

CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LOS CULTIVOS INDUSTRIALES

Algodón

Coordinador Programa Nacional de Cultivos Industriales:
Ing. Agr. (MSc.) Alejandro Valeiro

Director Centro Regional Chaco - Formosa:
Ing. Agr. Eduardo Delssin

Director Centro Regional Tucumán-Santiago del Estero:
Ing. Agr. Horacio Jañez

Director Centro Regional Santa Fé:
Ing. Agr. José Luis Spontón

Editor Ejecutivo:
Ing. Agr. Guillermo J. March

Editores Adjuntos:
Ing. Agr. (MSc.) Alejandro M. Rago (IPaVe/CIAP, Córdoba).
Ing. Agr. (MSc.) Roberto Sopena (EEA Famaillá, Tucumán).
Ing. Agr. (MSc.) Daniel Díaz (Instituto de Genética/CICVyA, Buenos Aires).
Ing. Agr. (PhD.) Rodolfo Bogiovanni (EEA Manfredi, Córdoba).
Ing. Agr. (MSc.) Marcelo Mayol (EEA Cerro Azul, Misiones).
Ing. Agr. (MSc.) Diana Piedra (CR Chaco-Formosa, Chaco).
Ing. Agr. (PhD.) Luis Erazzú (EEA Famaillá, Tucumán).
Ing. Agr. (MSc.) Jorge Morandi (CR Tucumán-Santiago del Estero, Tucumán).

INTA – CIAP Av. 11 de Septiembre 4755 - X05020ICA - Córdoba, Argentina

Impresión: Biglia Impresores, Corrientes 3362, Córdoba.
Diseño de Tapa: José A. Santamarina Murillo.
Diagramación de Texto: Enrique Biglia.

La información que consta en los distintos artículos es de responsabilidad exclusiva de los autores de los trabajos, los que no necesariamente manifiestan el punto de vista del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
El contenido puede reproducirse dejando expresa constancia de la fuente.

CONTENIDO

SECCIONES	Página
OPINIÓN/REVISIÓN	
Objetivos comunes para la investigación en algodón: problemas y soluciones. M. Rafiq Chaudry.	101
<i>Cotton leafroll dwarf virus</i>, agente causal de la enfermedad azul del algodón. María F. Casse, Verónica C. Delfosse, Esteban Hopp, Iván Bonacic Kresic y Ana J. Distéfano.	105
INVESTIGACIÓN	
Efecto del fraccionamiento de las aplicaciones de nitrógeno sobre la productividad del algodón en surcos estrechos bajo riego. Mario H. Mondino y Oscar A. Peterlin.	110
Efecto de la aplicación de pyraclostrobin+epoxiconazole sobre la senescencia foliar, la tasa de llenado de cápsulas y la calidad de fibras y semillas de algodón. José R. Tarragó, Darío Aranda, Nelson Nadal, Daniel Ojeda y Iván Bonacic.	116
Selección de líneas de algodón con fructificación agrupada en progenies obtenidas a partir de mutaciones inducidas en Guazuncho 2 INTA. Daniel Díaz, Mauricio Tcach, Oscar Peterlin, Mario Mondino y Alberto Prina.	124
Caracterización morfológica de los carpelos y molecular de tres genotipos de algodón resistentes y una variedad no resistente a tormentas. Lorena Klein, Mónica Spoljaric, Maurico Tcach y Daniel Díaz.	127
Algodón en surcos estrechos: ¿podemos aumentar el rendimiento mediante la mejora en la oferta de asimilados. Marcelo Paytas, Luciano Mieres, Arturo Regonat y Omar Gregoret.	131
La biofertilización con <i>Azospirillum</i> y <i>Azotobacter</i>, su interacción con la infección de hongos micorrícicos en el cultivo de algodón (<i>Gossypium hirsutum</i>). Marcela R. Cossoli y María C. Iglesias.	136
Manejo de picudo del algodoneo <i>Anthonomus grandis</i> (Boh. (Coleoptera: Curculionidae): su relación con el ciclo del cultivo y la influencia de factores ambientales sobre las poblaciones de este insecto. Violeta M. Casuso, José Tarragó, Germán Herrera, Francisco Quintana y Nelson Nadal.	142
Control químico de rebrotes de algodón (<i>Gossypium hirsutum</i>) resistente al herbicida glifosato. Iván Bestanga, Alejandra Ledda y Octavio Ingaramo.	148

Evaluación del comportamiento de variedades de algodón sembradas en surcos distanciados a 0,48 m y alta densidad de plantas en la localidad de Presidencia Roque Sáenz Peña.	153
Mauricio Tcach, Silvia Ibaló y Alex Montenegro.	
Efectos de la aplicación de reguladores del crecimiento según el largo de entrenudo en algodón en surcos ultraestrechos.	157
Mario Mondino, Oscar Peterlin y Sebastián Coriale.	
Variedad, distanciamiento y densidad en algodón (<i>Gossypium hirsutum</i>): efectos sobre la partición de asimilados y el rendimiento.	162
Walter O. Ibarra Zamudio, Laura Giménez, Silvia Ibaló, Mauricio Tcach, y Rosalino Ortiz.	
-	
Capturas del picudo del algodnero (<i>Anthonomus grandis</i>) en trampas con feromona en Reconquista (Santa Fe), en el período 2006-2011.	168
María A. Sosa, Daniela E. Vitti y Melina S. Almada.	
Análisis económico de tres técnicas de control de <i>Anthonomus grandis</i> Boh. (Coleoptera: Curculionidae) en algodón.	172
Violeta M. Casuso y Karina Wdowiak.	
Supervivencia del picudo del algodnero (<i>Anthonomus grandis</i>) en fardos de fibra de algodón durante el proceso de desmote.	175
Alex Montenegro, Jorge Paz y Patricia Fernández.	
Capacidad operativa de desmote del algodón en bruto en Argentina.	180
Alex Montenegro, Diego Bela, Jorge Paz y Patricia Fernández.	

Un centro internacional de investigación en algodón debe trabajar en temas amplios, con implicancias multinacionales. Un centro de este tipo puede beneficiar a la industria global del algodón como

un todo, agrupando recursos a través de la colaboración y ayudando a coordinar y asegurar coherencia en la investigación en la producción algodonera.

***Cotton leafroll dwarf virus*, agente causal de la enfermedad azul del algodón**

María F. Casse¹, Verónica C. Delfosse², Esteban Hopp², Iván Bonacic Kresic¹ y Ana J. Distéfano²

1- INTA, EEA Sáenz Peña, Chaco. 2- Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA-Castelar.
Correo-e: mfcasse@chaco.inta.gov.ar, adistefano@cni.inta.gov.ar

El algodón (*Gossypium hirsutum*) tiene una amplia importancia mundial como fuente de fibra natural, siendo un cultivo regional clave en el NEA. Durante la última campaña 2010/11 la Argentina registró un aumento en la superficie destinada al cultivo de algodón, siendo el Chaco la principal provincia algodonera con una participación del 66 % a nivel nacional. Las enfermedades de origen viral causan pérdidas significativas de producción en las especies cultivadas a nivel mundial. La enfermedad de origen viral más importante en el cultivo de algodón en Sudamérica es la enfermedad azul (11). Esta enfermedad fue descrita por primera vez sobre cultivos de algodón en la República Centroafricana en el año 1949, y a partir de ese momento se la observó en varias regiones de África, Asia y América. En Argentina se manifestó por primera vez en la provincia de Misiones en 1983, citándose inicialmente como "mal de Misiones" y afectó a variedades de algodón producidas por INTA (6). En la campaña agrícola 1993/94 se presentó de forma generalizada afectando las principales zonas algodoneras de Argentina (1, 13).

Se mencionan pérdidas de más del 80 % de la producción en variedades susceptibles si el pulgón del algodonero, *Aphis gossypii* vector del virus causal esta enfermedad, no es controlado en las etapas

iniciales de crecimiento del cultivo. Las plantas infectadas tempranamente por el virus se tornan completamente estériles, y aún cuando las plantas sean afectadas durante el período de floración las pérdidas son significativas (14). En el caso de que la infección ocurra posterior a los 100 días de la emergencia, se observan pérdidas del 15-20 % (4). En las plantas infectadas que logran producir se observan pérdidas en la calidad de semillas y de la fibra (6).

En estudios de transmisión secuencial en diferentes momentos del ciclo del cultivo (20, 27, 34, 41, 48 y 55 días posteriores a la emergencia), todos los parámetros evaluados (altura de planta, número de cápsulas por planta, diámetro medio de las cápsulas y la producción de algodón en bruto), fueron afectados significativamente por la época de inoculación, siendo la más temprana la que provoca las mayores pérdidas (14).

En lo que se refiere al manejo de las enfermedades de origen viral, la principal estrategia es el uso de variedades resistentes. Otra metodología utilizada se basa en el control de los insectos vectores con la aplicación de insecticidas. Los insecticidas resultan perjudiciales para el ambiente, aumentan los costos de producción y no protegen al cultivo durante toda la estación de crecimiento (11); por lo tanto, el estudio y caracterización molecular del

patógeno y la búsqueda de fuentes de resistencia genética en algodón, son consideradas de alta prioridad.

Los materiales genéticos derivados de cruzamientos del híbrido tri-específico "HAR" (*G. hirsutum*, *G. arboreum*, *G. raimondii*), manifiestan elevados niveles de resistencia o virtual inmunidad a la enfermedad (1). En tal sentido se destaca que las variedades producidas por el INTA llevan incorporado germoplasma HAR.

Síntomas

Los síntomas característicos de la enfermedad azul del algodón son enrollamiento de hojas hacia abajo, textura coriácea, coloración verde oscura con tonalidades azuladas y amarillamiento de nervaduras y enanismo debido al acortamiento de los entrenudos (5) (Figura 1). Los síntomas son más pronunciados cuando las plantas son infectadas en estadios tempranos de crecimiento (5).



Figura 1. Plantas de algodón sanas (izquierda) y plantas de la misma edad que presentan síntomas típicos de la enfermedad azul (derecha).

Identificación del Virus

En el año 1994 Lenardón (13) mediante ensayos serológicos de DAS-ELISA con antisueros contra *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) variedad RPV y PAV y *Beet western yellow virus* (BWYV), efectuados sobre plantas infectadas de la zona central de Chaco, determinó la existencia de una relación serológica entre el virus causal de la enfermedad azul del algodón y estos tres virus miembros de la familia *Luteovi-*

ridae. Los virus de esta familia se agrupan en tres géneros, en base a su organización genómica, sus estrategias de replicación y sus mecanismos de expresión, *Luteovirus*, *Polerovirus* y *Enamovirus* (9).

Correa et al. (7) secuenciaron una región de 1.400 pb del genoma del virus asociado a la enfermedad azul del algodón en Brasil. Mediante el análisis filogenético de la secuencia de la cápside y con una secuencia parcial de la RNA polimerasa (RdRp) determinaron que el virus pertenecería al género *Polerovirus*, de la familia *Luteoviridae* y propusieron denominarlo *Cotton leafroll dwarf virus* (CLR DV).

Recientemente Distéfano et al. (10) obtuvieron por primera vez la secuencia completa del genoma del CLR DV-ARG (aislamiento de Chaco), asociado a la enfermedad azul del algodón, confirmando que el virus debe clasificarse como una nueva especie dentro del género *Polerovirus* (familia *Luteoviridae*) (10). El análisis filogenético realizado a partir de la secuencia mostró que el aislamiento argentino del CLR DV y el aislamiento brasileño están muy relacionados entre si, indicando que serían variantes geográficas de la misma especie viral (10). El CLR DV-ARG posee un genoma de RNA de simple cadena positiva de 5.866 kb. Por ensayos de complementariedad de secuencias (hibridación mediante Northern blot), se detectó, además del RNA genómico viral (gRNA), un RNA subgenómico (sgRNA) (10). En el genoma se identificaron seis marcos abiertos de lectura (ORFs) similares a los descritos para otros virus emparentados del género *Polerovirus*. Los estudios bioinformáticos (*in silico*) permitieron predecir que los ORFs 0, 1 y 2 se traducen a partir del RNA viral (gRNA) dando como producto las proteínas P0 (supresor de silenciamiento génico), P1 y la proteína P1-P2 a partir de un cambio de marco de lectura traduccional (*frameshift*) que serían componentes de la RNA polimerasa viral dependiente de RNA (RdRp). Los ORFs 3, 4 y 5 se traducen a partir de un RNA subgenómico (sgRNA) dando lugar a las proteínas P3 (cápside vi-

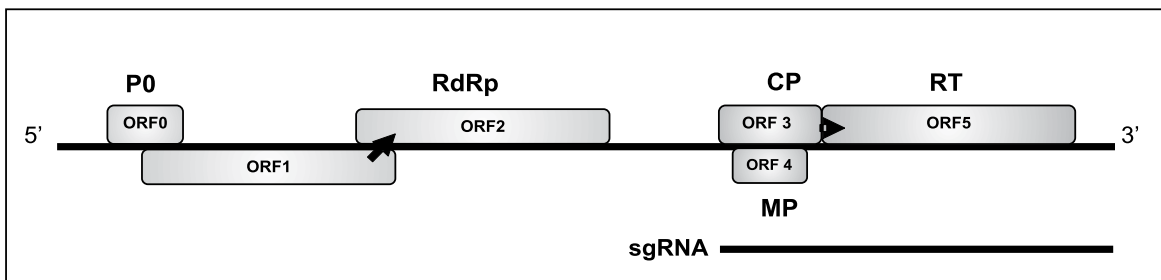


Figura 2. Esquema de la organización del genoma del CLRDV. ORF 0, proteína supresora del silenciamiento; ORF 1 + ORF 2, RNA polimerasa dependiente de RNA; ORF 3, proteína mayoritaria de cápside; ORF 4, proteína de movimiento; ORF 3 + ORF 5, dominio readthrough de la proteína de cápside. Se representa por una flecha horizontal el RNA subgenómico (sgRNA) a partir del cual se traducen los genes de la zona 3' del genoma.

ral), P4 (probable proteína de movimiento viral de célula a célula) y P3-P5 (dominio *readthrough* de la proteína de cápside) (Figura 2). El estudio funcional de las proteínas codificadas por el CLRDV es necesario para confirmar las predicciones *in silico* sobre distintas funciones virales, para luego poder plantear estrategias más efectivas de control de la enfermedad.

Los viriones son icosaédricos, de aproximadamente 25 nm de diámetro, limitados al floema de su planta hospedante y transmitidos en forma persistente, circulativa y no-propagativa por áfidos (12); esto significa que este tipo de virus no infecta y no se replica en el insecto vector.

Transmisión

Los áfidos corresponden al principal grupo de agentes vectores de virus de las plantas. Los luteovirus presentan una estructura genómica y estructural relativamente simple pero poseen funciones moleculares complejas que son requeridas para infectar, replicarse y distribuirse entre sus plantas hospedantes (12). Este tipo de virus se caracteriza por tener un rango limitado de hospedantes e infectar primariamente el floema de las plantas. Solamente son transmitidos por un número limitado de especies de áfidos, mostrando un alto nivel de especificidad en la relación virus-vector.

Durante la transmisión, los luteovirus circulan a través del cuerpo del insecto vector, requiriendo un reconocimiento, penetración y transporte celular en el áfido. La

ingestión de los luteovirus comienza cuando los áfidos inician su alimentación en el tejido floemático de las plantas a través de los estiletes. La ingestión de los virus por parte de los áfidos no es específica, y muchos virus que normalmente no son transmitidos por áfidos, pueden ser ingeridos dentro del intestino pero luego son eliminados a través del excremento azucarado. La adquisición de los luteovirus ocurre cuando el virus es específicamente reconocido y transportado por el tejido epitelial del intestino del áfido y se libera dentro del hemocele. Una vez liberado, en la hemolinfa puede sobrevivir por varias semanas y luego es pasivamente transportado a la glándula salival donde completa la transmisión circulativa. Durante la alimentación y penetración de las células del hospedante también se liberan enzimas y otras sustancias que son secretadas a través del canal salival que se extiende a lo largo de los estiletes. Los luteovirus, que se encuentran suspendidos en el material de secreción salival, se inoculan en las células de un hospedante susceptible durante la alimentación (12). Sólo aquellos virus que son capaces de penetrar en la glándula salival y entrar en los conductos salivares son transmisibles.

Evaluación del comportamiento de gemoplasma de algodón en programas de mejoramiento genético

Como ya se mencionó, los *Poleovirus* se caracterizan por su modo de propagación

y su tropismo celular. El CLRDV está confinado al floema de su planta hospedante, en particular a las células acompañantes, no siendo posible su transmisión en forma mecánica.

Los estudios experimentales de transmisión con áfidos demuestran que el CLRDV puede transmitirse eficientemente y reproducir los síntomas de la enfermedad (2, 8). La evaluación de germoplasma de algodón resistente a CLRDV en programas de mejoramiento, se realiza mediante la inoculación con pulgones infectivos mantenidos en invernáculo bajo condiciones controladas durante todo el año (2). Para lograr la transmisión sobre plantas sanas de germoplasma susceptible bastaron dos vectores infectivos por planta durante ocho horas (2). Por otra parte, cuanto mayor es el número de dichos vectores y el tiempo de permanencia de los mismos sobre las plantas susceptibles, más severos resultan los síntomas y menor el nivel de remisión de los mismos.

Respecto a la viabilidad de las semillas cosechadas de plantas enfermas, se ha observado que cuanto más temprano en el ciclo del cultivo se ven afectadas dichas plantas, mayor resulta la disminución de los valores de germinación. Por otro lado, las plantas provenientes de las semillas que logran germinar, no manifiestan los síntomas de la enfermedad (2).

Como puede deducirse de la anterior descripción, se trata de una metodología compleja que requiere mantener una población numerosa de pulgones con capacidad infectiva durante todo el año limitando operativamente la cantidad de germoplasma a evaluar, requiriéndose nuevas aproximaciones para mejorar su eficiencia.

Explorar la construcción de clones infectivos de cDNA acompañado de un método eficiente de inoculación vía agroinfección, es un paso esencial para desarrollar sistemas alternativos de infección no natural por el virus. Este sistema permitiría independizarse de la transmisión por el insecto vector y constituiría una herramienta esen-

cial para el estudio de la expresión y función de los genes virales, de la replicación del virus, la interacción planta-virus-vector a nivel molecular y finalmente para la evaluación y selección de plantas tolerantes y/o resistentes al virus en los programas de mejoramiento genético del algodón. Actualmente se trabaja en la construcción y caracterización de un clon infectivo del CLRDV.

Si bien, la información completa del genoma del virus ha sido obtenida recientemente por Distefano *et al.* (10), es necesaria la caracterización funcional del virus a nivel molecular, dado que se desconocen aún aspectos básicos de la interacción hospedante-patógeno incluyendo los mecanismos de resistencia/susceptibilidad. El estudio de la enfermedad a nivel molecular permitirá complementar los trabajos de virología (centrados en el diagnóstico y control de las enfermedades de las plantas) que se realizan desde hace tiempo en el país. Con esta información, será posible generar nuevas respuestas biotecnológicas a la problemática existente.

Informe de una nueva enfermedad en el algodón de probable origen viral

Durante la campaña algodонера 2009/10 y 2010/11 se detectó una sintomatología que se manifestó afectando plantas de algodón en forma aislada o en pequeños grupos. Los síntomas que se presentaron en el estado de floración/fructificación, se caracterizaron básicamente por una clorosis internerval y marginal de las hojas afectadas y deformaciones foliares en la zona apical de las plantas. Las observaciones preliminares sugieren que la sintomatología, en principio, no se correspondería totalmente con las enfermedades de origen viral ya descritas en el país. Esta nueva enfermedad afectó a cultivares que poseen resistencia a enfermedad azul, tanto nacionales como extranjeros. Actualmente se trabaja en la identificación a nivel molecular del agente etiológico causal de ésta nueva enfermedad de algodón, como así también en la cuantificación del gra-

do de prevalencia e incidencia con que se manifiesta este problema en las regiones de producción nacional, y su evolución sobre las distintas variedades nacionales y extranjeras, como también en diversos materiales genéticos en desarrollo.

BIBLIOGRAFIA CITADA

1. Bonacic Kresic I., Campagnac N., Poisson J. y Ojeda A.D. 1997. Informe sobre la enfermedad azul del algodón en la República Argentina. VI Reunión Asociación Latinoamericana de Investigación y Desarrollo del algodón, P.R. Sáenz Peña Informe por disciplinas pp. 1-7.
2. Bonacic Kresic I., Ojeda A.D. y Gómez D.E. 2006. Primera contribución al conocimiento de la enfermedad azul del algodón en Argentina. *In: Resúmenes XII Jornadas Fitosanitarias Argentinas*. San Fernando del Valle de Catamarca, Argentina. pp. 331-332.
3. Bonacic Kresic I., Ojeda A.D., Poisson J.A. y Gómez D.E. 2006. Evaluación de cultivares y líneas avanzadas frente a la Enfermedad Azul del Algodonero, en condiciones de campo. Proyecto Nacional de Algodón INTA, 3ra Reunión Anual. pp. 179-183.
4. Brown J.K. 1992. Virus diseases of cotton. *In: Cotton diseases* (R.J. Hillocks, ed.). CAB International, Wallingford, UK. pp. 275-329.
5. Cauquil J. 1977. Etudes sur une maladie d'origine virale du cotonnier: la maladie bleue. *Coton et Fibres Tropicales*. 32: 259-278.
6. Campagnac N.A., Bonacic Kresic, M. y Poisson J. 1986. Mal de Misiones: nueva enfermedad del algodón de probable origen virósico. *In: Resúmenes VI Jornadas Fitosanitarias Argentinas*. Alto Valle de Rio Negro y Neuquén. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Comahue. 2: 503-511.
7. Correa R.L., Silva T.F., Simoes-Araujo J.L., Barroso M.S., and Vaslin F.S. 2005. Molecular characterization of a virus from the family *Luteoviridae* associated with cotton blue disease. *Arch. Virol.* 150: 1357-1367.
8. Costa A.S. & Carvalho A.M.B. 1962. Molestias de virus do algodoeiro. *Bragantia*. 21: 50-51
9. D'Arcy C.J., Domier L.L., and Mayo M.M. 2000. Family *Luteoviridae*. *In: Virus taxonomy, Classification and nomenclature of viruses* (M.H.V. Van Regenmortel, C.M Fauquet C.M. y D.H.L. Bishop, eds). Academic Press, San Diego, EE.UU. pp. 775-784.
10. Distéfano A.J., Bonacic Kresic. I. and Hopp H.E. 2010. The complete genome sequence of a virus associated with cotton blue disease, cotton leafroll dwarf virus, confirms that it is a new member of the genus *Polerovirus*. *Archives of Virology* 155 (11): 1849-54.
11. Fang D.D., Xiao J. and Canci P.C. 2010. A new SNP haplotype associated with blue disease resistance gene in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 120: 943-953.
12. Gray S., and Gildow F.E. 2003. Luteovirus-aphid interactions. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41: 539-566.
13. Lenardon S. 1994. Caracterización del agente causal de la enfermedad azul del algodón en el área centro chaqueña. Informe del PIC 320.536, IFFIVE (CICA) del INTA.
14. Michelotto M.A. & Busoli A.C. 2006. Efeito da Época de inoculação do Vírus do Mosaico das Nervuras por *Aphis gossypii* Glover no Desenvolvimento e na Produção do Algodoeiro. *Neotropical Entomology* 35 (2): 251-256.