riedades injertadas. Estos dos procesos se pueden atribuir a que el período de encallecimiento fue dema-siado largo. Se recomíenda, en consecuencia, reducir este período para evitar una brotación temprana del injerto y disminuir pérdidas posteriores por deshidra-

#### RESUMEN

Se estudió la técnica de injertación de banco utilizando como patrón las variedades País y Carig-nan y como injerto las variedades Cabernet Sauvignon, Moscatel de Alejandría ovoide, Moscatel de Alejandría redonda, Moscatel Amarilla, Semillón, Cot Rouge, Merlot y Riesling.

El injerto fue de empalme inglés o de doble lengüeta realizado mediante una máquina injertado-

ra manual.

Una vez hechos los injertos, se colocaron en cajas con viruta para favorecer el encallecimiento durante un período de 17-51 días, después del cual se contabilizó grado y porcentaje de encallecimiento. En general, se obtuvo un alto porcentaje de encallecimiento independientemente de las variedades usadas como patrón.

El grado de encallecimiento no presentó diferencias en ninguna de las variedades usadas como patrón, no registrándose tampoco ninguna relación entre el grado y porcentaje de encallecimiento.

### SUMMARY

The table grafting technique was studied in grape vines using the varieties Pais and Carignan as rootstocks and Cabernet Sauvignon, Moscatel de Alejandría ovoide, Moscatel de Alejandría redonda, Moscatel Amarilla, Semillón, Cot Rouge, Merlot and Riesling as budded varieties.

The grafts were made with a manual grafting machine using the double tongue system.

Once the grafts were made, the cuttings were placed in beans with wood shavings, to favour the development of callus, for a period of 17-51 days. After this time, rate and percentage of callus development was measured.

A high percentage of callus development was obtained independently of the varieties used as root-

No differences were observed between the varieties used as rootstocks, in callus development. Also, no relation was found between the rate and percentage of callus development.

# Distribución del micelio de Sclerotinia sclerotiorum en semilla de girasol (Helianthus annus)1

Huib Tollenaar<sup>2</sup> y Hermann Bleiholder<sup>3</sup>

El patógeno más importante de los cultivos oleaginosos es el hongo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. En Chile, este hongo produce "caída" de preemergencia y de postemergencia, pudrición del tallo, pudrición del capítulo y marchitez en girasol (Helianthus annus L.); pudrición del tallo y marchitez en raps (Brassica campestris L. var. oleifera DC); pudrición del tallo, pudrición de las flores y marchi-tez en cartamo (Carthamus tinctorius L.); pudrición del tallo y marchitez en poroto soya (Glycine max (L.) Merr.); y pudrición de las vainas y marchitez en maní (Arachis hypogaea L.). De estas enferme-dades, la pudrición del tallo y la marchitez de las especies oleaginosas son provocadas por los cultivares (5) Minor, Intermedia y Mayor de S. sclerotiorum. En cambio, la pudrición de las flores y pudrición del capítulo, parecen ser causadas unicamente por S. sclerotiorum cultivar Mayor.

En cartamo, cuando se presenta la pudrición de

las flores, se produce un solo esclerocio, en forma de cono, de 1,5 cm de diámetro en su base e igual altura, que reemplaza la parte central de la inflorescencia. En girasol, en cambio, se producen unos pocos esclerocios en las cavidades seminales, reemplazando a la semilla, mientras que la mayoría de los esclerocios se encuentran en el tejido parenquimático del capí-

Muchos de los esclerocios provenientes de capítulos infectados de girasol tienen forma y dimensión similar a la semilla por lo cual, generalmente, la cosecha proveniente de un campo con capítulos infectados consiste de una mezcla de semillas y esclerocios. Se han propuesto algunos métodos para separar los esclerocios de las semillas (2) (3), con el fin de eliminarlos como fuente de infección. Sin embargo, parece que el hongo también es transmitido por la semilla (1) (4) (7) (8). Mujica (4), por ejemplo, observó pequeños trozos de micelio de S. sclerotiorum adheridos a la superficie de la región basal de la semilla. Además, sus datos sobre el tratamiento, de semillas infestadas, con diferentes fungicidas señalan que los orgánicos-mercuriales, volátiles y no volátiles, eliminan completamente S. sclerotiorum. Esto podría sugerir, que el micelio de S. sclerotiorum sólo se encuentra sobre la superficie de la semilla. Sin embargo, anteriormente, Young y Morris (8) en Estados

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Trabajo efectuado bajo el Convenio Universidad de Concepción, comarsa.

Recepción manuscrito: 14 de mayo de 1970.

<sup>2</sup>Ph D. Fitopatólogo, Profesor Extraordinario, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Casilla 537, Chillán, Chila.

Chile. aIng. Agr., Ayudante, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán.

Unidos de Norteamérica y Lobik (1) en Rusia, habían observado la presencia de esclerocios sobre y den-

tro de las semillas de girasol.

Para aclarar este problema, el presente trabajo tuvo por objeto estudiar la distribución del micelio de S. sclerotiorum en semillas provenientes de capítulos de girasol infestados por el hongo y comparar, además, la acción de algunos desinfectantes de semilla como forma de controlar el hongo.

## MATERIAL Y METODO

Toda la semilla de girasol fue cosechada dos meses antes de iniciar esta investigación y fue recolectada de capítulos de H. annus ev. Klein, infestados con S. sclerotiorum.

Para el experimento sobre desinfección de semilla se emplearon los fungicidas que se indican en el Cuadro 1.

Las semillas fueron tratadas con 2.000 ppm del producto comercial correspondiente y posteriormente guardadas en recipientes herméticos durante dos semanas, al cabo de las cuales, 65 semillas, por cada tratamiento, fueron colocadas en placas de Petri con 2% agar-papa-dextrosa y luego incubadas a 25°C.

2% agar-papa-dextrosa y luego incubadas a 25°C.
Para el estudio microscópico de la distribución del micelio de S. sclerotiorum en la semilla, se hicieron cortes transversales a mano de 70 semillas de girasol. Estos cortes fueron lavados con alcohol de 95% y hervidos por un minuto en NaOH 0,1N para extraer el exceso de aceite y aclarar los tejidos. Posteriormente, los cortes fueron teñidos con anilina azul y lactofenol.

### RESULTADO Y DISCUSION

Los resultados del experimento con fungicidas, presentados en el Cuadro 2, demuestran que sólo el producto orgánico-mercurial volátil (Granosan M. D.), elimina eficazmente S. selevotiorum en semillas de girasol, lo cual sugiere que el hongo también se encontraría dentro de la semilla. Además, observaciones no analizadas estadísticamente, sugieren que la germinación de la semilla no es alterada por la presencia

Cuadro 1 - Fungicidas usados para el control de Sclerotinia sclerotiorum.

NOMBRE COMERCIAL	INGREDIENTE ACTIVO	PROPIEDADES
Carbonato de cobre "Muss- la" D	CuCO <sub>3</sub> (70%) y cobre metálico (37%)	no volátil
Granosan M D	Etil mercurio p-to- lueno sulfonanilida (7,7%)	volátil
Orthocide 75 W P	Captan (75%)	
Sanocide D	Hexaclorobenceno (40%)	ligeramente volátil
Uspulun seco D	Fenilacetato de mercurio y 1% de Hg sal	ligeramente volátil

CUADRO 2 - Porcentaje de semillas de girasol con Sclerotinia sclerotiorum después del tratamiento con desinfectante.

TRATAMIENTO	CONCENTRACION PPM	INFECCION %
Carbonato de cobre "Mussla" D	2000	87,7
Granos an M D	2000	0,0
Orthocide 75 W P	2000	81.8
Sanocide D	2000	100,0
Uspulun seco D	2000	55,4
Testigo	. O	95,4

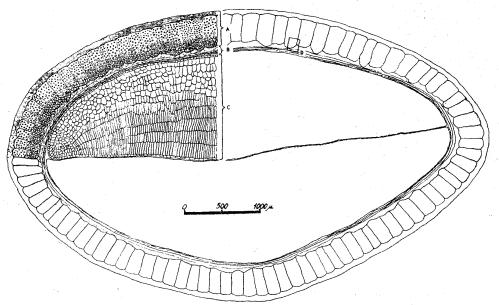


Figura 1. Corte transversal de una semilla de girasol; A, capa de células fibrosas del pericarpio; B, capa de células parenquimáticas del pericarpio y de la testa; C, cotiledón; D, porción ampliada en Figura 2.

de S. sclerotiorum. Sackston y Martens (6) tampoco observaron una disminución en la germinación cuando estudiaron semillas de girasol infestadas con Vertici-

llium albo-atrum Reinke y Berth.

Aparte de S. sclerotiorum, otros hongos tales como Botrytis cinerea Pers. ex Fr., Rhizopus stolonifer (Ehr. ex Fr.) Lind. y Aspergillus spp., fueron encontrados frecuentemente sobre las semillas. Estos hongos también han sido observados sobre semilla de girasol en otras partes del mundo (1) (6) (7) (8), pero no se ha dado mucha importancia a su presencia. En el presente experimento, fueron eliminados solamente por los productos mercuriales.

El corte de semilla de girasol (Figura 1) muestra que la mayor parte del pericarpio, está formada por células fibrosas de paredes gruesas; en cambio, la capa de células que conforman la testa y las capas interiores del pericarpio, están formadas por células parenquimáticas de paredes delgadas. El examen microscópico de la semilla infestada revela que tanto las células parenquimáticas como las fibrosas se encuentran infestadas con micelio (Figura 2), siendo su presencia mucho mayor en los tejidos parenquimáticos. En las células fibrosas, las punteaduras simples de sus paredes facilitan la penetración del micelio.

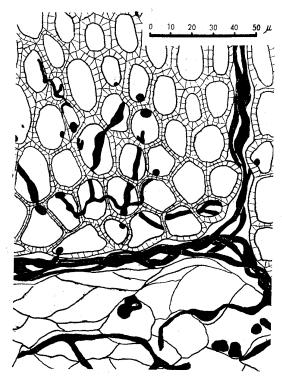


Figura 2. Capas de células fibrosas y de células parenquimáticas del pericarpio, infestadas con micelio de *Sclerotinia sclerotiorum*.

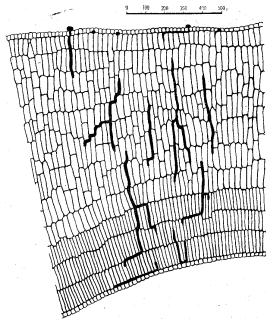


Figura 3. Cotiledón de *Helianthus annus* infestado con micelio de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Las aislaciones efectuadas posteriormente a partir de trozos de testa colocados sobre agar-papa-dextrosa, evidenciaron sólo la presencia de S. selerotiorum, lo que permite concluir que los filamentos fungosos observados en la semilla corresponden a este hongo.

También se observó que el crecimiento del micelio se detiene cerca de la cutícula de los cotiledones. Sólo en una ocasión se pudo observar que penetraba dentro de los cotiledones (Figura 3), considerándose esta penetración como una excepción. Sackston y Martens (6) observaron un caso semejante al constatar la ausencia de micelio en los cotiledones de semillas de girasol, a pesar de la presencia de numerosos microesclerocios de Verticillium albo-atrum en el pericarpio y la testa. Esto sugiere que la cutícula y/o la epidermis de los cotiledones de la semilla de girasol actuarían como una barrera para impedir la penetración de hongos.

Como última conclusión, esta investigación ha permitido demostrar en forma terminante que S. sclerotiorum se puede propagar mediante trozos de micelio portados en el interior de la semilla, lo que hace recomendable que la semilla para siembra sea seleccionada de campos donde no se haya presentado la pudrición del capítulo, para no diseminar la enfermedad en los lugares que aún se encuentran libres de S. sclerotiorum. En su defecto, la semilla se debería

comercializar debidamente desinfectada.

## RESUMEN

En cortes transversales de semillas de girasol (Helianthus annus L.) provenientes de capítulos infestados con Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) De Bary cv. Mayor, se pudo apreciar que tanto las células fibrosas de paredes gruesas del pericarpio como las células parenquimáticas de paredes delgadas de la testa y de las capas interiores del pericarpio, son infestadas por micelio de S. sclerotiorum. Sólo en una ocasión se observó que el micelio del hongo penetraba dentro de los cotiledones. Sin embargo, en general, la cutícula y/o la epidermis de los cotiledones parecen actuar como una barrera

contra la penetración del hongo. Esta investigación demostró además que solamente un fungicida con base orgánico-mercurial volátil (etil mercurio p-tolueno sulfanilida 7,7%) elimina eficazmente el micelio de S. sclerotiorum de la semilla de girasol.

#### SUMMARY

In the case of flower rot of sunflower (Helianthus annus L.) caused by Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) De Bary cv. Mayor, only a few sclerotia replace the seed while most of the sclerotia are formed beneath the seed in the parenchymatic tissues of the capitate inflorescence. Cross sections of seed from infected flower heads show that the thick-walled fibrous cells of the pericarp as well as the thin-walled parenchymatic cells of the testa and of the inner layers of the pericarp are infested with mycelial strands of S. sclerotiorum. Only in one occasion mycelium was observed to penetrate into the cotyledons. However, in general, the cuticle and/or the epidermis of the cotyledons appear to act as a barrier against penetration by this fungus.

In the experiment with seed desinfectants, only a volatile, organic mercury fungicide (etil mercurio p-tolueno sulfanilida 7,7%) eliminated S. sclerotiorum completely in infested sunflower seed.

### LITERATURA CITADA

- 1. LOBIK, A. I. Wholesale destruction of sunflower caused by Sclerotinia libertiana. Proc. Pan-Soviet Congress of Botanists, Leningrad. 1928. 177-178. (In Review of Applied Mycology 9: 458. 1930).
- 2. LUKASHEVICH, A. I. Cleaning sunflower seed from sclerotia of white rot. Zashch. Rast. Moskva 5 (12): 34-35. 1960. (In Review of Applied Mycology 40: 366, 1961).
- 3. MILENKO, YA. F. Cleaning of white rot sclerotia from sunflower seeds. Sel. Seed-Gr., Moscow, 29 (2): 73-74. 1964. (In Review of Applied Mycology 43: 542. 1964).
- MUJICA, F. Medidas adicionales de control de esclerotiniosis de girasol, Agricultura Técnica (Chile) 10: 74-78, 1950.

- 5. Purdy, L. H. A broader concept of the species Sclerotinia sclerotiorum based on variability. Phytopathology 45: 421-427. 1955.
- 6. SACKSTON, W. E. and MARTENS, J. W. Dissemination of Verticillium albo-atrum on seed of sunflower (Helianthus annus). Canadian Journal of Botany 37: 759-768, 1959.
- and CHERNICK, B. M. Effects of chemical treatment and storage of sunflower seeds. Canadian Journal of Plant Science 40 (4): 690-706. 1960.
- 8. YOUNG, P. A. and MORRIS, H. E. Sclerotinia wilt of sunflowers. Montana Agric. Exp. Sta. Bulletin 208. 1927. 32 p. (In Review of Applied Mycology 8: 247. 1929).