BV48

**Caracterización molecular de *Plasmopara halstedii* en Argentina**

Martínez. L.1; Garayalde A.2; Quiroz F.3; Armando L. 1; Erreguerena I. 3; Carrera A. 1,4

1CERZOS-CONICET, Bahía Blanca. 2 Dpto. Matemática, UNS, 3INTA Balcarce, 4Dpto. Agronomía, UNS.

El mildiu del girasol es una enfermedad que impacta en la producción a nivel mundial. En Argentina es una de las cinco principales patologías que afectan al cultivo. Su agente causal es el oomycete *Plasmopara halstedii*. Este organismo posee compatibilidad básica con el girasol pero existen genes altamente especializados en la planta (genes *R: Pln*) cuyos productos son capaces de reconocer los efectores específicos del patógeno en una interacción gen-a-gen. Este patógeno especialista ha demostrado poseer capacidad de superar estos genes mayores gracias a que genera variabilidad genética por mutación y recombinación sexual-asexual.

El objetivo fue la caracterización genética de variantes de *P. halstedii* y su relación con la aparición de perfiles más virulentos recientemente en Argentina. Se obtuvieron aislamientos colectados en Prov. de Bs. As y Sta. Fe en dos campañas. Se extrajo ADN total (método CTAB) a partir de tejido foliar. Se utilizaron iniciadores específicos basados en secuencias de cinco loci *ESTs* que solo amplifican el ADN del huésped por PCR. Se analizó la secuencia de nucleótidos y de aminoácidos predicha de los fragmentos amplificados en las bases NCBI, Pfam y UniProt. La localización celular de las proteínas fue predicha con la plataforma CELLO. El análisis de secuencias se complementó con una caracterización de los aislamientos en base a la respuesta de un set definido de líneas de girasol portadoras de diferentes genes *Pl* (líneas diferenciales) para obtener información de raza. A fin de evaluar la sensibilidad de la técnica se realizó un experimento adicional de extracción de ADN a partir de mezclas artificiales con diferentes proporciones de tejido visiblemente infectado y sano proveniente de la misma planta.

Se encontraron diferencias entre las secuencias de los aislamientos de Argentina que consistieron en polimorfismos tipo SNPs e INDELs en los *loci Pha39, Pha42, Pha43, Pha74* y *Pha106*. El análisis sobre líneas diferenciales mostró que los mismos corresponden a la raza 710. Se encontraron además diferencias en el ADN con la misma raza descripta en Francia.

Los loci *ESTs* corresponden a proteínas de *P. halstedii* con funciones entransducción de la vía del AMPc, transporte en membrana, respuesta a estrés y una directamente relacionada con la patogenicidad, codificante de efectores post-haustoriales RXLR. La localización subcelular resultó citoplasma/mitocondria, retículo endoplasmático, membrana plasmática y extracelular/nuclear, respectivamente.

Las mezclas artificiales demostraron que la técnica de extracción y amplificación posee una alta sensibilidad para la detección del patógeno en hoja aun cuando la misma no presenta síntomas externos, lo cual se condice con el crecimiento sistémico del micelio y con la naturaleza biótrofa del patógeno.

Este trabajo constituye la primera caracterización molecular *P. halstedii* en Argentina y aporta información para el diseño de estrategias integradas de control de la enfermedad.