

VARIABILIDAD DE LA LONGITUD DEL CANCRO CAUSADO POR DOS AISLAMIENTOS DE *Phomopsis helianthi* EN TALLOS DE HÍBRIDOS DE GIRASOL

VARIABILITY OF STEM CANKER LENGTH CAUSED BY TWO *Phomopsis helianthi* ISOLATES IN SUNFLOWER HYBRIDS

Verschoor M. ¹, F. Castaño ^{1,*}, A. Ridao ¹ & T. Salaberry ¹

Recibido 30/09/2013
Aceptado 28/03/2014

RESUMEN

Phomopsis helianthi provoca el cancro del tallo en girasol. Esta enfermedad no se presenta con asiduidad en Argentina, pero la agricultura conservacionista que se practica en el país facilitaría la supervivencia del inóculo en los residuos vegetales. Por tanto, deviene necesario conocer el comportamiento de cultivares de dicha oleaginosa frente a un ataque potencial del hongo de patogenicidad variable. Los híbridos de girasol se evaluaron por la longitud del cancro, en tallos enfermos, provocado por la aplicación de inóculo proveniente de dos localidades: Pergamino (PERG) y Paraná (PAR). Además, se determinó la proporción de tallos quebrados. Se detectaron diferencias entre híbridos según el tamaño de los cancos. El aislamiento PERG produjo cancos más largos y mayor quebrado de tallos que PAR. La respuesta de los cultivares a los aislamientos se interpretó como su sensibilidad ante cambios de patogenicidad. Hubo híbridos más sensibles que otros, pero DEKASOL 3881 mostró los cancos más cortos y una mayor resistencia al incremento de patogenicidad del hongo. El uso de PAR sería más conveniente en los programas de mejoramiento porque permitiría diferenciar a los híbridos por sus cancos y no provocaría la pérdida, por quebrado, de las plantas selectas por su nivel de resistencia a la enfermedad.

PALABRAS CLAVE: *Diaporthe helianthi*, *Helianthus annuus*, infección asistida, resistencia, selección.

ABSTRACT

Phomopsis helianthi is a fungus causing stem canker in sunflower plants. This disease occurs occasionally in Argentina, but the increase of sustainable agriculture practices might stimulate crop infection through plant debris left on the soil surface which becomes a niche for fungus propagules. Therefore, it is important to study the behaviour of sunflower hybrids exposed to attacks by this fungus. As the objective for the present work, sunflower hybrids were evaluated in terms of their response to inoculation with *P. helianthi* isolates from two different sites of Argentina: Pergamino (PERG) and Paraná (PAR). Stem canker length and proportion of broken stems were the investigated response variables. Differences in stem canker length were detected among hybrids. Fungus isolate from PERG produced longer stem cankers and higher number of broken stems than the one from PAR. From all the hybrids tested, Dekasol 3881 was the one with the lowest harm effects when exposed to the most pathogenic fungus isolate. Considering its low stem breaking effect, the isolate from Paraná would be more appropriate for breeding programmes, allowing plants selected for short canker length to remain standing for their use in the improvement of sunflower populations by crossing.

KEY WORDS: *Diaporthe helianthi*, *Helianthus annuus*, assisted infection, resistance, selection

¹ Facultad de Ciencias Agrarias-UNMDP, CC 276, B 7620 BKL, Balcarce.
* castaño.fernando@inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

Argentina es el cuarto productor de granos de girasol (*Helianthus annuus* L) con 3,6 millones de toneladas en la campaña 2010/11 (USDA, 2011) y el principal exportador de su aceite. La cantidad y calidad del aceite contribuye, casi con exclusividad, a la formación de su valor pecuniario (ASAGIR, 2010). Dado que, desde hace un tiempo, hay buenos precios del aceite, la superficie cultivada creció 8,8 % en 2011/12 respecto del ciclo agrícola anterior (Bolsa de Cereales, 2012). Para 2013/14, se espera un incremento en la preferencia por este cultivo por su menor costo de implantación respecto al maíz; por dar ingresos temprano y por generar buenos rendimientos en primaveras con precipitaciones, tal lo pronosticado para esta campaña (Marín-Moreno, 2013).

Una proyección realizada hacia el año 2020, indica una tendencia positiva en el requerimiento mundial de aceite de girasol (Domínguez-Brando & Sarquis, 2012). En este contexto, Argentina puede colaborar en paliar esa demanda. Para que ello ocurra, el productor argentino debería usufructuar buenos precios del grano cosechado, como actualmente, y además, elegir para la siembra cultivares que logren un rendimiento alto a través de los años.

En Argentina, el mejoramiento genético contribuye creando cultivares que logren alto pero también estable rendimiento, calidad de aceite diferenciada y buen comportamiento frente a los estreses abióticos y bióticos. Entre estos últimos, se encuentran los provocados por *Phomopsis helianthi*, agente causal del cancro del tallo (Ridao, 1994). En la naturaleza, esta enfermedad se genera por la infección del ápice foliar de plantas en estadio vegetativo, por las ascosporas del hongo, seguida por la propagación del micelio por el pecíolo hacia el tallo. De acuerdo al nivel de resistencia caulinar la lesión puede rodear al tallo, así la sección de la planta por encima del cancro se seca y el órgano debilitado se quiebra (Viguié *et al.*, 2000).

P. helianthi, que es la fase asexual del hongo ascomicete *Diaporthe helianthi*; pasa el invierno como micelio en los residuos de especies susceptibles, como las Asteráceas, que quedan des-

pués de la cosecha (Kong, 2009). El girasol, además de pertenecer a esa categoría taxonómica, es el cultivo en el que los serbios descubrieron al patógeno y que, a su vez, es la principal fuente y reservorio de *D. helianthi* (Mihaljcevic & Vukojevic, 1994).

En EEUU, por ejemplo, la identificación de tres especies de *Phomopsis*, entre las que *D. helianthi* estaba involucrada, coincidió con una dramática reducción del rendimiento de girasol, por primera vez desde que el cancro del tallo fue identificado (Febina *et al.*, 2012). En Argentina, la enfermedad no es frecuente ni su regularidad predecible (Ridao, 1994). No obstante, el hecho de que más del 75 % de la agricultura se realice bajo siembra directa (AAPRESID, 2012) hace que los rastrojos superficiales sean potenciales depósitos de su inóculo.

A pesar del auge de dicho sistema de producción, la presencia de canchros en el girasol no había sido detectada hacia fin del siglo XX en el sudeste bonaerense (SE) (Agüero, 2000). Aunque dicha situación no se ha modificado hacia nuestros días (Huguet, com. pers., 2011), la potencial aparición de esta enfermedad en cultivos de girasol del SE, hizo que en la Unidad Integrada Balcarce (UIB: FCA, UNMdP/EEA, INTA) se realizaran investigaciones orientadas a conocer más y mejor el patosistema girasol-*P. helianthi*. Esto permitiría conjeturar, con antelación, sobre el estado de conocimientos y/o medios disponibles ante una posible aparición de la enfermedad. En este marco, se valoró la patogenicidad de 15 aislamientos de *P. helianthi* de diferentes orígenes (Agüero, 2000), a fin de conocer la capacidad del hongo en enfermar al girasol. Los resultados mostraron variabilidad en el tamaño de necrosis producida por esos aislamientos, en inoculaciones de hojas y pecíolos de plantas de un solo híbrido (i.e. CONTIFLOR 15), bajo condiciones controladas de infección. En un artículo previo, Verschoor *et al.* (1998) presentaron resultados del comportamiento de híbridos luego de inoculaciones, con un aislamiento del hongo del norte de la provincia de Buenos Aires, en la parte media del tallo. La variabilidad significativa del tamaño del cancro permitió señalar los mejores híbridos. Recientemente, en la República Oriental del Uruguay,

donde en los últimos años aparecieron canchros en girasol, se sugirió que la siembra de cultivares mejorados por resistencia era la técnica adecuada para controlar *Phomopsis* (Pereyra *et al.*, 2008).

El mejoramiento genético del girasol por resistencia a enfermedades, en general, y a *Phomopsis*, en particular, pretende desarrollar híbridos moderadamente resistentes al crecimiento del patógeno en los órganos atacados y detectar aquéllos con menor inestabilidad de resistencia ante un hongo de patogenicidad variable. Además de ser cultivables a escala comercial, ese germoplasma podría ser utilizado como fuente de resistencia.

La evaluación de híbridos puede realizarse bajo infección natural, pero la prueba está limitada por la baja frecuencia de aparición de la enfermedad. En Francia, diferentes test artificiales fueron puestos a punto para evaluar el comportamiento del girasol según el órgano (i.e. hoja, pecíolo, tallo) inoculado (Bertrand & Tourvieille, 1987; Tourvieille *et al.*, 1988). En la UIB, se determinó que las respuestas de los híbridos a inoculaciones foliares, en pecíolo y caulinares con *P. helianthi* eran independientes entre sí (Verschoor *et al.*, 1998; García *et al.*, 2000).

Los objetivos fueron evaluar híbridos de girasol por su respuesta a las inoculaciones de la parte media del tallo, con aislamientos de origen diferente de *P. helianthi*, y detectar aquéllos con menor variación en la resistencia relativa del tejido caulinar ante la patogenicidad variable del hongo.

MATERIALES Y MÉTODOS

A. Material vegetal

Se utilizaron 17 híbridos de girasol descriptos por Verschoor *et al.* (1998); de ellos, 13 fueron elegidos al azar entre los cultivares disponibles en el mercado de semillas a mediados de los años 90 y que eran, por ese entonces, muy utilizados por los agricultores del sudeste bonaerense: ACA 882, ATAR 3003, CONTIFLOR 9, DEKALB G-100, DEKASOL 3881, MORGAN 704, MORGAN 738, NORKIN PUNTA, PARÁISO 4, PIONEER 6440, RANCUL, TRESUR NACIENTE, ZÉNIT. Los restantes 4,

pertenecen a una serie de híbridos de origen francés: RÉMIL, SD-PAC1, EUROFLOR y 74-F, de los cuales se conoce su comportamiento a la podredumbre del tallo provocada por *Sclerotinia sclerotiorum* (Reimonte & Castaño, 2008), pero se desconoce su nivel de resistencia al cancro causado por *P. helianthi*.

B. Experimentación

El ensayo se ubicó en el campo experimental de girasol de la UIB. El material genético se distribuyó aleatoriamente en dos franjas rectangulares, paralelas y espaciadas a aproximadamente 2 m entre sí, como una forma de agrupar los 17 híbridos que iban a ser luego inoculados. A cada híbrido se le asignó una parcela de 1 surco de 4 m de largo, con una distancia entre surcos de 0,70 m. La siembra se realizó a mano a una densidad de aproximadamente 57 mil plantas.ha⁻¹, lo que equivale a 15 plantas/parcela. Durante la emergencia, la aparición de aves provocó daños totales en algunas plántulas lo que produjo, una disminución del stand de plantas en varias parcelas.

C. Preparación del inóculo e inoculación

Se utilizaron 2 aislamientos de *P. helianthi* los cuales se denominaron, según el lugar de procedencia, como Pergamino (PERG) y Paraná (PAR). Los aislamientos fueron cedidos por el Dr. Antonio Ivancovich y la Ing. Agr. Norma Formento de las Estaciones Experimentales Agropecuarias del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA, INTA) de Pergamino y Paraná, respectivamente, cuyos grupos trabajan, desde hace tiempo, en el manejo agronómico del cancro en girasol, enfermedad que es, por otra parte, endémica en dichas regiones.

El inóculo, se recibió en tubos de ensayo con medio de cultivo agar papa dextrosa al 2%, y fue multiplicado en cajas de Petri con igual medio. Las placas se incubaron durante cinco días a 24 ± 2°C y en oscuridad. Con el aislamiento PAR se inoculó la parte media del tallo de plantas crecidas en la primera franja del ensayo, mientras que con PERG se infectaron las de la segunda. Hubo, por lo tanto, un híbrido inoculado por aislamiento. Se siguió el método de inoculación caulinar, desarrollado en el INRA (Bertrand &

Tourvieille, 1987). Para ello, se inocularon 9 plantas/parcela/franja, que se encontraban en el estadio R4 según Schneider & Miller (1981) o E4, CETIOM (1992).

Un disco de agar, de 5 mm de diámetro, obtenido con sacabocados desde el margen de la colonia miceliar de las cajas de Petri, se colocó sobre un entrenudo del tercio superior del tallo a, aproximadamente, 1 m desde el nivel del suelo. La cutícula es una barrera a la entrada de *P. helianthi* al tallo de girasol (Bertrand & Tourvieille, 1987), por lo cual se efectuó previamente a la infección y de acuerdo al protocolo desarrollado, un leve raspado en el sitio de inoculación; se eliminó la capa de células del tejido que tapiza externamente al órgano caulinar en una sección de aproximadamente 1 cm². Así el patógeno se puso directamente en contacto con los tejidos del tallo, evitando depender de la llegada del micelio luego de su propagación natural vía pecíolo y hoja. El disco de agar se adhirió mediante una cinta adhesiva, con el micelio en contacto con el tejido vegetal. Alrededor de la inoculación se colocó una hoja de papel aluminio, de 10 x 15 cm, a fin de retardar la desecación del micelio. Desde el momento de finalizar la inoculación y hasta la cuantificación de las variables se efectuaron riegos, de unos 5 mm, 2 veces a la semana, con la ayuda de un equipo con aspersores de impacto de círculo completo.

A los 25 días de la infección se midió la longitud del cancro (en mm), por arriba y abajo del sitio de infección. En ese momento se detectaron plantas cuyo papel aluminio y cinta adhesiva se habían desprendido y en consecuencia, dichos individuos no fueron considerados. Entre las demás plantas, asimismo, hubo algunas con síntomas cuyo tamaño no sobrepasaba el diámetro del disco con inóculo, por lo que tampoco fueron tenidas en cuenta. Finalmente, se midieron 7 individuos por parcela, que era el número máximo común de plantas inoculadas por surco que presentaban el sitio de infección cubierto totalmente por el papel aluminio y cuyo cancro superaba los 5 mm de longitud. En aquellas parcelas con más de 7 plantas/surco que satisfacían ese requisito, las observaciones se realizaron sobre individuos señalados al azar. Por último, se registró el número relativo de plantas quebradas a la altura de

la lesión, al estadio M4 (CETIOM 1992).

D. Análisis estadísticos

El comportamiento de los híbridos, según el tamaño del cancro, se evaluó según un ANOVA a un criterio de clasificación, en el que cada una de las 7 plantas consideradas por híbrido constituyó una repetición. Se estimó la correlación de rangos, según Spearman a fin de valorar la semejanza de clasificación de los híbridos según el tamaño de cancro generado por cada aislamiento, así como con la proporción de tallos quebrados. La prueba t de Student, para muestras con variancias diferentes, se utilizó para comparar los 2 aislamientos según su valor promedio de tamaño de cancro alcanzado en los 17 híbridos. Se estimó la prueba estadística χ^2 mancomunada, a fin de analizar la homogeneidad de las frecuencias de plantas quebradas. Todos los análisis se efectuaron según Ostle (1968).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los tallos inoculados, se reprodujeron lesiones necróticas y deprimidas semejantes a los cancos provocados naturalmente por *P. helianthi* bajo condiciones favorables al desarrollo de la enfermedad. Además, fue posible valorar la capacidad de oposición de los tejidos caulinares al crecimiento y desarrollo del patógeno, independientemente del nivel de resistencia a la progresión del micelio del hongo en hoja y en pecíolo. Un nivel moderadamente alto de resistencia foliar y/o en pecíolo hubiese alterado la llegada del micelio al tallo y, probablemente, dificultado la diferenciación de los híbridos de acuerdo esencialmente a su resistencia caulinar.

A. Comportamiento de los híbridos según el inóculo utilizado

Los híbridos mostraron respuestas significativas ($p < 0,01$) cuando se aplicó el inóculo PERG. La diferencia mínima significativa (DMS) de 10 mm, permitió generar tres grupos de híbridos según el tamaño del cancro. El grupo 1 (G1), de menor nivel de resistencia al crecimiento del cancro en el tallo medio, estuvo representado solamente por el híbrido ACA 882, que mostró el valor máximo = 197 mm. El G2, de mayor nivel de resistencia, se conformó también con un

único híbrido, DEKASOL 3881, con el valor mínimo = 68 mm. El G3, de comportamiento intermedio, estuvo compuesto por los 15 híbridos restantes, entre los que se encuentran los 4 de origen francés, cuyos tamaños de cancro difirieron de los valores máximo y mínimo (Tabla 1).

Los híbridos también mostraron comportamientos estadísticamente diferentes ($p < 0,01$) respecto del inóculo PAR. La DMS de 4 mm permitió ordenar tres grupos de híbridos. El G1 estuvo conformado por PARAÍSO 4, con el valor máximo = 79 mm, junto con RÉMIL, ATAR 3003 y MORGAN 738 con valores similares al máximo. Al G2 lo formó CONTIFLOR 9, con el valor mínimo = 20 mm, mientras que en G3 se ubicaron los restantes 8 híbridos argentinos y los 4 franceses (Tabla 1).

Tabla 1. Longitud (mm) del cancro en 17 híbridos de girasol y relación entre tamaños de cancro según el origen de *P. helianthi* utilizado.

Table 1. Length (mm) of canker in 17 sunflower hybrids and canker sizes in relation to the origin of *P. helianthi* used.

| Origen del Inóculo | Longitud del Cancro | | Relación PERG/PAR |
|---------------------|---------------------|--------|-------------------|
| | Pergamino | Paraná | |
| ACA 882 | 197 | 73 | 2,70 |
| TRESUR NACIENTE | 174 | 45 | 3,87 |
| ATAR 3003 | 173 | 76 | 2,28 |
| RÉMIL | 149 | 78 | 1,91 |
| NORKIN PUNTA | 141 | 43 | 3,28 |
| 74 - F | 141 | 39 | 3,62 |
| MORGAN 704 | 140 | 44 | 3,18 |
| EUROFLOR | 129 | 29 | 4,45 |
| ZENIT | 126 | 51 | 2,47 |
| PIONEER 6440 | 111 | 29 | 3,83 |
| RANCUL | 110 | 50 | 2,20 |
| DEKALB G 100 | 102 | 34 | 3,00 |
| MORGAN 738 | 99 | 74 | 1,34 |
| CONTIFLOR 9 | 83 | 20 | 4,15 |
| PARAISO 4 | 81 | 79 | 1,03 |
| SD - PAC 1 | 79 | 45 | 1,76 |
| DEKASOL 3881 | 68 | 34 | 2,00 |
| MEDIA | 124 | 50 | 2,48 |
| CV error (%) | 37 | 40 | |
| DMS _{0,01} | 10 | 4 | |

Los coeficientes de variabilidad del error, que alcanzaron valores entre 37 % (PERG) y 40 % (PAR), se consideran aceptables para el atributo considerado. No obstante, la variabilidad no controlada fue superior a la mostrada por Cáceres *et al.* (2007) quienes cuantificaron el mismo síntoma provocado por un aislamiento proveniente también de Paraná pero en plantas de girasolillo (*Helianthus petiolaris* Nutt.). Las diferencias entre especies de *Helianthus* y ambientes evaluados en ambos experimentos podrían considerarse como las causantes de las variaciones encontradas.

La correlación entre el comportamiento de los híbridos frente a PERG y PAR, usando el coeficiente de Spearman, no fue significativa ($r_s = .26$, $p > 0.05$), por lo que puede interpretarse que el desempeño de los híbridos dependió del aislamiento utilizado.

B. Patogenicidad de los aislamientos de distinto origen

El valor estimado ($t = 61,4$) de la prueba "t" para verificar si los 2 aislamientos fueron igualmente efectivos en su patogenicidad, sugirió que la longitud promedio de cancos provocados por el aislamiento PERG = 124 mm fue significativamente ($p < 0,01$) superior al alcanzado por PAR = 50 mm (Tabla 1). En consecuencia, ellos mostraron diferencias en la capacidad de provocar lesiones en la parte media del tallo. Esa mayor habilidad de PERG se manifestó en la media general (2,48) así como en cada uno de los híbridos inoculados dado que, en todos ellos, la relación del tamaño de cancro generado por PERG y PAR mostró valores mayores a la unidad (Tabla 1).

Trabajos tendientes a dilucidar la razón de la diferencia en patogenicidad de aislamientos de *P. helianthi* (Viguié *et al.*, 1999), detectaron variación en la

agresividad del patógeno y una dependencia entre el tamaño de lesión y el aislamiento, lo cual coincide con nuestros resultados. Además, determinaron que los aislamientos que provocaron los cancos más grandes, provenían de tallos de girasol y habían mostrado mayor rapidez de crecimiento *in vitro* (i.e. en cajas de Petri). Por el contrario Jocić *et al.* (2004), en Serbia, al evaluar el comportamiento de líneas recombinantes de girasol ante distintos aislamientos determinaron que el progreso *in vitro* no estaba asociado a la intensidad de ataque de *P. helianthi* en tallos.

Utilizando técnicas genómicas, Catalano *et al.* (2012) estudiaron los determinantes de la virulencia de *P. helianthi*. Pusieron en evidencia al gen Dhpg que codifica para una poligalacturonasa específica producida por el hongo y que, dado su acción péctica, juega un rol en el ablandamiento de los tejidos enfermos porque actúa en la disolución de la pared de las células atacadas por el patógeno. Dichos autores atribuyeron la mayor patogenidad observada en aislamientos franceses y serbios estudiados, respecto de otros de origen rumano e italiano, a la presencia del gen Dhpg.

En este estudio, no se conocía el crecimiento *in vitro* de PERG y PAR, ni el órgano de la planta a partir del cual se hicieron los aislamientos. En ese marco, la ejecución de trabajos semejantes, sobre genotipos de la misma colección de aislamientos, permitiría mejorar la descripción y evaluar la diversidad genética entre dichos aislamientos. Posiblemente, la presencia de un homólogo al gen Dhpg podría, quizás, ser detectada en el aislamiento PERG.

C. Origen del inóculo y quebrado del tallo

Las plantas inoculadas con PERG mostraron, en promedio, 29 % de tallos quebrados (Tabla 2). El valor estimado de χ^2 fue 26,8, superó al valor tabulado (i.e. 25) con 16 grados de libertad, por lo que la probabilidad de la desviación observada es baja ($p < 0.05$). Hay evidencias, por tanto, para rechazar el supuesto de homogeneidad de frecuencias de plantas quebradas. Los híbridos ACA 882 y ATAR 3003 alcanzaron el valor máximo (71 %), mientras que DKG100, NORKIN PUNTA y PARAÍSO 4, el mínimo (0

%). Con el inóculo PAR, sólo las plantas de TRESUR NACIENTE mostraron sus tallos quebrados (14%). Esto provocó que la media de los cultivares fuese inferior a 1 (0,82%). En este caso, el valor estimado de χ^2 fue de 16,1, inferior al tabulado, la probabilidad de la desviación observada es por tanto alta ($p > 0.05$). Estas frecuencias son, en consecuencia, homogéneas.

Las proporciones medias de plantas quebradas, de los 17 híbridos, a fin de determinar diferencias estadísticas no se realizó porque sólo la muestra de PERG satisfacía el requisito del valor mínimo (i.e. relacionado al tamaño de la muestra y la proporción considerada) necesario para ajustar a la distribución binomial (Ostle, 1968). Se asume, sin embargo, que la media de tallos quebrados en PERG= 29 % supera a la de PAR= 0,82 %.

En este sentido, Miller (1987) y Seiler (1997) señalaron que la capacidad del girasol para mantenerse erguido dependía de la robustez de los tejidos del eje caulinar. Manzur *et al.* (2008) sugirieron que la resistencia mecánica al quebrado se relacionaría con el diámetro del tallo y con la cantidad de xilema. En nuestro trabajo, el hecho que PERG haya provocado mayor proporción de tallos quebrados que PAR se atribuiría a su mayor habilidad en destruir la pectina de la pared de las células que conforman el tejido xilemático. Al debilitarse, el soporte mecánico de las plantas infectadas por PERG se quebró a la altura del cancro, en una proporción más elevada.

D. Relación entre tamaño de cancro y tallos quebrados

La correlación de Spearman, entre el ordenamiento de los híbridos según el tamaño de su cancro (Tabla 1) y proporción de plantas quebradas (Tabla 2) luego de aplicado PERG, fue de $r_s = 0,70$ y significativo ($p < 0,01$), se puede inferir que el ranking fue semejante. Debido a la falta de heterogeneidad en las frecuencias de plantas quebradas luego de aplicado PAR, no se pudo establecer la relación con la clasificación de los híbridos según el largo del cancro generado por dicho aislamiento. Estos resultados sugieren que el tamaño del cancro tendría efecto, al menos para algunos aislamientos del hongo, sobre el quebrado del tallo. Ensayos adicionales,

Tabla 2. Proporción de plantas con tallos quebrados en 17 híbridos de girasol inoculados con *Phomopsis helianthi* de dos orígenes.

Table 2. Proportion of plants with broken stems in 17 sunflower hybrids inoculated with *Phomopsis helianthi* from two sources.

| Origen del Inóculo | Tallos quebrados (%) | |
|--------------------|----------------------|--------|
| | Pergamino | Paraná |
| ACA882 | 71 | 0 |
| ATAR 3003 | 71 | 0 |
| RÉMIL | 57 | 0 |
| 74 – F | 43 | 0 |
| TRESUR NACIENTE | 43 | 14 |
| EUROFLOR | 29 | 0 |
| MORGAN 704 | 29 | 0 |
| MORGAN 738 | 29 | 0 |
| PIONEER 6440 | 29 | 0 |
| SD-PAC1 | 29 | 0 |
| ZÉNIT | 29 | 0 |
| CONTIFLOR 9 | 14 | 0 |
| DEKASOL 3881 | 14 | 0 |
| RANCUL | 14 | 0 |
| DK G100 | 0 | 0 |
| NORKIN PUNTA | 0 | 0 |
| PARAISO 4 | 0 | 0 |
| Media | 29 | 0,82 |

realizados con otras condiciones ambientales, permitirán validar esta propuesta.

E. Aplicación al mejoramiento genético

Si bien estos resultados no deben generalizarse, ellos permitirán, sin embargo, delinear ciertos aspectos relacionados al mejoramiento genético del girasol. Estos se relacionan, por un lado, con la capacidad de los híbridos en alterar su nivel de resistencia ante cambios de patogenicidad y, por el otro, a determinar cuál aislamiento es más conveniente para evaluar y seleccionar genotipos de girasol por su nivel de resistencia al cancro.

Para conocer la oscilación del comportamiento híbrido, se observó la variación de la lon-

gitud de los cancos a través de los aislamientos del patógeno de acuerdo a Leonard & Moll (1981) quienes adecuaron el método de adaptabilidad del rendimiento en cultivares que crecían en diferentes ambientes (Finlay & Wilkinson, 1963). La insuficiente cantidad de datos (sólo 2) no permitió calcular en forma algebraica, el cambio de magnitud de la longitud del cancro entre aislamientos (coeficiente “b” de la ecuación de regresión). En consecuencia, la sensibilidad de cada híbrido ante alteraciones de la patogenicidad se valoró de acuerdo a la proporción entre la relación de la longitud de cancro provocado por cada inóculo sobre la media de ambos aislamientos a través de los genotipos (Tabla 1).

Todos los híbridos redujeron su nivel de resistencia tisular, en mayor o menor medida, al analizar tanto el inóculo PAR o PERG (Tabla 1). Hubo 9 híbridos: ACA 882, TRESUR NACIENTE, NORKIN PUNTA, 74–F, MORGAN 704, EUROFLOR, PIONEER 6440, DEKALB G100 y CONTIFLOR 9 con incrementos más que proporcionales, debido a que su relación PERG/PAR es mayor a 2,48. El híbrido ZÉNIT tuvo una proporción muy cercana a la unidad (2,47/2,48). Mientras que el incremento del tamaño de cancro de los restantes 7 (ATAR 3003, RÉMIL, RANCUL, MORGAN 738, PARAÍSO 4, SD-PAC1 y DEKASOL 3881) fue menos que proporcional (i.e. menor que 2,48).

Leonard & Moll (1981) sugirieron la necesidad de detectar genotipos con baja respuesta a los cambios de patogenicidad como una forma de señalar aquéllos con mayor resistencia (menor sensibilidad) al aumento de la lesión. En el presente trabajo dichos genotipos están representados por los híbridos cuyo aumento en la longitud del cancro es menos que proporcional. En ese grupo se puede destacar a DEKASOL 3881 porque, además de cumplir con el requisito, tuvo el menor valor promedio de longitud de cancro a través de los dos aislamientos = 51 mm (Tabla 1). Aunque otras evaluaciones son necesarias a fin de valorar la repetibilidad de este resultado, pareciera que DEKASOL 3881 posee genes de resistencia caulinar a *P. helianthi*, de interés para a ser utilizados en los programas de mejoramiento de girasol.

Un caso particular se observa con PARAÍSO

4; si bien este cultivar mostró la mayor resistencia del tallo ante el incremento de patogenicidad (= valor mínimo de la relación PERG/PAR), tuvo el cancro más largo con el aislamiento PAR= 79 mm (Tabla 1). Esta es una situación no conveniente porque aún con el aislamiento con menor capacidad de producir enfermedad este cultivar produjo síntomas de importancia.

Para conocer el aislamiento más aconsejable a utilizar durante la selección por resistencia Leonard & Moll (1981) propusieron que el agente patógeno debe, además de discriminar los cultivares por su comportamiento, provocar en promedio, la menor cantidad de síntomas en los genotipos evaluados. En el presente trabajo, el inóculo PAR es el que cumple con ambos requisitos. El uso del aislamiento PERG provocaría, por un lado, canchros más largos aún en los cultivares con mayor resistencia caulinar (Tabla 1) y, por el otro, mayor proporción de tallos quebrados en las plantas enfermas (Tabla 2). Es de destacar que la rotura de tallos, y la consecuente pérdida de plantas, es una cualidad indeseable en la mejora genética por cualquier atributo, en general, y por resistencia a enfermedades, en particular. En efecto, en los programas de selección recurrente, por ejemplo, se necesita que los tallos de las plantas selectas por su buen comportamiento lleguen sanos y erguidos a madurez dado que ellos son el sostén de las semillas viables a utilizar en la generación siguiente.

CONCLUSIONES

Hubo respuesta diferencial de híbridos para el tamaño de cancro provocado por la inoculación de 2 aislamientos de *Phomopsis* en la parte media del tallo.

El híbrido DEKASOL 3881 tuvo la menor longitud de cancro promedio a través de los aislamientos y sensibilidad adecuada al incremento de la patogenicidad.

El aislamiento de Paraná sería el más apto para ser utilizado en el programa de selección por resistencia al cancro.

BIBLIOGRAFÍA

AAPRESID. 2012. Evolución de la superficie en siembra directa en Argentina. Campañas 1977/78 a 2010/11. <http://www.aapresid.org.ar/wp-content/uploads/2013/02/>

aapresid.evolucion_superficie_sd_argentina.1977_a_2011.pdf.

Agüero E. 2000. Etiología de manchas y canchros del nudo en tallos de girasol. *En*: Tesis M. Sc. Facultad de Ciencias Agrarias-UNMDP, Balcarce. 129 p.

ASAGIR. 2010. El girasol gana rentabilidad esta campaña. http://www.asagir.org.ar/asagir2008/news_detail.asp?id=177.

Bertrand F. & D. Tourvieille. 1987. *Phomopsis du tournesol*: test de sélection. *Inf. Tech. Cetiom* 98: 12-18.

Bolsa de Cereales. 2012. Girasol: Panorama Agrícola Semanal. <http://www.bolcereales.com.ar/descargar-documento1-0/pass-descargar>.

Cáceres C., F. Castaño, R. Rodríguez, A. Ridao, T. Salaberry, M. Echeverría & M. Colabelli. 2007. *Phomopsis* resistance on leaves and stems of *Helianthus petiolaris*. *Helia* 47: 213-218.

Catalano V., D. Rekab, G. Firrao, G. Vannacci & M. Vergara. 2012. An endopolygalacturonase gene of *Diaporthe helianthi*. *Phytopathol. Mediterr.* 51: 23-36.

CETIOM. 1992. Les stades repérés du tournesol (Cetiom ed.). Paris, Francia. 30 p.

Domínguez Brando J. & A. Sarquis. 2012. Challenges for the sunflower oil market for 2020. *En*: Actas de la 18ª Conferencia Internacional de Girasol (ASAGIR eds). Mar del Plata-Balcarce, Argentina. pp 28-32.

Febina M., K. Alananbeh, N. Balbyshv, E. Heitkamp, L. Castlebury, T. Gulya & S. Markell. 2012. Reevaluation of *Phomopsis* species affecting sunflowers in the United States. *En*: Actas de la 18ª Conferencia Internacional de Girasol (ASAGIR eds). Mar del Plata-Balcarce, Argentina. pp 211-214.

Finlay K. & G. Wilkinson. 1963. The analysis of adaptation in a plant breeding programme. *Aust.J.Agric.Res.* 14: 742-754.

García C., K. Mulero, E. Agüero, F. Castaño, A. Ridao & R. Rodríguez. 2000. Sunflower performance after *Phomopsis helianti* inoculation in the petiole. *Test of Agrochem and Cv.* 21: 17-18.

Jocić S., N. Lačok, V. Miklić, D. Škorić & Y. Griveau. 2004. Testing two isolates of *Diaporthe/Phomopsis helianthi* in a population of sunflower recombinant inbred lines. *Helia* 27: 129-136.

- Kong G. 2009. Diagnostic methods for *Phomopsis stem canker-Phomopsis helianthi*. <http://old.padil.gov.au/pbt/index.php?q=node/70&pbtID=176>.
- Leonard K. & R. Moll. 1981. Durability of general resistance. Evaluation of cultivar x isolate interactions. *En: Proceedings of Symposia: IX International Congress of Plant Protection* (T. Kommedahl ed). Washington DC. pp. 190-193.
- Manzur M., A. Hall & C. Chimenti. 2008. Susceptibilidad al quebrado en el cultivo de girasol: variabilidad intraespecífica y efectos de la densidad poblacional sobre los tejidos presentes en el tallo. *En: Actas de la 13ª Reunión Latinoamericana y 27ª Reunión Argentina de Fisiología Vegetal*. Rosario, Argentina. p 80.
- Mihaljcevic M. & J. Vukojevic. 1994. *Diaporthe (Phomopsis) spp.* on weeds possible causative agents of sunflower stem canker in Vojvodina province. *Helia* 17: 39-48.
- Miller J. 1987. Sunflower. *En: Principles of Cultivar Development* (W.Fehr ed.). MacMillan Pub. Co., NY. pp. 626-668.
- Marín-Moreno C., 2013. La soja, nuevamente el cultivo favorito de los agricultores argentinos. *En: La Nación Campo*. <http://www.lanacion.com.ar/1613155-la-soja-nuevamente-el-cultivo-favorito-de-los-agricultores-argentinos>.
- Ostle B. 1968. Estadística aplicada. Técnicas de estadística moderna, cuando y donde aplicarlas. 1ª reimpresión. Limusa-Wiley SA., Mexico DF.
- Pereyra S., A. Fassio, S. Stewart, M. Rodríguez & D. Vilaró. 2008. Estrategias para el manejo de *Phomopsis* en girasol. *En: Jornada de Cultivos de Verano 2008*. INIA, Uruguay. Serie Actividades de Difusión N° 550. pp .4-9.
- Reimonte G. & F. Castaño. 2008. Susceptibilidad de híbridos de girasol (*Helianthus annuus*) a la podredumbre media del tallo y quebrado caulinar producido por *Sclerotinia sclerotiorum*. *Cien. Inv. Agr.* 35: 27-35.
- Ridao A. 1994. Quebrado de tallo y otras afecciones provocadas por *Diaporthe helianthi (Phomopsis helianthi Munt.)*. *En: Enfermedades del girasol en la Argentina, Manual de reconocimiento*. (V. Pereyra & A. Escande eds). Unidad Integrada Balcarce. Balcarce. pp. 61-66.
- Schneider A. & J. Miller. 1981. Description of sunflower growth stages. *Crop Sci.* 21: 901-903.
- Seiler G. 1997. Anatomy and morphology of sunflower. *En: Sunflower Technology and Production* (A. Schneider ed.). ASA-CSSA-SSSA, Wisconsin. pp. 67-111.
- Tourvieille D., F. Vear & C. Pelletier. 1988. Use of two mycelium tests in breeding sunflower resistant to *Phomopsis*. *En: Proceedings of the 12th International Sunflower Conference* (ISA ed). Novi Sad, II: 110-114.
- USDA 2011. Agricultural statistics 2011. Sunflower: Area and production in specified countries. http://www.nass.usda.gov/Publications/Ag_Statistics/2011/Chapter03.pdf.
- Verschoor M., F. Castaño, A. Ridao & R. Rodríguez. 1998. *Phomopsis helianthi* resistance in sunflowers after mid-stem inoculation. *Ann. Appl. Biol.* 132(Sup.): 48-49.
- Viguié A., D. Tourvieille & F. Vear. 2000. Inheritance of several sources of resistance to *Phomopsis stem canker (Diaporthe helianthi Munt.-Cvet.)* in sunflower (*Helianthus annuus L.*). *Euphytica* 116: 167-179.
- Viguié A., F. Vear & D. Tourvieille. 1999. Interactions between French isolates of *Phomopsis /Diaporthe helianthi Munt.-Cvet. et al.* and sunflower (*Helianthus annuus L.*) genotypes. *Eur. J. Plant. Pathol.* 105: 693-702.