$\Phi YTON$

REVISTA INTERNACIONAL DE BOTÁNICA EXPERIMENTAL INTERNATIONAL JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY

FUNDACION ROMULO RAGGIO
Gaspar Campos 861, 1638 Vicente López (BA), Argentina
www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar

Registros de *Sclerotinia minor* en plantas cultivadas e invasoras de la región surpampeana y norpatagónica, Argentina, incluyendo estudios comparativos con *Sclerotinia sclerotiorum*

Records of *Sclerotinia minor* infecting cultivated and invasive plants in the southern Pampas and northern Patagonia, Argentina, including comparative studies with *Sclerotinia sclerotiorum*

Kiehr M¹, R Delhey¹, J Lusto², PJ Paoloni³

Resumen. Se informa sobre hospedantes, distribución, daños e importancia de Sclerotinia minor en la región surpampeana y norpatagónica de la Argentina. Se encontraron infecciones espontáneas de S. minor en siete plantas hospederas. Sonchus oleraceus y Eruca vesicaria son hospedantes nuevos de S. minor, Cichorium intybus y Zinnia elegans se registran por primera vez como hospedantes para la Argentina. En la región estudiada, S. minor ocasiona daños considerables en Helianthus annuus y Lactuca sativa y es ocasionalmente importante en C. intybus y Solanum lycopersicum. Se realizaron estudios comparativos, in vitro e in planta, con aislados de S. minor y S. sclerotiorum obtenidos de girasol.

Palabras clave: Sclerotinia minor, Sclerotinia sclerotiorum; Hospedantes; Argentina.

Abstract. A report is given on host plants, distribution, damage and importance of *Sclerotinia minor* in the southern Pampas and northern Patagonia regions (Argentina). Spontaneous infections were recorded on seven plant species. *Sonchus oleraceus* and *Eruca vesicaria* are new hosts for *S. minor*, *Cichorium intybus* and *Zinnia elegans* are new hosts for Argentina. This fungus causes important damage on *Helianthus annuus* and *Lactuca sativa*, and it occasionally affects *C. intybus* and *Solanum lycopersicum*. Comparative *in vitro* and *in planta* studies were carried out with *S. minor* and *S. sclerotiorum* isolates obtained from sunflower.

Keywords: Sclerotinia minor, Sclerotinia sclerotiorum; Host plants; Argentina.

¹Dto. de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, 8000 Bahía Blanca.

²Convenio Universidad Nacional del Sur – Municipalidad de Bahía Blanca.

INTRODUCCIÓN

Sclerotinia minor Jagger es un hongo polífago que causa podredumbre y muerte de plantas en numerosas especies cultivadas y silvestres (Melzer et al., 1997; Farr y Rossman, 2010). Si bien no alcanza la importancia de su congénere S. sclerotiorum (Lib.) de Bary, puede resultar muy destructivo en varios cultivos importantes (Purdy, 1979). En la Argentina figura entre los principales patógenos del maní (Marinelli et al., 2004); causa daños también en lechuga, tomate, soja y otros cultivos (Mitidieri, 1975, 1983). Sin embargo, los estudios sobre este patógeno en el país son deficientes y en la región surpampeana y norpatagónica son prácticamente inexistentes. En las últimas décadas hemos registrado las enfermedades causadas por Sclerotinia spp. en cultivos y plantas silvestres de la región surpampeana y norpatagónica; la información sobre S. sclerotiorum ha sido publicada recientemente (Delhey et al., 2009). Aquí se informa sobre hospedantes, distribución, síntomas, daños e importancia de S. minor, en plantas cultivadas y malezas de la región nombrada. Se comparan, además, distintos aislados de S. minor y S. sclerotiorum, obtenidos de girasol, en cuanto a su comportamiento en medio de cultivo e inoculando plantas de girasol.

MATERIALES Y MÉTODOS

A lo largo de más de veinte años se han registrado las infecciones espontáneas causadas por S. minor, en el sur de la provincia de Buenos Aires y zonas aledañas; también se ha tomado nota de los síntomas, daños e intensidad de la enfermedad. La identificación se basó en los síntomas y signos de la enfermedad, complementada por estudios microscópicos del hongo. Cuando el material recolectado no mostró signos típicos, se lo incubó en una cámara húmeda, bajo condiciones que permitieron el desarrollo de micelio y esclerocios. El carácter distintivo para diferenciar entre S. minor y S. sclerotiorum fue el tamaño de los esclerocios (Kohn, 1979; Willetts y Wong, 1980). Los aislamientos se realizaron a partir de los esclerocios o de la zona de avance de la podredumbre en los tejidos afectados. En el caso de podredumbre basal en girasol, los aislamientos se hicieron a partir de esclerocios muestreados en dos lotes en los cuales se había observado la presencia simultánea de S. minor y S. sclerotiorum: en Cascallares (partido Tres Arroyos), muestreado en la campaña 1996/97 (Sm 97, Ss 97), y en Magdala (partido Pehuajó), muestreado en 1997/98 (Sm 98, Ss 98). Los estudios culturales se realizaron en agar papa dextrosado, en cajas de Petri, tres por aislamiento, incubadas a 20-22 °C.

Para los estudios de patogenicidad se inocularon plantas de girasol, en estado vegetativo, colocando trozos de APD colonizados por *S. minor y S. sclerotiorum* cubriéndolos con algodón humedecido y cinta plástica, durante tres días, en la base del tallo. Se inocularon, además, plántulas de girasol, co-

locando seis semillas pregerminadas sobre cultivos jóvenes de cada uno de los aislados en cajas de Petri, con tres repeticiones totalmente aleatorizadas. Se siguió el avance de la infección en las plántulas, hasta el día nueve después de la inoculación, determinando incidencia y severidad. La incidencia se midió como proporción de plántulas sintomáticas. La severidad se calculó por la siguiente fórmula:

Severidad =
$$(0 \times n_0 + 1 \times n_1 + 2 \times n_2) / (n_0 + n_1 + n_2) \times 2$$

donde n_x es el número de plántulas en cada categoría. Las categorías de evaluación fueron: $0 = \sin s$ íntomas; 1 = necrosis visible; 2 = total invasión y desarrollo de micelio en las plántulas.

RESULTADOS

Registro de especies infectadas con *Sclerotinia minor* Asteraceae

Cichorium intybus (achicoria): BAI¹: Bahía Blanca (Villa Elisa). Se ha observado durante varios años en una huerta comercial. En julio de 1999, en una parcela de alrededor de 20 m², aproximadamente el 50% de las plantas jóvenes (dos a tres hojas bien desarrolladas) presentaron síntomas de la enfermedad, formando varios manchones; en los años siguientes se repitió el ataque, aunque con una menor incidencia. La podredumbre destruyó las raíces y el cuello avanzando luego por las hojas en dirección acropetal. En el borde de avance se desarrolló un micelio blanco y en la parte necrosada se formaron los esclerocios.

Helianthus annuus (girasol): BAI: Tres Arroyos (Cascallares), San Cayetano (Energía), Pehuajó (Magdala), Patagones (Villalonga), Daireaux (Daireaux); LPA: Catriló (Catriló). Infección basal. Registrada a partir de la temporada 1996/97, parece ser de creciente importancia. Frecuentemente se observan, en el mismo lote, infecciones basales debidas a S. minor y S. sclerotiorum. La incidencia de podredumbre basal debida a S. minor, en cultivos del sudoeste bonaerense y este de La Pampa en 1998, oscilaron entre 1 y 22%. Los valores para S. sclerotiorum fueron similares, entre 1 y 19% (Paoloni et al., 1998).

Lactuca sativa (lechuga): BAI: Bahía Blanca. Se observó con frecuencia en las huertas del cinturón hortícola de Bahía Blanca, a veces conjuntamente con S. sclerotiorum. Este último hongo produjo infecciones en la base y/o en la parte aérea, mientras que S. minor sólo estuvo asociado con infecciones basales. Ambas especies causaron marchitamiento repentino y muerte de las plantas.

Sonchus oleraceus (cerraja): BAI: Bahía Blanca; pocas plantas infectadas creciendo como maleza en un cantero de zinia, también infectada. Infección basal.

Zinnia elegans (zinia): BAI: Bahía Blanca. Pocas plantas infectadas (ver anterior). Infección basal.

¹BAI = prov. Buenos Aires; LPA = La Pampa; RNE = Río Negro

Brassicaceae

Eruca vesicaria (rúcula): BAI: Bahía Blanca. Una vez se observó infección en algunas plantas creciendo en un ambiente ruderal.

Solanaceae

Solanum lycopersicum (tomate): BAI: Bahía Blanca (Alférez San Martín); RNE: Avellaneda (Choele Choel). En un lote de Alférez San Martín se detectó la infección al comienzo de la cosecha; la incidencia fue del 5,3%. Se observó la destrucción parcial de las raíces y de la base del tallo llegando hasta una altura de aproximadamente 15 cm del suelo, alcanzando las primeras ramificaciones. Las lesiones estaban recubiertas por un micelio afelpado de color blancuzco con numerosos esclerocios negros pequeños.

Síntomas. Los síntomas causados por *S. minor* son similares a los de S. sclerotiorum (Delhey et al., 2009), pero se limitan a la base de las plantas. Los tejidos afectados manifiestan una podredumbre húmeda blanda, como en lechuga y achicoria, o húmeda y firme, como en girasol y tomate. Las plantas afectadas se marchitan y con frecuencia terminan muriendo. En comparación con S. sclerotiorum, el micelio que desarrolla S. minor sobre las partes afectadas suele ser menos abundante y, en condiciones de alta humedad, forma una capa blanca más delgada y densa pegada al tejido del hospedante. Los esclerocios son mucho más pequeños, raras veces llegan a los 2 mm. Son esféricos a irregulares y tienen una estructura anatómica similar a los de S. sclerotiorum. En la base del tallo de girasol hemos observado la formación de costras superficiales debido a la fusión de muchos esclerocios pequeños; sin embargo, los esclerocios formados en el espacio medular del tallo siempre conservan su individualidad.

Características culturales. Se obtuvieron aislados de achicoria, lechuga, zinia, girasol, rúcula y tomate. En los ensayos culturales, en APD, de los aislados obtenidos de girasol se observó que los cultivos de *S. sclerotiorum* tuvieron un desarrollo más abundante de micelio que los de *S. minor*. La tasa de crecimiento radial de *S. sclerotiorum* en medio de cultivo tiende a ser mayor que la de *S. minor* (Tabla 1). Fue muy marcada la diferencia en el número de esclerocios formados y su tamaño, con muchos esclerocios pequeños en *S. minor* y relativamente pocos esclerocios grandes en *S. sclerotiorum* (Tabla 1).

Pruebas de patogenicidad. En el ensayo con plántulas de girasol, los cuatro aislados lograron infectar y colonizar todas las plántulas, desarrollando el típico micelio blanco, causando necrosis de la radícula y, finalmente, la muerte de las plántulas, antes de las tres semanas de la inoculación. Los aislados de *S. sclerotiorum*, en especial Ss 97, fueron significativamente más rápidos en infectar e invadir el tejido vegetal que los de *S. minor* como lo indican los valores de incidencia y severidad (Tabla 1).

Las plantas grandes de girasol, inoculadas en la base del tallo, desarrollaron los típicos síntomas de podredumbre. El micelio de *S. sclerotiorum* fue más abundante, con esclerocios considerablemente más grandes, que el de *S. minor*. Se logró el reaislamiento de ambos hongos a partir del tejido infectado.

Tabla 1. Comparación de aislados de *S. minor* (Sm) y *S. sclerotiorum* (Ss) obtenidos de girasol: Características culturales en agar papa dextrosado e Incidencia y Severidad en plántulas de girasol inoculadas (5 días después de la inoculación). Los valores seguidos por la misma letra, en cada una de las columnas, no difieren significativamente (p=0,05).

Table 1. Comparison of isolates of *S. minor* (Sm) and *S. sclerotiorum* (Ss) obtained from sunflower: Cultural characteristics in potato agar, and Incidence and Severity on inoculated sunflower seedlings (5 days after inoculation). Within the same column, values followed by the same letter are not significantly different. (p=0.05).

Aislado	Crecim.	Esclerocios			Incidencia	Severidad
	radial (mm/día)	Tamaño (mm)				
	(IIIII CIIII)	No./caja	rango	media		
Sm 97	13,6	225	0,4 - 2,1	1,1	0,67 a	0,61 a
Sm 98	4,5	523	0,4 - 1,3	0,9	0,44 a	0,44 a
Ss 97	19,4	32	1,5 – 3,3	2,2	1,00 b	1,00 b
Ss 98	10,6	41,5	1,9 – 5,0	3,2	0,94 b	0,89 Ь

DISCUSIÓN

Durante nuestros estudios con *Sclerotinia* spp. discriminamos entre *S. minor* y *S. sclerotiorum*, teniendo en cuenta en primer lugar el tamaño de los esclerocios, siguiendo a Kohn (1979) y Willetts y Wong (1980). Éstos miden entre 0,5 y 2 mm en la primera especie y son considerablemente mayores en la última. En ningún caso hubo dudas en cuanto a este criterio y nunca se presentaron poblaciones de esclerocios de tamaño intermedio.

En los ensayos de patogenicidad, realizados en plantas de girasol, se dio cumplimiento a los postulados de Koch. Se mostró, además, que *S. sclerotiorum* invade más rápido el tejido del hospedante que *S. minor* lo que podría deberse al desarrollo más abundante de micelio por parte de la primera especie. Se desconoce si estas diferencias entre ambas especies, observadas en condiciones de laboratorio, se dan también en el campo.

Se registraron siete hospedantes de *S. minor*, cinco en compuestas, uno en crucíferas y uno en solanáceas. Entre ellos, *Sonchus oleraceus y Eruca vesicaria* son hospedantes nuevos de *S. minor* ya que no figuran en la lista de Melzer et al. (1997) ni en la base de datos de Farr y Rossman (2010). Se registraron dos hospedantes nuevos para la Argentina: *Cichorium intybus* y *Zinnia elegans*. Todos los registros se refieren a plantas exóticas creciendo en ambientes altamente modificados por la actividad agrícola.

Los hospedantes incluyen a una oleaginosa, tres hortalizas, una ornamental y dos malezas o invasoras. Sin embargo, la rúcula, aquí tratada como invasora, suele ser cultivada como hortaliza, de modo que *S. minor* es un potencial patógeno para este cultivo. En un mismo lote de girasol o de lechuga se pueden encontrar algunas plantas infectadas con *S. minor* y otras infectadas con *S. sclerotiorum*.

Los registros de *S. minor* en girasol en Argentina previo a nuestros estudios son escasos (Sarasola y Rocca de Sarasola, 1981); actualmente se nota un incremento general en la prevalencia e incidencia de la podredumbre basal en este cultivo, con la participación de ambas especies de *Sclerotinia* (Paoloni et al., 1998). Ambas especies están también presentes en los cultivos de girasol destinados a la producción de semilla híbrida, en la zona de riego del Valle Bonaerense del Río Colorado, sin causar, hasta el momento, daños importantes. Entre los cultivos hortícolas, lechuga y, en ocasiones, también achicoria y tomate sufren un impacto importante por *S. minor*.

Todos los registros de *S. minor* se refieren a situaciones al aire libre, a diferencia de *S. sclerotiorum* donde frecuentemente se encuentran infecciones en invernaderos (Delhey et al., 2009). Además, *S. sclerotiorum* causa infecciones tanto en la base como en la parte aérea de las plantas (Delhey et al., 2009) mientras que en todas las ocasiones donde *S. minor* estuvo involucrada, la infección se produjo en la base. Estas diferencias se deben a que *S. sclerotiorum* forma con frecuencia ascosporas, que se diseminan por las corrientes del aire y constituyen el inóculo principal. En cambio, la propagación sexual de *S. minor* ha sido observada en muy escasas oportunidades en el campo y las infecciones se deben casi exclusivamente a la germinación micelial eruptiva de los esclerocios presentes en el suelo (Abawi y Grogan, 1979).

REFERENCIAS

- Abawi, G. S., y R. G. Grogan (1979). Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology* 69: 899-904.
- Delhey, R., M. Kiehr, M.I. Allievi, J. Lusto, S. Frayssinet, B. Sidoti Hartmann, I. Kröger, P.J. Paoloni, D. Zappacosta y A. Servera (2009). Sclerotinia sclerotiorum en plantas cultivadas e invasoras del sur pampeano y norte patagónico, Argentina. Phyton, International Journal of Experimental Botany 78: 111-115.
- Farr, D.F., y A.Y. Rossman (2010). Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. http:// nt.ars-grin.gov/fungaldatabases.
- Kohn, LM. (1979). Delimitation of the economically important plant pathogenic *Sclerotinia* species. *Phytopathology* 69: 881-886.
- Marinelli, A.D., J.A. Giuggia y G. J. March (2004). Tizón por *Sclerotinia* spp. En: G. J. March y A. D. Marinelli (eds.): Enfermedades del maní en Argentina; *sine loco*. 72-82.
- Melzer, M.S., E.A. Smith y G.J. Boland (1997). Index of plant hosts of Sclerotinia minor. Canadian Journal of Plant Pathology 19: 272-280.
- Mitidieri, I.Z.M. de (1975). Podredumbre del tallo del tomate. EEA San Pedro, Horticultura Plag. N° 4, 1-2.
- Mitidieri, I.Z.M. de (1983). Podredumbre del tallo de la soja (*Scle-rotinia minor* Jagger). *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 18: 31-45.

- Paoloni, P.J., M. Kiehr y R. Delhey (1998). Incremento en la podredumbre basal del girasol y la participación de *Sclerotinia minor* en la etiología de la misma, en la región pampeana. III Reunión Nacional de Oleaginosos. Bahía Blanca, 20-22/5/1998. Actas 39-40.
- Purdy, L.H. (1979). Sclerotinia sclerotiorum: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. Phytopathology 69: 875-880.
- Sarasola, A.A. y M.A. Rocca de Sarasola (1981). Enfermedades y daños sobre maíz, sorgo y girasol en la Argentina. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Willetts, H.J. y J.A.-L. Wong (1980). The biology of Sclerotinia sclerotiorum, S. trifoliorum and S. minor with emphasis on specific nomenclature. The Botanical Review 46: 101-165.