

CANCRO DEL TALLO DE LA SOJA: PATOGENICIDAD, PRUEBA DE ALGUNOS CULTIVARES DE SOJA Y DE HOSPEDANTES ALTERNATIVOS

P.E. GRIJALBA¹ y SILVIA MARINO¹

Recibido: 17/09/00

Aceptado: 03/04/01

RESUMEN

En la Argentina el cancro del tallo de la soja causado por *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis* apareció con carácter epidémico en la campaña 1996/97, principalmente en Santa Fe, Córdoba, Buenos Aires, Tucumán y Entre Ríos. Inicialmente produce lesiones en el punto de inserción de ramas y pecíolos las cuales se extienden hasta formar canchros que llegan hasta la médula, produciendo la muerte de la planta

El objetivo del presente trabajo fue probar el método de inoculación del escarbadiente con aislamientos argentinos, para evaluar algunos genotipos de soja y de hospedantes alternativos que podrían ser utilizados en sucesión con soja.

De 10 cultivares de soja probados, el 80% se comportó como resistente mientras que el 20% restante varió de susceptible a altamente susceptible. En lupino (*Lupinus* spp.), el síntoma más notorio fue la rápida muerte de las plantas. En poroto (*Phaseolus vulgaris*), los síntomas comenzaron en forma de canchros, seguidos por un marchitamiento y finalmente muerte de las plantas. En el caso de arveja (*Pisum sativum*), no se observaron lesiones externas, ni internas en el tallo.

Palabras clave. *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*-Soja-Poroto-Arveja-Lupino.

THE SOYBEAN STEM CANKER: PATOGENICITY TEST EVALUATION OF SOME SOYBEAN GENOTYPES AND POSSIBLE ALTERNATIVE CROPS

SUMMARY

In Argentina the soybean stem canker (caused by *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*) reached epidemic character in the years 1996/97, mainly in Sta. Fe, Cordoba, Buenos Aires, Tucumán y Entre Rios. Initially It usually produces lesions in the insertion point of branches and petioles that spread until They form cankers, that reach the medulla, thus causing the plant's death.

The aim of this paper was to test the toothpick method with Argentine isolates, to evaluate some soybean genotypes and possible alternative crops that could be used in succession with soybean.

In the case of the soybean the reaction of 10 cultivars was variable, 80% of the tested cultivars were resistant whereas the 20% remainder cultivars varied from susceptible to very susceptible. In lupines (*Lupinus* spp.) the most obvious symptom was the sudden death of the plants. In lima bean (*Phaseolus vulgaris*) the symptom started with cankers followed by wilting and finally the plant's death. In the case of pea (*Pisum sativum*), neither external nor-internal lesions were observed in the stem.

Key words. *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*- Soybean - Lima bean- Pea- Lupines

INTRODUCCIÓN

En la Argentina el cancro del tallo causado por *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis* Fernandez and Hanlin (fase sexual) y *Phomopsis*

phaseoli var. *meridionalis* Morgan-Jones (fase asexual) fue registrado por primera vez en 1983, en la provincia de Tucumán (EEAOC, 1984) y en Pergamino en la campaña 1991/92 (Vallone y Giorda,

¹Catedra de Fitopatología Facultad de Agronomía UBA. Av.San Martín 4453 (1417) Buenos Aires, Argentina. E-mail: grijalba@mail.agro.uba.ar

1997 b). En la campaña 1996/97, la enfermedad alcanzó niveles de importancia, principalmente en Santa Fe, Córdoba, Buenos Aires, Tucumán y Entre Ríos. Los primeros síntomas pueden evidenciarse 15 a 20 días después del contacto de las esporas con el tejido de la planta. Inicialmente en uno de los primeros ocho nudos se observan lesiones marrón rojizas en el punto de inserción de ramas y pecíolos. Estas lesiones se extienden hasta formar canchales castaño o marrón rojizos, que llegan hasta la médula produciendo la muerte de la planta (Vallone y Giorda, 1997 a).

La aparición generalizada de la enfermedad, con niveles elevados de incidencia y severidad, se asocia con la presencia de inóculo y condiciones de alta humedad y temperatura durante el período de máxima susceptibilidad, desde la emergencia a V3 (Fehr y Caviness, 1977). En el rastrojo se desarrolla la fase teleomórfica en forma de peritecios, en cuyo interior se encuentran las ascosporas que son la fuente de inóculo para la campaña siguiente (Pioli y Grijalba, 1997).

El control más eficiente y económico de la enfermedad es a través del uso de cultivares resistentes (Yorinori, 1996; Ploper *et al.*, 1999). Existen cuatro genes que confieren protección total. Además de la resistencia completa, las observaciones de campo sugieren que existen reacciones intermedias, indicando que estaría operando, también, mecanismos de resistencia general (Ploper *et al.*, 1998). En caso de no contarse con material genético de probada resistencia una de las técnicas aconsejadas es efectuar rotación de cultivos con plantas no hospedantes. Diversas especies de leguminosas y no leguminosas pueden ser colonizadas por *D. phaseolorum* var. *meridionalis*, por lo que sirven como fuente de inóculo y de multiplicación del hongo. Por lo tanto, el conocimiento del rango de hospedantes es importante para no ser incluidos en la rotación.

Si bien el patógeno penetra en la naturaleza en forma directa sin heridas, la técnica de punción con escarbadiantes (Hildebrand, 1953) permite definir claramente la reacción varietal (Vicentini y Formento, 1998).

El objetivo del presente trabajo fue probar la patogenicidad de aislamientos argentinos mediante el método de inoculación del escarbadiante, y evaluar la reacción de algunos genotipos de soja y de cultivos alternativos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de inóculo

De campos del norte de la provincia de Buenos Aires y sur de Santa Fe se extrajeron plantas con la sintomatología típica del cancro del tallo. A partir de ellas se cortaron trocitos de la médula de 2-3 mm de largo y se sembraron en cajas de Petri conteniendo agar papa glucosado al 2% pH 7 (APG). Las cajas fueron incubadas en estufa a 25 +/- 2°C, durante 3 a 4 días y luego en cámara climática bajo ciclos de 12/12 hs de luz ultravioleta cercano y oscuridad, durante 10 a 15 días.

Los aislamientos obtenidos fueron inoculados en el cultivar Bragg (susceptible) para corroborar su patogenicidad. Uno de ellos fue sembrado en erlenmeyers de 250 cc conteniendo APG y un tallito estéril de soja, para inducir la formación de peritecios (Yorinori, 1996).

Genotipos empleados

En soja se probaron 10 cultivares de distintos grupos de madurez y el cultivar Bragg como testigo susceptible.

Los genotipos de lupino utilizados fueron: *Lupinus angustifolius* var. *Watt*, *L. angustifolius* var. *aurea*, *L. angustifolius* var. *prima*, *L. luteus* y experimentales L. 2040, L. 2043 y L. 2085; los que fueron proporcionados por el Ing. Daniel Sorlino de la Cátedra de Cultivos Industriales, Fac. Agronomía UBA.

En el caso de Arveja se eligió la variedad Cobri por ser la más cultivada en la Argentina. Mientras que en el caso de poroto se utilizó la variedad Roma II de poroto tipo Valina enana.

Técnica de inoculación y evaluación

En papel de filtro se insertaron puntas de escarbadiantes de aproximadamente 1,5 cm, que fueron colocados en el interior de cajas de Petri (aproximadamente 80/caja). Posteriormente a su esterilización se vertió APG sobre el papel de filtro, dejando las puntas de los palillos libres, y una vez solidificado se sembraron discos de APG de 10 mm de diámetro con desarrollo de micelio del patógeno de 4-5 días. Las cajas fueron incubadas hasta que los escarbadiantes estuvieron completamente colonizados (Hildebrand, 1953).

En soja, se inocularon 50 plantas/genotipo, mientras que en lupino, poroto y arveja, se inocularon 30 plantas/genotipo (10 plántulas/maceta de 12 a 14 días desde emergencia). En todos los casos, 1 planta por maceta se usó como testigo, mediante la inserción de una punta de escarbadiante sin el hongo.

La inoculación se realizó insertando los escarbadiantes colonizados a 1,5 cm por debajo del nudo cotiledonar. Las plantas se cubrieron con bolsas de polie-

tileno humedecidas interiormente con agua para lograr alta humedad relativa. La incubación se realizó en cámara bioclimática a 27 +/-2 °C, con 12 hs de luz y 12 hs de oscuridad. Después de 72 hs se retiraron las bolsas de polietileno y se mantuvieron bajo las condiciones descriptas.

La evaluación de la reacción de los genotipos se realizó a los 14 días de la inoculación mediante el conteo del número de plantas muertas, infectadas y sanas. Se utilizó la escala de Yorinori (1996) basada en el porcentaje de plantas muertas. $\% PM = [PM + (PI)/2] TP \times 100$, donde PM= número de plantas muertas, PI= número de plantas infectadas y TP= total de plantas inoculadas.

La escala utilizada para la clasificación fue:

R (resistente): 0-25 % PM

MR (moderadamente resistente): 26-50 % PM

MS (moderadamente susceptible): 51-75 % PM

S (susceptible): 76-90 % PM

AS (altamente susceptible): 91-100 % PM

RESULTADOS

El aislamiento seleccionado presentó alta velocidad de crecimiento en medio de cultivo y virulencia sobre el cultivar Bragg.

Las características culturales exhibidas correspondieron a colonias de aspecto lanoso, blanquecina cuando joven, tornándose marrón oscuro con los días, sin estromas. A los 10-15 días de exposición a la luz cercana a la ultravioleta se formaron picnidios cónicos con conidios tipo alfa solamente, como es indicado por varios autores (Fernandez y Hanlin, 1996; Yorinori, 1996).

El aislamiento produjo peritecios fértiles aproximadamente a los 30 días sobre los tallitos de soja. Los peritecios se formaron individualmente (no en grupos) con un pico peritecial recto, conteniendo ascosporas bicelulares bigutuladas.

En soja el recuento del número de plantas muertas, infectadas y sanas empleadas para ubicar a los genotipos en grados de reacción (Yorinori, 1996) se indica en el Cuadro N° 1.

Como plantas infectadas se consideraron aquellas que si bien no morían presentaban canchros visibles. El 80% de los cultivares probados se comportó como

Cuadro N° 1. Porcentaje de plantas muertas y reacción en los cultivares de soja inoculados con *D. p. var. meridionalis*.

Cultivar	Porcentaje de plantas muertas (b)	Reacción (a)
Bragg	90	S
DM 48	10	R
DM 49	15	R
Ofpec Enterriana	18	R
Ofpec Vencedora	14	R
Promax 530	15	R
Promax 550	17	R
TJ 2000	80	S
TJ 2043	8	R
TJ 2065	92	AS
TJ 2070	22	R

(a) R: 0-25 % PM; MR: 26-50 % PM; MS: 51-75 % PM; S: 76-90 % PM; AS: 91-100 % PM

(b) Infección: La inoculación se realizó utilizando el método de punción con escarbadienes colonizados. La misma se realizó a los 12-14 días de la emergencia de las plántulas. La evaluación de los resultados de la inoculación se realizó a los 14 días de la misma. Con los resultados de la evaluación (datos de plantas muertas, infectadas y sanas) se ubicó a los genotipos en grados de reacción, utilizando la siguiente fórmula: $\% PM = [PM + (PI)/2] TP \times 100$.

resistente, mientras que el 20% restante varió de susceptible a altamente susceptible.

Para los cultivares de soja y hospedantes clasificados como S o AS, los canchros se extendieron a lo largo y ancho de todo el tallo, llegando a producir la muerte de las plantas.

El cultivar Bragg presentó un 90% de Plantas muertas, mientras que las Plantas testigo no presentaron ningún síntoma.

Los hospedantes alternativos probados presentaron distintas respuestas a la inoculación. En lupino el síntoma más notorio fue la rápida muerte de las plantas, a los 6 días de la inoculación. En poroto, los síntomas comenzaron a observarse a los 5 días en forma de canchros, en el sitio de la inoculación, seguidos por un marchitamiento y finalmente muerte de las plantas. En el caso de arveja, no se observaron lesiones externas y/o internas en la médula. Los resultados de la reacción de los hospedantes alternativos se presentan en el Cuadro N° 2.

Cuadro N° 2. Porcentaje de plantas muertas y reacción de genotipos de lupino y poroto inoculados.

Genotipo	Porcentaje plantas muertas (b)	Reacción (a)
Testigo (Soja cultivar Bragg)	90	S
<i>Lupinus angustifolius</i> var. <i>Watt</i>	100	AS
<i>L. var. aurea</i>	90	S
<i>L. var. prima</i>	95	S
<i>L. luteus</i>	100	AS
L. 2040	100	AS
L. 2043	100	AS
L. 2085	100	AS
Poroto var. Roma II	63	MS

(a) R: 0-25 % PM; MR: 26-50 % PM; MS: 51-75 % PM; S: 76-90 % PM; AS: 91-100 % PM

(b) Infección: La inoculación se realizó utilizando el método de punción con escarbadientes colonizados. La misma se realizó a los 12-14 días de la emergencia de las plántulas. La evaluación de los resultados de la inoculación se realizó a los 14 días de la misma. Con los resultados de la evaluación (datos de plantas muertas, infectadas y sanas) se ubicó a los genotipos en grados de reacción, utilizando la siguiente fórmula: % PM = $[(PM + (PI)/2)]TP \times 100$.

DISCUSIÓN

La separación de *D. phaseolorum* en tres variedades (*caulivora*, *sojae* y *meridionalis*) se basa en características morfológicas como el aspecto y color de la colonia, tasa de crecimiento en medio de cultivo, tamaño de estromas, disposición de los peritecios, presencia de conidios alfa y beta, síntomas y virulencia en soja. Bajo condiciones naturales las lesiones en tallos causadas por *D. p. var. caulivora* son delimitadas y unilaterales, mientras que las de *D. p. var. meridionalis* son más agresivas y resultan en múltiples infecciones en tallos (Black *et al.*, 1996). *D. phaseolorum* var. *meridionalis* produce sólo conidios tipo alfa, mientras que *D. phaseolorum* var. *caulivora* presenta conidios tipo alfa y beta. Esta característica, entre otras, ha sido usada para distinguir el cancro del tallo, de la podredumbre y tizón del tallo en Brasil (Fernandez y Hanlin, 1996). El aislamiento seleccionado consistentemente sólo produjo conidios alfa.

Aunque existen antecedentes que los aislamientos de *D. p. var. meridionalis* pueden diferir en virulencia (Vicentini y Formento, 1998), los cultivares Ofpec Entrerriana, Ofpec Vencedora, DM 48, DM 49, Promax 530, Promax 550, TJ 2070 y TJ

2043 clasificados como resistentes en este trabajo, coincidieron con evaluaciones efectuadas a campo e invernáculo (Ploper, 1998; Botta, 1998; Manual del Criadero Semillero La Tijereta). Asimismo los cultivares TJ 2000 y TJ 2065 evaluados como S y AS bajo las condiciones de este experimento, coinciden con registros llevados a campo (Botta, 1998). Esto indicaría que es posible relacionar el método de inoculación en invernáculo con las infecciones a campo en condiciones naturales como ha sido reportado por Keeling (1982) constituyendo una herramienta para programas de mejoramiento, donde gran número de líneas deben ser probadas en corto tiempo. Las reacciones de TJ 2000 y TJ 2065 aunque difieren con el Manual del semillero La Tijereta (1997) podrían estar indicando variabilidad en virulencia de los aislamientos, inestabilidad del material genético o mezcla de semillas.

Existen antecedentes que lupino y alfalfa son susceptibles al cancro del tallo (Yorinori, 1996; Formento y Gallardo, 1998). Morgan Jones (1989) indica que *D. p. var. sojae* es patógeno de poroto y lupino, mientras que arveja es susceptible a *D. phaseolorum* var. *caulivora*.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del presente trabajo, se comprobó que los cultivares de soja Ofpec Entrerriana, Ofpec Vencedora, DM 48, DM 49, Promax 530, Promax 550, TJ 2070 y TJ 2043 fueron clasificados como resistentes, mientras que los cultivares TJ 2000 y TJ 2065 fueron evaluados como S y AS, respectivamente. Además, se comprobó que todos los genotipos de lupino y de poroto evaluados pueden ser infectados por el patógeno y, por lo tanto, no deberían ser empleados en la sucesión con soja en lotes infestados. Sin embargo, la arveja no fue susceptible a la infección.

El impacto de eliminar los hospedantes alternativos de una rotación o sucesión con soja podría ser significativo, especialmente cuando se emplea el sistema de labranza convencional, ya que dichos hospedantes permitirían la sobrevivencia y multiplicación del inóculo, que de lo contrario no sería posible debido a la alta velocidad de descomposición del rastrojo de soja.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Ing. Agr. Dora Barreto por la exhaustiva lectura y corrección de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- BLACK, B.D.; G.B. PADGETT; J.S. RUSSIN; J.L. GRIFFIN; J.P. SNOW and G.T. BERGGREN, Jr. 1996. Potential weed hosts for *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, causal agent for soybean stem canker. *Plant. Dis.* 80: 763-765.
- BOTTA, G.; A. IVANCOVICH; S. GIANMARIA; C. ROSTAGNO; C. FURLAN; G. CARRARA y O. VIGNATT. 1998. Evaluación del comportamiento de cultivares de soja frente al cancro del tallo. En: *Actas de la 3ra. Reunión de Oleaginosas, Bahía Blanca* 87-90.
- ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROINDUSTRIAL OBISPO COLOMBRES., 1984. Memoria Anual 1983. *Publicación Micelanea* N° 77: 78-79.
- FEHR, W.R. and CAVINESS, C.E. 1977. Stages of soybean development. *Iowa Agr. Exp. Stn. Spec. Rep.* 80. 11 pp
- FERNANDEZ, A.F. and R.T. HANLIN. 1996. Morphological and RAPD analyses of *Diaporthe phaseolorum* from soybean. *Mycologia* 88(3): 425-440
- FORMENTO, N. y M.C. GALLARDO. 1998: Inoculación cruzada de aislamientos del Complejo *Diaporthe-Phomopsis* en Girasol, Soja y Alfalfa. En: *Actas de la 3ra. Reunión de Oleaginosas, Bahía Blanca* 79-80.
- HILDEBRAND A.A. 1953. An elaboration of toothpick method of inoculating plants. *Canadian Journal of Agricultural Science* 33: 506-507
- KEELING B.L. 1982. A seedling test for resistance to soybean stem canker caused by *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*. *Phytopathology* 72:807-809.
- MORGAN JONES, G. 1989. The *Diaporthe/Phomopsis* Complex: Taxonomic considerations. En: *Actas IV Conf. Mundial de Investig. en soja, Bs. As., Argentina.* 1699-1715.
- PIOLI, R. y P. GRIJALBA. 1997. Cancro del tallo de la Soja. *Acaecer* 252: 26-31.
- PLOPER, L.D.; G. GONZÁLEZ; R. GÁLVEZ; M. DEVANI y SALAS, G. 1998. Determinación de la resistencia al cancro del tallo de la soja mediante el método del hipocótilo y evaluaciones a campo. En: *Actas de la 3ra. Reunión de Oleaginosas, Bahía Blanca.* 61-62.
- PLOPER, L.D.; R. GÁLVEZ; V. GONZALEZ; H. JALDO; M. DEVANI y G. SALAS. 1999. Efecto de la fecha de siembra sobre la incidencia del cancro del tallo de la soja. *Avance Agroindustrial (EAAOC)* 76:33-38.
- SINCLAIR, J.B. and P.A. BACKMAN. (eds.) 1989: Compendium of Soybean Diseases. 3ra. ed. APS. Press, MN, 106 pp.
- SOJAS Tjs. (Manual del Criadero y Semillero La tijereta. Agromanía S.A., 1997) 17 pp.
- VALLONE, S.D. de y L.M. GIORDA. 1997 a. Enfermedades de la Soja en la Argentina. INTA Centro regional Córdoba. 72 pp.
- VALLONE, S.D. de y L.M. GIORDA. 1997 b. Cancro del tallo de soja, un problema que explotó. *Agromercado* 126: 3-6.
- VICENTINI, R. y N. FORMENTO. 1998. Reacción varietal de la soja al cancro del tallo con dos métodos de inoculación y distintos aislamientos. En: *Actas de la 3ra. Reunión de Oleaginosas, Bahía Blanca* 59-60.
- YORINORI, J. T. 1996. Cancro da haste da soja: epidemiologia e controle. *Circular Técnica* N° 14, EMBRAPA, 75 pp.