

## ESTUDIOS SOBRE ESCLEROTINIOSIS \*

POR

FERNANDO MUJICA R. M. SC. \*\*

Los hongos del género *Sclerotinia* figuran entre los patógenos de las plantas de cultivo más agresivos y difíciles de controlar, por lo que han atraído la atención de los patólogos, existiendo numerosos estudios e investigaciones relacionados con ellos.

En Chile, el primer hongo de este género, la *Sclerotinia Fuckeliana* (De Bary) Fckl., fué observada por el Ingeniero Agrónomo don Carlos Camacho en el año 1914 (1), atacando a un viñedo de don Ascanio Bascuñán en Isla de Maipo. La foto N° 1 fué tomada por el profesional mencionado en dicha oportunidad.

Hasta la publicación de "Flora Fungosa Chilena" en 1945 (4), los huéspedes registrados para el género *Sclerotinia* en nuestro país eran los siguientes:

Especies de Sclerotinia	Huésped	Año de su determinación	Autor	Localidad
<i>S. Fuckeliana</i> (D'Bary) Fckl.	<i>Vitis vinifera</i> L. (vid)	1914	C. Camacho	Isla de Maipo
<i>S. Libertiana</i> Fckl.	<i>Allium Cepa</i> L. (cebolla)	1941	S. Arentsen	Angol
"	<i>Helianthus annuus</i> L. (maravilla)	1941	S. Tartakowsky	Coquimbo
<i>S. minor</i> Jagger	<i>Lotus corniculatus</i> L. (lotera)	1943	F. Mujica	Osorno
"	<i>Trifolium incarnatum</i> (trébol encarnado)	1943	F. Mujica	Osorno
<i>S. sclerotiorum</i> (Lib.) D'Bary	<i>Camellia japonica</i> L. (cameliã)	1941	S. Tartakowsky	Linares
"	<i>Citrus aurantium</i> L. (naranja agrio)	1943	C. Vergara	Buin
"	<i>Citrus Limonia</i> Osbeck (limonero)	1941	S. Tartakowsky	Viluco
"	<i>Ficus carica</i> L. (higuera)	1941	A. García	Candelaria
"	<i>Helianthus annuus</i> L. (maravilla)	1942	S. Tartakowsky	O'Higgins
"	<i>Phaseolus vulgaris</i> L. (frejol)	1942	F. Mujica	Santiago
"	<i>Arachis hypogaea</i> L. (maní)	1941	S. Arentsen	Maipú
<i>S. trifoliorum</i> Erikss.	<i>Trifolium repens</i> L. (trébol blanco)	1919	M. Espinosa	?
"	<i>Capsicum frutescens</i> L. (pimentón)	1943	M. Espinosa	S. Bernardo
<i>S. sp.</i>	<i>Cicer arietinum</i> L. (garbanzo)	1942	S. Tartakowsky	Cauquenes
"	<i>Lactuca sativa</i> L. (lechuga)	1943	M. Espinosa	Conchalí

\* Recibido para su publicación el 26 de Abril de 1956.

\*\* Ingeniero Agrónomo Fitopatólogo del Departamento de Investigaciones Agrícolas.

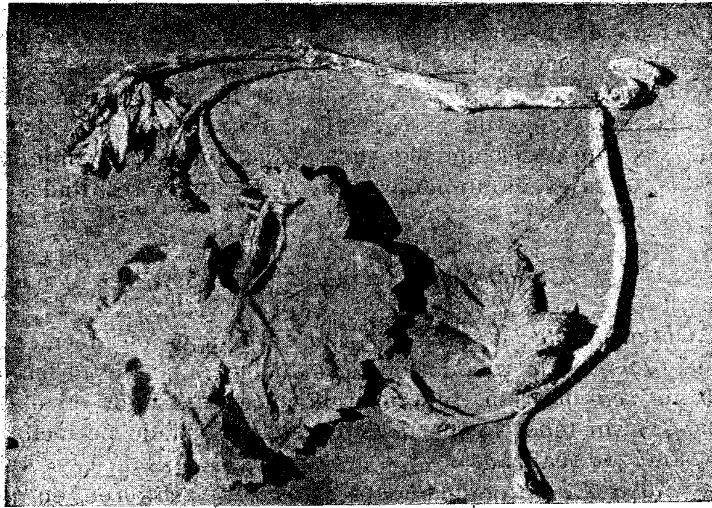


Foto 1: Esclerotiniosis en vid. Fotografía de don Carlos Camacho.

Como *S. Libertiana* es sinónimo de *S. sclerotiorum*, esta lista comprendía hasta esa fecha 15 huéspedes diferentes. Posteriormente a dicha publicación se ha agregado a esta lista las siguientes determinaciones:

<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) D'Bary	<i>Daucus carota</i> L.	(zanahoria)
	<i>Lens esculenta</i> L.	(lenteja)
<i>Sclerotinia</i> sp.	<i>Pisum sativum</i> L.	(arveja)
	<i>Opuntia vulgaris</i>	(tuna)

Si aceptamos, como es lógico hacerlo, la proposición recientemente formulada por Purdy (6) de considerar a *Sclerotinia sclerotiorum* como única especie válida del grupo natural de *Sclerotinias* productoras de esclerocios verdaderos, reconociendo, según el tamaño de éstos a las variedades culturales *major*, *intermedia* y *minor*, tenemos que la lista de huéspedes de este hongo, por lo que concierne a nuestro país, se eleva a 18 especies. Queda por definir únicamente la especie de la *Sclerotinia* que ataca a la tuna (*Opuntia vulgaris*), hongo que tiene características culturales un tanto diferentes.

Hasta la fecha, la totalidad de las determinaciones de *Sclerotinia* aquí compiladas, fueron hechas, sin embargo, sólo en base tanto de la sintomatología en el huésped como de las observaciones del hongo en cultivo puro (forma y tamaño de los esclerocios, tipo y color del micelio, ausencia de conidias, etc.), ya que a pesar de los esfuerzos hechos, no fué posible a los determinadores obtener la forma perfecta de aquel

(apotecios). Aunque esta forma de determinar no es permisible en fitopatología ortodoxa, en el caso particular de *S. sclerotiorum*, ella puede ser aceptada en atención a la proposición de Purdy, ya expuesta.

No obstante era de interés obtener la forma perfecta del hongo y estudiar las relaciones de patogenicidad entre las cepas aisladas de algunos de sus huéspedes mencionados. Tales fueron los objetivos iniciales de los trabajos emprendidos, cuyos primeros resultados se dan a conocer.

#### A. Estudios efectuados en 1954.

I. *Obtención de la forma perfecta del hongo.*—La técnica sugerida por Coe (2) para la producción de apotecios a partir de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum*, fue repetida durante 3 años en el laboratorio (1950-53) sin tener la suerte de obtener el estado perfecto, pese a todos los esfuerzos realizados.

Sin embargo, inesperadamente éstos se produjeron en invernadero, en maceteros con tierra, en un ensayo realizado en Agosto de 1954 en que se estudiaba la patogenicidad sobre diversas especies hortícolas, de una cepa del hongo aislada de maravilla. En dicho ensayo, la tierra había sido infestada artificialmente con un cultivo del hongo en avena, siguiendo la técnica de Drayton (3).

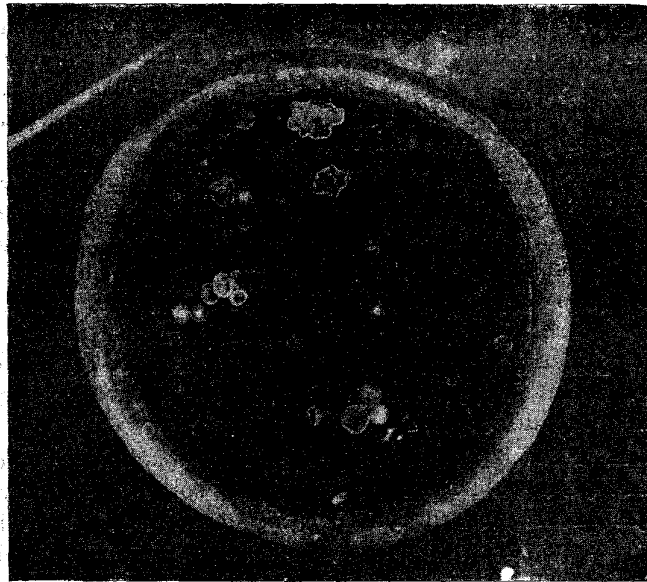


Foto 2: Apotecios formados a los 53 días. Foto del autor.



Foto 3: Apotecios extraídos de la tierra. Tamaño natural. Foto del autor.

Los apotecios aparecieron a los 53 días de incorporado el cultivo puro a los maceteros con tierra (fotos 2 y 3). En una serie posterior, con una cepa del hongo aislada de zanahorias enfermas, los apotecios se produjeron a los 56 días. Las condiciones de humedad, temperatura y luminosidad existentes en el invernadero correspondían a las de una primavera normal.

Las medidas de los ascos y ascosporas así obtenidos se presentan en el cuadro N° 1.

Comparando las medidas obtenidas, con las indicadas por Walker (7) para *Sclerotinia sclerotiorum*, se comprueba la identidad de este patógeno, anteriormente indicado sólo como probable para maravilla y zanahoria en Chile.

II. *Estudios sobre antibiosis.*—Con el objeto de corroborar por un medio indirecto la identidad o diferencia específica de las cepas de *Sclerotinia* aisladas de diferentes huéspedes, se realizaron siembras pareadas de estas cepas en discos petri, dándoles la numeración siguiente:

- N° 1. Cepa aislada de Frejol
- N° 2. Cepa aislada de Maravilla (capítulos)
- N° 3. Cepa aislada de Maravilla (tallo)
- N° 4. Cepa aislada de Zanahoria
- N° 5. Cepa aislada de Tuna

CUADRO N° 1

DIMENSIONES DE ASCOS Y ASCOSPORAS DE *SCLEROTINIA SCLEROTIURUM*  
(en micrones)

		ASCOS		ASCOSPORAS	
		Largo	Ancho	Largo	Ancho
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (según Walker)	máx.	160	10,2	15,1	7,3
	mín.	125	8,2	11,7	5,9
Cepa de maravilla (major)	máx.	126	8,4	12,6	6
	med.	114,3	7,98	10,79	5,6
	mín.	98	7,0	9,8	3,96
Cepa de zanahoria (major)	máx.	151,2	8,4	12,6	6,4
	med.	129,3	6,3	9,99	5,8
	mín.	123,2	6,16	8,4	5,6

Los cultivos puros fueron obtenidos de germinación de esclerocios en papá-agar dextrosa. Para tal efecto los esclerocios eran sumergidos por un instante en alcohol y luego tratados, de acuerdo con su tamaño, durante 20 a 60 segundos en una solución de hipoclorito de sodio.

En general, como puede observarse por las fotografías tomadas (fotos 4 y 5); hay una incompatibilidad manifiesta de la cepa N° 5 (posible *S. opuntiarum*) con las restantes.

III. *Patogenicidad de las cepas aisladas.*—La patogenicidad sobre diversas especies de cultivo de las cinco cepas de *Sclerotinia* aisladas, fué probada en invernadero en maceteros de tierra, inoculados mediante un cultivo del hongo en avena, de acuerdo con la técnica de Drayton, ya mencionada.

Para este efecto, se mezcló tierra esterilizada a la que se había dado previamente un riego ligero, con el cultivo del hongo en avena, llenándose luego maceteros con esta mezcla. Los maceteros así preparados fueron dejados 2 o 3 días, antes de sembrar en ellos, a fin de que el hongo pudiera establecerse ampliamente en el nuevo medio. Luego fueron sembrados con 13 especies de cultivo común, observándose la susceptibilidad de estas al ataque del hongo. En varias especies usadas (frijol, garbanzo, etc.) el hongo destruyó a las plantitas antes de que éstas alcanzaran a emerger completamente. En otros la marchitez y muerte se produjo luego después. En todos los casos el hongo fué reaislado y su identidad verificada posteriormente.



Foto 4: Estudio de compatibilidad de las cepas. Foto del autor.

Las especies sembradas y las cepas de *Sclerotinia* usadas se presentan en el cuadro siguiente, en el que se consignan las reacciones observadas.

A través de este cuadro se puede comprobar la inmunidad de las Gramíneas al patógeno, hecho ya verificado en múltiples oportunidades en el extranjero.

#### B. Estudios realizados en 1955

*Consideraciones previas.*—La maravilla o girasol es, entre todos los huéspedes chilenos de *Sclerotinia sclerotiorum*, el más afectado por este patógeno. Además, es en los terrenos dedicados a este cultivo, donde comúnmente se observa después la enfermedad en plantas de chacarería u hortícolas.

## CUADRO Nº 2

## SUSCEPTIBILIDAD DE DIVERSAS ESPECIES A LA ESCLEROTINIOSIS

H U E S P E D especie	Cantidad de semilla	CEPAS DE SCLEROTINIA USADAS				
		Frejol	Maravilla (C)	Maravilla (G)	Tuna	Zanahoria
Arroz (Martelli)	20	I	I	I	I	I
Arveja	10	—	—	—	I	S
Avena (Bl. alemana)	20	I	I	I	I	I
Cebada (Cruzat)	20	I	I	I	I	I
Frejol (Coscorrones)	10	S	—	—	—	S
Garbanzo	10	S	—	—	—	S
Lechuga (Milanesa)	20	S	—	—	—	S
Maíz (Hibrido 4193)	10	I	I	I	I	I
Maravilla (Klein)	10	S	S	S	—	S
Pepino (Lago Verde)						
Inglés	10	—	—	—	—	S
Trébol	20	—	—	—	I	S
Trigo	20	I	I	I	I	I
Zanahora (M. L.)						
Chatenay	20	S	—	—	I	S

I = Inmune; S = Susceptible

Se calcula actualmente que la esclerotiniosis causa, en promedio, un 3% de pérdidas al cultivo de la maravilla en el país. Si aplicamos este porcentaje en los \$ 1.500.000.000 que es el valor estimado de la producción 1954-1955 de este cultivo, tal pérdida representa en ese año \$ 46.000.000, cifra que es por sí sola elocuente respecto a la urgente necesidad de estudiar todos los medios posibles para un mejor control de la enfermedad.

La producción de apotecios del hongo, obtenida en invernadero, como también naturalmente en el campo, en retazos donde se ha cultivado maravilla, observados por el autor en los fundos "La Gamboína" en Rancagua y "Tierras Blancas" en Chimbarongo, viene a corroborar el origen del tipo de la enfermedad, la pudrición de los capítulos florales, que describió en un trabajo anterior (5).

Como los apotecios, productores de ascosporas, se originan en esclerocios que quedan en el terreno al desintegrarse la planta enferma, es lógico suponer que cualquier modificación cultural que impida, en un porcentaje importante, la evolución del esclerocio, sea para formar apotecios o simplemente para dar origen a un nuevo micelio del hongo, contribuirá en gran forma a disminuir el volumen o intensidad de la enfermedad tanto en maravilla como en otras especies susceptibles.

*Ensayos efectuados.*—Para delinear tales posibles modificaciones culturales es pues necesario, determinar previamente el óptimo en la

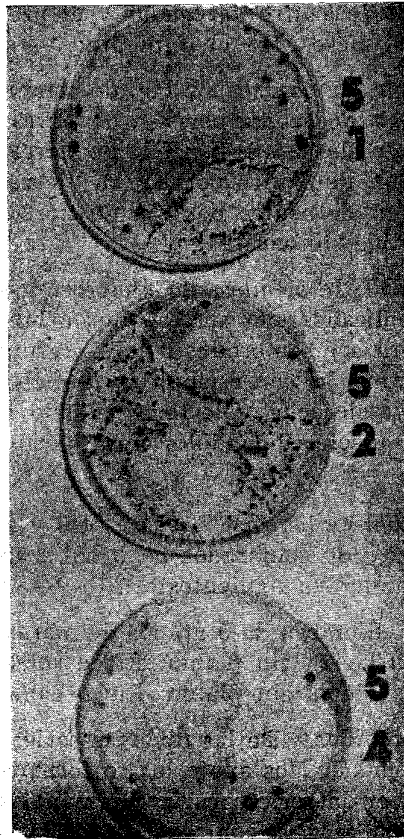


Foto 5: Estudio de compatibilidad de las cepas. Foto del autor.

producción de apotecios por el esclerocio, dentro de las variantes siguientes: pH del suelo, ubicación o profundidad del esclerocio con respecto a la superficie del terreno, periodicidad de los riegos, abundancia o escasez de nutrientes en el suelo, etc.

Un ensayo preliminar respecto a las tres primeras variantes fué iniciado en el invernadero bajo las condiciones siguientes:

a) *pH del suelo*.—Para obtener suelos con pH diferente se partió de un volumen de tierra previamente homogenizado con un pH inicial de 7,50 la que se separó en 6 lotes iguales a los que se agregó cantidades progresivas de azufre. Luego de mezclado perfectamente el azufre con la tierra, en cada lote, se distribuyó ésta en maceteros, a los que se mantuvo bajo un riego periódico durante cuatro meses, con el objeto de lograr el cambio de reacción del suelo.



Las cantidades de azufre agregadas y el pH obtenido en los seis lotes al cabo de los 4 meses, fué el siguiente:

Lote 1 — 1 gr. de azufre por Kg. de tierra.	pH final	7.28
Lote 2 — 5 gr. de azufre por Kg. de tierra.	pH final	6.85
Lote 3 — 10 gr. de azufre por Kg. de tierra.	pH final	6.55
Lote 4 — 15 gr. de azufre por Kg. de tierra.	pH final	6.09
Lote 5 — 20 gr. de azufre por Kg. de tierra.	pH final	5.95
Lote 6 — Testigo sin azufre.	pH final	7.50

b) *Profundidad de siembra de esclerocios.*—Los 6 lotes de maceteros con los pH indicados más arriba, fueron luego subdivididos en 3 grupos cada uno, para ser sembrados a tres profundidades distintas: 1, 3 y 5 cms. respectivamente, con esclerocios de *Sclerotinia*. En cada macetero se colocó 10 esclerocios colectados el año anterior de capítulos enfermos de maravilla, seleccionándolos de un porte igual al de un grano de pimienta.

c) *Periodicidad en los riegos.*—Los lotes y grupos así preparados fueron separados luego de sembrados en 3 subgrupos cada uno, siendo sometidos a los tratamientos siguientes:

- I Subgrupo: Siembra de 5 granos de maravilla y riego semanal.
- II Subgrupo: Tierra sin planta. Riego semanal.
- III Subgrupo: Tierra sin planta. Riego cada 12 días.

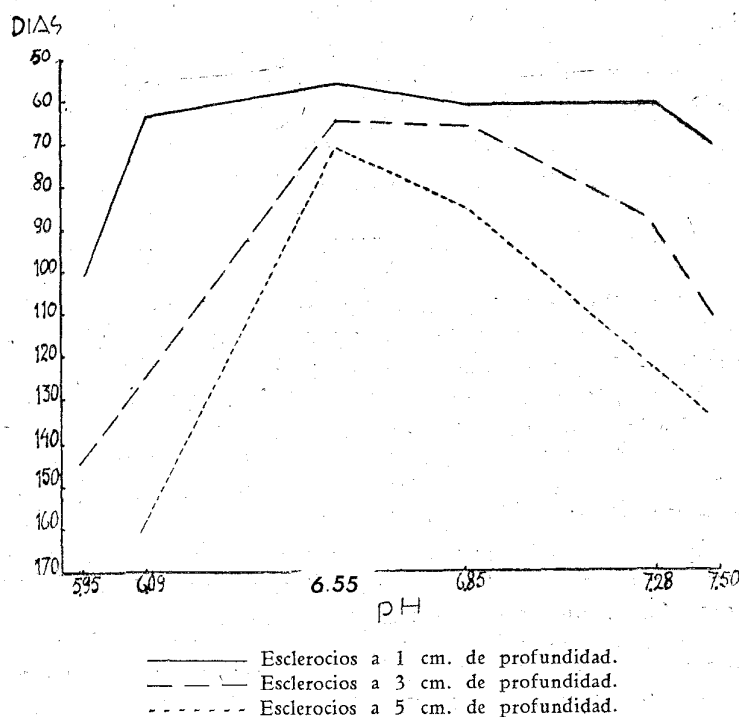
*Resultados obtenidos.*—De las diversas series de maceteros preparadas según se ha señalado, los apotecios se formaron en menos tiempo y en mayor número, en la serie con riego semanal y tierra libre. Siguió a esta la serie con igual riego y con plantitas de maravilla, siendo la más tardía la con riegos cada 12 días.

Dentro de cada una de estas series, como era de suponer, la rapidez en la formación de apotecios o sus fundamentos y la mayor frecuencia de éstos en las subseries, fué proporcional a la profundidad de siembra del esclerocio, observándose que a la profundidad de 5 cms. los esclerocios sólo alcanzan a formar cuerpos frutales en un porcentaje muy reducido y que de éstos, la mayoría son fundamentos de apotecio, llegando sólo unos pocos a formar el apotecio totalmente desarrollado.

Así con esclerocios sembrados a 1 cm. de profundidad, a los 60 días la formación de cuerpos frutales era como sigue:

	Apotecios	Fundamentos de apotecios
Maceteros con pH 7.28	120	29
Maceteros con pH 6.85	56	13
Maceteros con pH 6.55	30	10
Maceteros con pH 6.09	12	9

DIAS NECESARIOS PARA LA FORMACION DE APOTECIOS DESDE ESCLEROCIOS  
SEMBRADOS A 1 - 3 - 5 CMS. DE PROFUNDIDAD EN DIFERENTES pH  
Y RIEGO SEMANAL



De estas cifras se desprendería que el pH óptimo para la producción de apotecios, en el tipo de suelo usado, es de 7.28. No obstante, según puede observarse en los dos cuadros que se insertan a continuación, esta cifra no coincide exactamente con la del pH que corresponde al menor número de días necesarios, bajo las condiciones del experimento, para la producción de los cuerpos frutales. Efectivamente, en el cuadro N° 1 el vértice del minimum de días se encuentra en pH 6.55.

## RESUMEN

1. Desde su primera identificación en el país sobre vid en 1914 la *Sclerotinia sclerotiorum* ha sido observada en 18 especies cultivadas diferentes, siendo su huésped más importante la maravilla o girasol.

2. En un estudio cultural con cepás provenientes de maravilla y zanahoria se obtuvo la formación de apotecios entre los 53 y 56 días a partir de la fecha de inoculación de los maceteros con cultivos del hongo en avena. Las medidas obtenidas de ascos y ascosporas corresponden a las señaladas en otros países por diversos autores.

3. Las pruebas de patogenicidad realizadas comprobaron la resistencia de las Gramíneas a la *S. sclerotiorum* y la susceptibilidad a ella de la arveja, frejol, garbanzo, lechuga, maravilla, pepino, trébol y zanahoria.

4. De acuerdo con los ensayos realizados, el hongo en el suelo germina y forma apotecios más rápidamente cuando el riego es más frecuente y el esclerocio está ubicado más superficialmente.

5. Con respecto a pH del suelo, favorecen esta formación los pH que se aproximan a la reacción neutra (pH 7.28).

#### SUMMARY

1. After its first determination on grapes in 1914 *Sclerotinia sclerotiorum* has been identified on 18 different cultivated species in Chile, sunflower being its most important host.

2. In a cultural study with strains obtained from sunflower and carrot, apothecia development was observed between 53 and 56 days after the date of pot inoculation with oat culture of the fungus. The ascus and ascospores measurements agree with those given by foreign workers on this species.

3. Pathogenicity trials proved the resistance of Gramineae to *S. sclerotiorum* and the susceptibility to its attack of peas, beans, chickpeas, lettuce, sunflower, cucumber, clover and carrots.

4. In accordance with the trials carried out, fungus development in the soil is more rapid with more frequent irrigation and when the sclerotia are placed at lesser depths.

5. Concerning soil pH, apothecia formation is favored by soil pH approaching neutral reaction (pH 7.28).

#### BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- 1.—ANONIMO. — "Una enfermedad de la vid. *Sclerotinia Fuckeliana*. *Botrytis cinerea*". Estación de Patología Vegetal. Santiago, 1914.
- 2.—COE, DONALD M. — "Observations on apothecial production by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotinia trifoliorum*". Bull. Calif. Dep. Agriculture 38:115-121. Fig. 1. Tab. 1-2. 1949.
- 3.—DRAYTON, F. L. — "The perfect stage of *Botrytis convoluta*". Mycologia 308-309, 1937.
- 4.—MUJICA R., FERNANDO y VERGARA C., CLAUDIO. — "Flora Fungosa Chilena". Imprenta Stanley, Santiago, 1945.
- 5.—MUJICA R., FERNANDO. — "Medidas adicionales de control de la esclerotiniosis del girasol". Agr. Téc. 10:74-78, 1950.
- 6.—PURDY, LAURENCE H. — "A broader concept of the species *Sclerotinia sclerotiorum* based on variability". Phytopath. 45:421-427, 1955.
- 7.—WALKER, J. C. — "Diseases of vegetable crops". Mc Graw-Hill Co. Inc. New York, 1952.