidos de Tres Arroyos y Cnel. Suarez, con la finalidad de observar e identificar la presencia del hongo responsable del golpe blanco.

Se elaboró un instructivo para los responsables de las mismas (ANEXO 4). La lectura se realizará en el Laboratorio Central de Sanidad Vegetal.

Monitoreo de enfermedades y plagas en hortalizas

El tema fue desarrollado precedentemente.

Roya de la soja

Se están seleccionando lotes para monitoreo en distintos partidos de la Provincia de Buenos Aires.

Las trampas cazaesporas se instalarán en los partidos de Cnel. Suarez, Tres Arroyos, Baradero, Gral. Viamonte y Rojas.

El próximo 14 del corriente se realizará una capacitación sobre enfermedades de la soja a cargo de la Ing. Agr. Grisela Botta.

Enfermedades de cultivos hortícolas en invernadero

Ing. Agr. Lia Ronco

Red de Alerta de plagas y enfermedades CFI. Ministerio de Asuntos Agrarios.

El ambiente dentro de un invernadero en general es húmedo, cálido y carente de viento, estas condiciones promueven un óptimo crecimiento de la mayoría de las plantas, pero también son ideales para el desarrollo de enfermedades ocasionadas por bacterias, hongos y vectores de virus.

Por otro lado, la alta densidad de plantas, la facilidad de movimiento de los patógenos y el microclima reinante, hacen que la inversión económica sea alta para mantener una buena sanidad en el cultivo.

Asimismo, los cultivos que requieren labores culturales especiales (podas, desbrotes) exponen a los mismos a mayores riesgos de diseminación de los patógenos, por la práctica en si misma como por las heridas que se puedan producir.

Los suelos cultivados bajo este sistema, se ven afectados tanto a nivel físico como químico ocasionando consecuencias a los cultivos, entre las que se destacan problemas de deficiencias nutricionales.

Entre las especies hortícolas más importantes que se desarrollan bajo la modalidad de cultivo protegido encontramos el tomate, la lechuga y el pimiento.

La problemática fitosanitaria de dichas especies es muy seria y ocasiona mermas de los rendimientos y disminución de la calidad de sus productos.

A continuación mencionaremos las enfermedades más importantes de estos cultivos.

Enfermedades del pimiento

BACTERIOSIS

Mancha bacteriana: Xanthomonas campestris pv. vesicatoria Marchitamiento bacteriano: Ralstonia solanacearum

Podredumbre blanda: Erwinia carotovora sub.sp. carotovora

MICOSIS

Mildiu: Phytophthora capsici

Antracnosis: Colletotrichum gleosporioides, C. capsici, C. coccodes

Mancha ojo de rana: Cercospora capsici

Marchitamiento: Fusarium oxysporum f.sp. capsici

Mancha gris de la hoja: Stenphylium spp.

Moho gris: Botrytis cinerea

Oídio: Leveillula taurica – Oidiopsis taurica Marchitamiento: Sclerotium rolfsii Podredumbre: Sclerotinia sclerotiorum

VIROSIS

Mosaico del pimiento: PVY

Peste negra: Tospovirus (TSWV, GRSV y TCSV)

FISIOGENICAS

Podredumbre apical (BER): Deficiencia de Calcio

Asoleado

Enfermedades de la lechuga

BACTERIOSIS

Mancha bacteriana: Xanthomonas campestris pv. vitians Podredumbre blanda: Erwinia carotovora subsp. carotovora

MICOSIS

Podredumbre: Sclerotinia sclerotiorum - S. minor

Moho gris: Botrytis cinerea

VIROSIS

Mosaico: LMV

Peste negra: Tospovirus (TSWV, GRSV y TCSV

FISIOGENICAS

Tipburn: Deficiencia de Calcio

Enfermedades del tomate

BACTERIOSIS

Mancha bacteriana: Xanthomonas campestris pv. vesicutoria

Peca bacteriana: Pseudomonas syringae pv. tomato.

Podredumbre blanda: Erwinia carotovora sub.sp. carotovora. Cancro bacteriano: Clavibacter michiganense sub.sp. michiganense.

Marchitamiento bacteriano: Ralstonia solanacearum. Necrosis de la médula: Pseudomonas corrugata.

Podredumbre del tallo: Erwinia carotovora sub.sp. carotovora.

MICOSIS

Tizón temprano: Alternaria solani Tizón tardío: Phytophthora infestans Viruela: Septoria lycopersici Moho de las hojas: Fulvia fulva

Oidio: Leveillula taurica - Erysiphe polygoni

Moho gris: Botrytis cinerea

Marchitamiento: Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici

Podredumbre: Sclerotinia sclerotiorum Marchitamiento: Sclerotium rolfsii Antracnosis: Colletotrichum coccodes

VIROSIS

Peste negra: Tospovirus (TSWV, GRSV y TCSV)

Mosaico: ToMV

FISIOGENICAS

Podredumbre apical (BER): deficiencia de Calcio Catface: desorden por frío o aplicación de hormonas

Asoleado

Deficiencias: Fe, Mg, Ca, K

Manejo de enfermedades

Las enfermedades son el producto de la interacción de patógenos, plantas y medio ambiente.

Por ello, un buen manejo de las mismas es actuar sobre estos 3 componentes del sistema aplicando y/o combinando diferentes tipos de medidas.

PRACTICAS CULTURALES

- Erradicación de hospedantes alternativos.
- Rotación de cultivos.
- Eliminación de plantas enfermas (sanitation).
- > Uso de técnicas alternativas para el control de insectos vectores (trampas, aceites, mallas, mulching).
- Mejoramiento de condiciones de crecimiento
 - Fertilización adecuada
 - o Densidad adecuada
 - Control de malezas
- Creación de condiciones desfavorables para el patógeno.
 - o Ventilación
 - o Control de humedad
 - o Control de temperatura

CONTROL GENETICO

Uso de variedades resistentes

CONTROL BIOLÓGICO

> Utilización de microorganismos antagonistas.

CONTROL FÍSICO

- Tratamiento con calor
- Radiación
- Solarización

CONTROL QUÍMICO

> Aplicación de agroquímicos

MANEJO INTEGRADO

- > Monitoreo de enfermedades y vectores.
- > Combinación de las tácticas mencionadas.

Bibliografía

Blancard, D. 1992 "Enfermedades del Tomate" Ed. Mundi-Prensa. 212 pp.

Dal Bó, E. Chiarrone G., Rollieri J. & Ronco L. 1999 "Tospovirus en los cultivos Ornamentales de La Plata". Rev.Fac.Agron. La Plata 104(1): 35-40

Davis, M.; Subbarao, K.; Raid, R.; and Kurtz, E. 1997. "Compendium of Lettuce Diseases". APS Press 75 pp.

Jarvis, W. 1993 "Managin Diseases in greenhouse Crops". APS Press 288 pp.

Pernezny, K.; Roberts, P.; Murphy, J.and Goldberg, N. 2003 "Compendium of Pepper Diseases". APS Press. 63 pp.

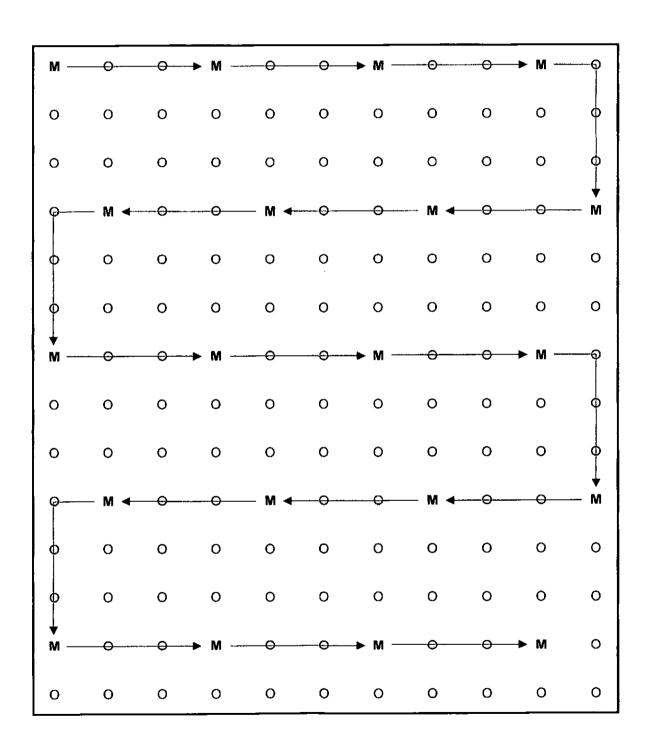
ANEXO 2

La estimación de la incidencia de la enfermedad se realiza a través del monitoreo en lotes de producción, mediante el examen de una cantidad mínima de plantas que permitirá caracterizar de forma adecuada la presencia de la cancrosis de los cítricos en la población de la zona de San Pedro.

Se utiliza para la realización del muestreo la metodología desarrollada por Agostini y otros. Considerando que es una enfermedad endémica en la región y, por lo tanto, con una dispersión homogénea, los autores han establecido que el relevamiento del 10% de los árboles del lote permite estimar correctamente la incidencia de la enfermedad.

Como diseño para el monitoreo de los lotes se utiliza un sistema de U con observaciones cada tres plantas y cada tres filas el cual permite acercarse al tamaño de muestra aconsejado. En la FIGURA 1 se presenta el esquema de monitoreo a campo para la inspección visual de síntomas de cancrosis y estimación de la incidencia de la enfermedad.

FIGURA 1



PLANILLA 1

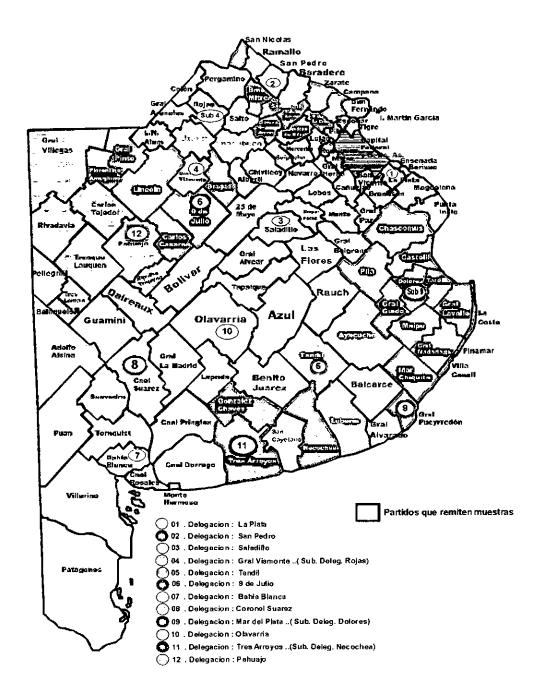
Establecimiento				N° Lote
Campaña	Monitoreo N°			Fecha
Especie	Variedad/es			Marco plant
Total de plantas (según regi	istro)	Observa	ciones	

			Can	crosis				Can	crosis			
			Pres	sencia				Pres	sencia			
	Fila	Planta	Sí	No		Fila	Planta	Sí	No		Fila	Planta
1					34					67		
2					35	-				68		
3					36					69		
1					37					70		
5					38					71		-
3					39					72		
7					40					73		
3					41					74		
)					42					75		
0					43					76		
1			1	-	44					77		
2		-			45					78		
3					46					79		
4		•			47					80		
5					48	†				81		
6					49					82		•
7		.,		-	50					83		
8					51					84		
9					52					85		
0					53			,		86		
1				-	54					87		
2			 -		55					88		
3					56		_		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	89		
4					57					90		
5		·			58					91		
6					59					92		
7					60					93		
8					61					94		
9		_			62					95		
0					63					96		
1					64					97		
2				$\neg \neg$	65					98		
3			1		66		·			99		
-	T.	otales		_		Τ.	otales				T	otales

TOTAL DE PLANTAS DEL LOTE (ESTIMADO POR EL MONITOREADOR)	
CANCROSIS	

ANEXO 3

Delegaciones del MAA, que remiten muestras para la detección de "Fusiarosis de la espiga de Trigo"



ANEXO 4

METODOLOGÍA DE TRABAJO CON TRAMPAS CAZAESPORAS

(extraído de "Metodología de Trabajo con trampas cazaesporas" de Ing. Agr. Mariano Cracogna – EEA – INTA Reconquista)

Fundamento del uso de cazaesporas

Las urediniosporas (esporas de la roya de la soja) constituyen la principal unidad de diseminación del patógeno; se producen abundantemente por varias generaciones durante el ciclo del cultivo y son llevadas a grandes distancias por el viento. Uno de los métodos utilizados para la detección de esporas es el uso de un cazaesporas con portaobjetos impregnados con sustancias adhesivas expuestos al aire en forma directa, donde las esporas son atrapadas por sedimentación. Es un método simple y económico pero en algunos casos la captura de esporas grandes oculta a las más pequeñas, como son las esporas de la roya.

Descripción de las trampas cazaesporas

Los cazaesporas son equipos construidos en chapa y hierro, con un eje que se clava verticalmente en el suelo y sobre el cual va colocada en su parte superior una estructura tipo veleta que se orienta con la dirección del viento y recepciona las esporas que transporta el aire en un portaobjetos colocado a 45° dentro de la veleta.

Objetivos del Cazaesporas

- Determinar a partir de qué momento / fecha comienzan a aparecer las primeras esporas similares a las de Phakopsora pachyrhizi.
- Determinar la zona geográfica de distribución y su alcance latitudinal.
- Cuantificar a través del tiempo la evolución de la carga de esporas en el ambiente.

Metodología de trabajo

Basado en los resultados de experiencias previas se trabajará con la veleta ubicada a 1,2 m. Alturas inferiores recogen mucho material inerte, lo cual dificulta la posterior observación con el microscopio. La trampa cazaesporas debe ser ubicada en un lugar abierto, alejada de construcciones o masas arbóreas que puedan interferir en la libre circulación del aire.

Tomando en consideración que el tiempo requerido para la lectura resulta operativamente muy prolongado (una hora por cada portaobjeto, treinta minutos por cada campo) y que las mayores capturas se dan cuando el portaobjetos se encuentra a 45°, se reduce significativamente el tiempo necesario para la observación cuando se utiliza un solo portaobjetos en dicha posición.

En esta posición se colocará un portaobjetos impregnado con vaselina semisólida utilizando otro portaobjetos como espátula. Se procede de la misma forma que la preparación de un frotis para observación con microscopio: en un extremo del portaobjetos se coloca una porción de vaselina y con el otro se desplaza hacia el extremo opuesto, obteniéndose una fina película.

Este portaobjeto se coloca a las 9 hs. del día de preparación y se retira de la trampa cazaesporas al día siguiente a la misma hora, es decir que se deja en el equipo durante 24 hs. Es recomendable anotar en una columna de la planilla de datos la dirección predominante del viento durante ese día y si se produjeron precipitaciones.

Para la preparación del portaobjetos para su lectura se depositará una gota de agua en dos posiciones del mismo y sobre ellas se colocará un cubreobjetos, obteniéndose dos campos de observación. La determinación de las esporas se realiza por simple observación visual y para ello es necesario estar familiarizado con la forma y características morfológicas de las esporas de *Phakopsora*. Es recomendable la observación de un preparado permanente antes de comenzar con la observación del portaobjetos proveniente de la trampa. Una descripción que se ajusta a las características de las urediniosporas es la siguiente: son globosas u ovoides, de 15-19 x 23-31 μ, membrana hialina de 1-1,5 μ de espesor, poros germinativos indistintos, con espínulas pequeñas y regularmente espaciadas.

En caso de no poder realizar la lectura del portaobjetos el mismo día en que se retira de la trampa, se puede guardar el mismo en heladera hasta por una semana.

Para la cuantificación es necesario barrer toda la superficie del cubreobjetos contabilizando el número de esporas sospechosas y para luego calcular el promedio de esporas por día. El cazaesporas no nos dará información sobre la viabilidad de la esporas y tampoco un 100% de seguridad de que sean esporas de Phakopsora, dado que se basa en la experiencia del observador y en su capacidad de observación.