

TRABAJO DE INTENSIFICACIÓN

Etiología y caracterización de
dos enfermedades de la maleza
Convolvulus arvensis L. en el
sudoeste bonaerense.

FABRINA SASTRE HUGHES



Docente Tutor: Dr. J. Facundo Daddario

Docentes Consejeros: Dra. Soledad Villamil

Dr. Diego Zappacosta

Asesor externo: Dra. Freda Anderson

Noviembre, 2023

Departamento de Agronomía

Universidad Nacional del Sur





AGRADECIMIENTOS



ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	1
ÍNDICE.....	2
RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
Recolección de material	10
Identificación de los hongos asociados	11
Obtención y aislamiento de los hongos asociados.	12
Pruebas de patogenicidad	14
• Obtención de las plantas de <i>C. arvensis</i>	14
• Preparación del inóculo	15
• Inoculación de plantas	15
• Análisis de síntomas y signos desarrollados luego de la inoculación	17
Determinación preliminar del grado de daño	17
RESULTADOS.....	18
<i>Septoria convolvuli</i> Desm.	18
<i>Stagonospora calystegiae</i> (Westend.) Bubák.	21
Determinación del grado de daño	25
DISCUSIÓN	29
BIBLIOGRAFÍA	32



RESUMEN

Convolvulus arvensis (correhuela) es una maleza exótica en Argentina, problemática en cereales de invierno, forrajeras y hortalizas. El objetivo de este trabajo fue estudiar dos enfermedades foliares de correhuela encontradas en poblaciones del sudoeste bonaerense, probar la patogenicidad de los hongos asociados y determinar preliminarmente su grado de daño sobre la maleza para evaluar la factibilidad de incorporar el control biológico a un eventual plan de manejo integrado de la maleza. Entre los años 2019 y 2021 se recolectó material vegetal con síntomas de enfermedad en Bahía Blanca, Villa Ventana y Tres Arroyos. Se realizaron observaciones bajo lupa y microscopio óptico del material recolectado, aislamientos, cultivos e inoculaciones artificiales para el cumplimiento de los postulados de Koch. Se registró el porcentaje de hojas con síntomas, número de manchas por hoja y el nivel de defoliación obtenido después de la inoculación artificial. Se encontraron hongos celomicetes, identificados tentativamente como *Septoria convolvuli* (Sc) y *Stagonospora calystegiae* (St). Se confirmó la patogenicidad de ambos sobre la correhuela. El porcentaje de hojas con síntomas fue de 49% para St a los 7 días después de la inoculación (DDI), y de 60% para Sc a los 15 DDI. De estas, St y Sc produjeron en promedio 47 y 3 manchas por hoja, respectivamente. St y Sc alcanzaron un 75 y 17% de defoliación a los 28 DDI, respectivamente. Ambos hongos producen un daño significativo, aunque *S. calystegiae* fue más agresiva que *S. convolvuli*. Estos resultados justifican continuar esta línea de investigación.

INTRODUCCIÓN

Convolvulus arvensis L. es una especie de origen euroasiático, cosmopolita, perteneciente a la familia de las Convolvuláceas (Figura 1). De acuerdo a la región, recibe distintos nombres comunes como, por ejemplo, “correhuela”, “corregüela”, “enredadera perenne” o “campanilla” (Chaves, 2002). Es una planta de ciclo primavera-estival cuyo período vegetativo comienza a fines de invierno y florece en verano prolongando su fructificación hasta fines de otoño. Se trata a su vez de una especie perenne, herbácea, de tallos delgados y flexibles, rastreros o de crecimiento espiralado con ápices volubles. Las hojas son enteras, simples y glabras a pubescentes. Sus flores son acampanadas con la corola blanca a blanco-rosada. Presenta como fruto una cápsula ovoide con semillas negras a la madurez (Ferreyra y Green, 2012; Cañon et al., 2018; SIB, 2022). Generalmente, el establecimiento y la propagación son debido a su alta capacidad de producir semillas con dormición muy prolongada, sumado a su importante capacidad reproductiva vegetativa, dada por un sistema subterráneo provisto de yemas en rizomas y raíces que producen tallos aéreos nuevos. Estos últimos representan un importante problema para la producción de cultivos debido a que su hábito de crecimiento trepador y envolvente ejerce una fuerte competencia con otras especies en los sitios que invade (Tamayo Esquer, 2014).

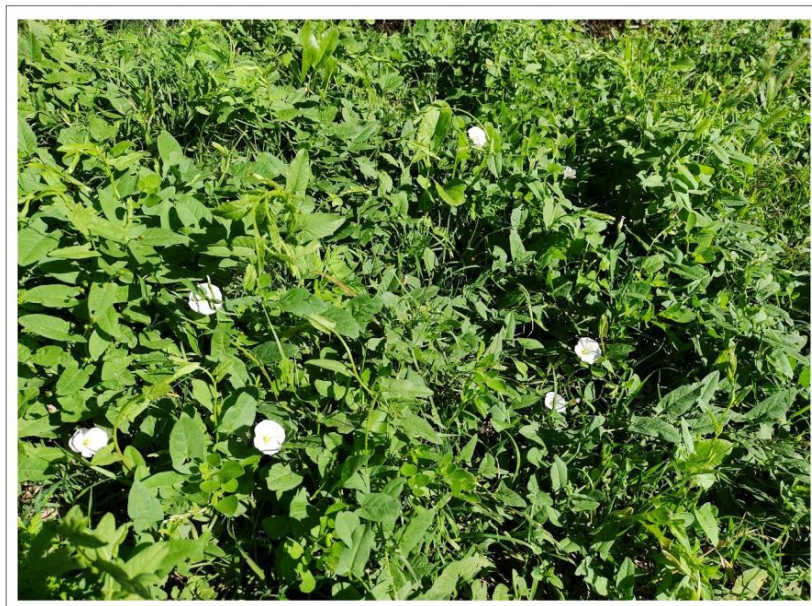


Figura 1: Población de *Convolvulus arvensis* creciendo en zonas aledañas a la ciudad de Bahía Blanca.



La correhuela es una especie asilvestrada en Argentina, que se encuentra posiblemente, desde la provincia de Jujuy hasta Santa Cruz (Figura 2). Es considerada una planta ruderal; término genérico que es utilizado en referencia a plantas que suelen aparecer en hábitats muy alterados por acción del ser humano como, por ejemplo: bordes de caminos, campos de cultivo abandonados o zonas urbanas. Asimismo, es tratada como una planta invasora de diversos terrenos modificados por la agricultura y ganadería; en chacras y quintas, praderas naturales, potreros, baldíos, orillas de caminos, entre otros (Cabrera y Añón Suárez, 1965; Marzocca, 1994). Además, aparece como una de las principales malezas nocivas del mundo y se encuentra invadiendo en 32 cultivos en 54 países, causando perjuicios principalmente en cereales, hortalizas, viñedos, olivares y cítricos (Holm et al., 1997). En Argentina, fue declarada “plaga de la agricultura” en 1946. El control de esta especie es obligatorio de acuerdo con las disposiciones del Decreto-Ley Nº 6704/63 del 12-VIII-1963 (SENASA, 2021). Las pérdidas de cosecha ocasionadas por *C. arvensis* se indican en el orden del 5 al 10% en países desarrollados, mientras que países en desarrollo y algunos de economía emergente pueden ser superiores al 20-30% de la producción (Labrada, 2006). Estos valores reflejan la necesidad de estudiar y trabajar en un correcto manejo de la correhuela para diferentes planteos productivos.



Figura 2: Distribución en Argentina de *C. arvensis*. Fuente: GBIF Backbone Taxonomy, 2023.

(● Ejemplar preservado ● Observación humana).

Las malezas son uno de los principales factores bióticos adversos, ya que compiten por agua, luz y nutrientes con especies deseables y hospedan patógenos e insectos perjudiciales, generando pérdidas económicas por mermas de rendimiento, aumento en los costos de cosecha, entre otros impactos negativos (Aapresid, 2014). El extendido uso del control químico de malezas, complementado con prácticas culturales en la mayoría de los cultivos, ha conducido en general a una buena eficiencia en el control de las especies anuales. Sin embargo, esta práctica ha favorecido, en parte, al desarrollo de ciertas perennes como la correhuela. Además, el uso excesivo de herbicidas químicos es peligroso debido a la toxicidad de los mismos, persistencia en el ambiente e incremento de la aparición de numerosas malezas tolerantes y resistentes. En busca de alternativas de manejo sustentables y sostenibles que favorezcan la disminución del uso de productos químicos, aparece el control biológico (CB), táctica basada en la manipulación de organismos vivos patógenos

(hongos, bacterias, virus), e insectos herbívoros que potencialmente reduzcan y controlen la población de la plaga, respetando a otros agentes benéficos.

Los organismos que afectan a una plaga y que a su vez se utilizan para controlarla se denominan agentes de control biológico y es un concepto que, en el caso de las malezas, surge en los inicios del siglo XIX (Badii y Abreu, 2006) basándose en que, en los ecosistemas, los enemigos naturales pueden influenciar tanto la distribución, la abundancia como la habilidad competitiva de distintas especies (Ghorbiani et al., 2005). En su ambiente de origen, las poblaciones de los seres vivos en general se encuentran controlados por herbívoros, patógenos y competidores. Cuando escapan de ese sitio donde son nativos y arriban a uno nuevo, de forma intencionada o accidental, se produciría la liberación total o parcial de dichos enemigos naturales en los ecosistemas donde son exóticos, que le otorgaría una aptitud incrementada en relación con la flora y la fauna local para colonizar el nuevo ambiente y desplazar a las especies nativas (Evans et al., 2001). Si las nuevas condiciones resultan favorables para su crecimiento y reproducción, pueden provocar un crecimiento desmedido de sus poblaciones, llegando a convertirse en una plaga. De esta forma, el control biológico se enfoca en el uso de enemigos naturales de la especie invasora, con el objetivo final de reducir su población, preservando el resto de las especies nativas convivientes (Cabrera Walsh et al., 2014) .

Existen diferentes enfoques para aplicar el control biológico (Cabrera Walsh et al., 2014), los más conocidos son:

1) Clásico: se fundamenta en la hipótesis de liberación de organismos antagonistas de una planta invasiva. Consta en la búsqueda de enemigos naturales específicos en el ambiente nativo de la maleza y posterior introducción en el ambiente invadido, con el propósito de lograr su establecimiento permanente, y con esto lograr que las poblaciones de la maleza se reduzcan a niveles aceptables que no afecten los intereses del hombre. Pretende corregir de forma definitiva los problemas generados por la maleza invasiva, a través de la disminución de la reproducción o de las habilidades competitivas de la maleza, de manera de evitar que la misma se vuelva dominante.

2) Inundativo: consiste en la producción masiva de agentes de control biológico en laboratorios o bioterios, para ser liberados en grandes cantidades. No

necesariamente implica el establecimiento permanente del agente, sino que se busca un control rápido y puntual. La aplicación de bioherbicidas, es un caso particular de CB inundativo y se tratan de formulados fitopatógenos que puedan ser aplicados con maquinaria agrícola, buscando rapidez de acción y vida útil similar a la de un herbicida.

3) Conservación y/o fomento: se basa en la modificación del medio ambiente o de las prácticas existentes para proteger y aumentar los enemigos naturales específicos u otros organismos ya presentes en el ambiente invadido con la finalidad de reducir el efecto de las plagas.

Considerando los problemas que surgen al implementar una única forma de control, se busca ampliar la variedad de técnicas utilizadas, surgiendo de esta forma, el concepto del Manejo Integrado de Malezas. Este último consiste en aplicar distintas estrategias y tácticas con el fin de disminuir la población de las malezas a niveles no perjudiciales, basándose en el conocimiento del ecosistema y tendiendo a mantener las funciones del mismo (FAO, 2023). Al incluir al control biológico dentro de un manejo integrado se deben estudiar en profundidad los aspectos que conciernen a la relación planta-enemigo natural, por ejemplo, el ciclo de vida del agente de control como el de la maleza blanco, evaluando en qué estadio ocurre el mayor control sobre la misma, la interacción entre ambos y el ecosistema, y finalmente si el agente de control puede desarrollar todo su ciclo sobre la maleza a controlar, sin la necesidad de otro hospedante. Esto último en parte se logra a través de las pruebas de especificidad que se basan en el método centrífugo filogenético (Wapshere, 1974).

En Argentina, el CB de malezas es una práctica subutilizada. El único enfoque de CB de malezas mediante patógenos que podría ser aplicado en nuestro país en el corto a mediano plazo es el conservativo (Anderson, 2017). Escasos antecedentes indican la presencia de hongos asociados a síntomas de enfermedad en Buenos Aires (Spegazzini, 1882, 1898). Más recientemente, Baffoni et al. (2021) citaron hongos celomicetes asociados en Río Negro. Sin embargo, en ninguno se estudió la patogenicidad de los mismos, como tampoco aspectos del desarrollo de las enfermedades que aparentemente producen, ni del daño potencial ejercido. En el presente trabajo, con la finalidad de contribuir al conocimiento de la diversidad de los patógenos asociados a la correhuela y evaluar la factibilidad de incorporarlos como agentes de control biológico en un eventual manejo integrado de la maleza, se estudiaron dos enfermedades



foliares presentes en el sudoeste bonaerense. Los objetivos particulares fueron: 1) realizar la descripción de los síntomas foliares de las enfermedades; 2) aislar los hongos asociados presumiblemente patógenos en diferentes medios de cultivo artificial, realizando una descripción detallada de los mismos, con la finalidad de lograr su identificación; 3) estudiar la patogenicidad de los hongos asociados a manchas para dar cumplimiento a los postulados de Koch y 4) evaluar preliminarmente el grado de daño de los patógenos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de material

En el periodo comprendido entre los años 2019 - 2021 se llevaron a cabo visitas no sistemáticas a poblaciones de *Convolvulus arvensis* localizadas en el sudoeste bonaerense en búsqueda de enfermedades (Figuras 3 y 4). Se registraron las coordenadas geográficas de cada población visitada. Se colectaron muestras de material vegetal, elegidas mediante la visualización de síntomas (lesiones, manchas y clorosis en hojas, etc.) y/o signos (puntuaciones, etc.). Posteriormente, se dispusieron en prensas con papel de diario seco, los cuales fueron cambiados periódicamente para realizar un correcto herborizado, preservando de esta forma el material en buenas condiciones para su utilización en el laboratorio.

Sitios visitados:

- ✓ Villa Ventana, -38.073829, -61.925471, diciembre 2019.
- ✓ Tres Arroyos, -38.370944, -60.299019, diciembre 2019.
- ✓ Bahía Blanca, -38.680464, -62.227132, 10 de marzo 2020.
- ✓ Villa Ventana, -38.073829, -61.925471, febrero 2021.
- ✓ Bahía Blanca, -38.679917, -62.284083, abril de 2021.

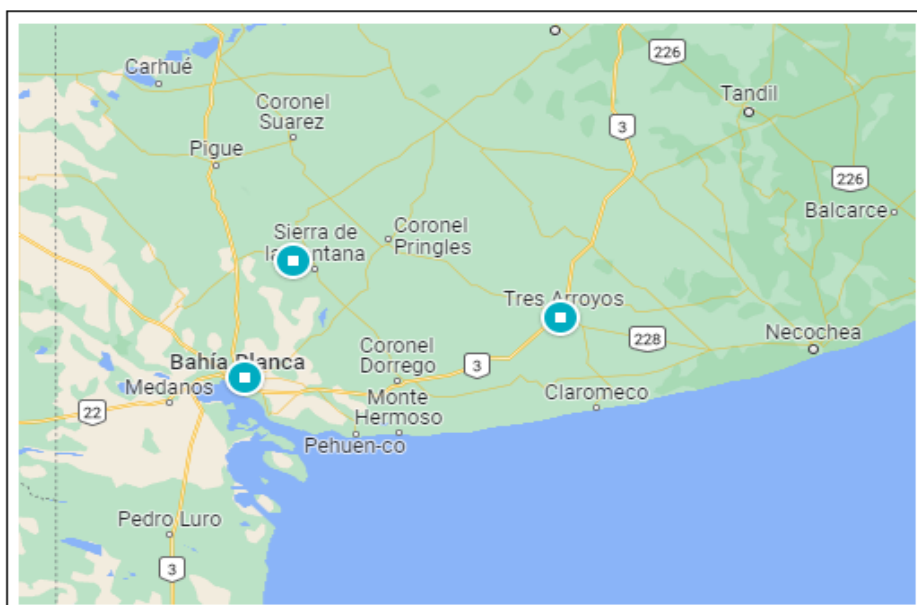


Figura 3: Sitios donde se realizaron las recolecciones de material vegetal de *C. arvensis* con síntomas.



Figura 4: Manchas foliares presentes en poblaciones locales de *C. arvensis*.

Identificación de los hongos asociados

Se realizó una observación de los síntomas y signos presentes en el material herborizado, bajo lupa para realizar una descripción de los mismos. Los preparados fueron montados en agua destilada para una correcta observación, medición y descripción, bajo microscopio óptico Olympus CX 31. Se emplearon cuerpos de fructificaciones tanto enteros como cortados a mano alzada con un bisturí. Cuando fue necesario, se utilizó Floxina B, colorante que tiñe solamente células vivas, facilitando su observación y medición con un ocular micrométrico en el mismo microscopio óptico. En los casos en que los signos fueron inadvertidos o insuficientes se llevó a cabo una cámara húmeda con el fin de favorecer la esporulación de los patógenos (Figura 5). Dada la frecuencia de asociación encontrada, se seleccionaron en primera instancia dos hongos celomicetes para continuar los estudios.



Figura 5: Cámara húmeda realizada con signos de *S. calystegiae*.

Obtención y aislamiento de los hongos asociados

Se realizaron aislamientos en medio de cultivo artificial en cámara de flujo laminar horizontal. Los métodos que se probaron fueron:

- A partir del tejido vegetal: El tejido foliar sintomático se desinfectó superficialmente sumergiendo las hojas en alcohol etílico al 96% durante un minuto, seguido de dos minutos en hipoclorito de sodio diluido al 30% y luego secado con papel absorbente estéril (Agrios, 2005). Posteriormente se realizaron pequeños cortes rectangulares (de aprox. 1mm x 5mm.) de la zona de avance de la mancha (borde). Los cortes fueron realizados con bisturí esterilizado y se sembraron en cada caja de Petri conteniendo el medio de cultivo Agar Papa Glucosado (APG) (Dhingra y Sinclair, 1985; Figura 6). Se incubó a temperatura ambiente y se revisaron diariamente a la espera de desarrollo de micelio a partir de los cortes de tejido. Una vez que se registró el crecimiento de las colonias a partir del tejido sembrado, se realizaron repiques a tubos “pico de flauta” y nuevas cajas de Petri con APG, con el fin de obtener cultivos puros (Figura 7).
- A partir de esporas: los hongos picnidiales suelen producir conidios en masa que liberan al exterior en condiciones de alta humedad. Luego de haber desinfectado superficialmente las hojas como se describió en el punto anterior,

se expusieron en cámara húmeda para permitir la formación de masas de conidios. Estas fueron transferidas mediante aguja estéril a APG.

- A partir de cuerpos: se siguió la metodología de Yuan y Mohammed (2002). Se separaron cuerpos del material vegetal mediante aguja y se realizó una desinfección superficial de los mismos sumergiéndolos en alcohol 96% e hipoclorito de sodio 30% por 1 y 2 minutos, respectivamente, antes de sembrarlos en APG.



Figura 6: Cortes de material vegetal sobre APG.

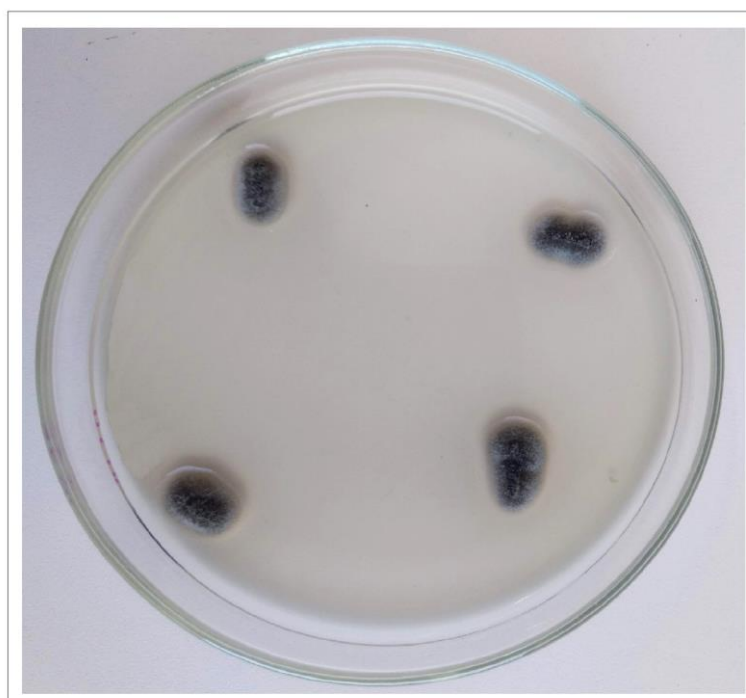


Figura 7: Colonias de *S. convolvuli* creciendo a partir de cortes de material vegetal sobre APG.

Descripción de las características culturales

Los hongos se hicieron crecer en tres medios de cultivo: APG, AAv (Agar Avena) y AM (Agar Malta), preparados según Dhingra y Sinclair (1985), para estudiar de esta forma las características culturales. Se transfirió un disco de 6 mm con micelio de la caja original al centro de cada caja con medio de cultivo nuevo con el fin de describir las colonias y medir su diámetro a los 21 días. Incubándose a 15° C. (Figura 8).



Figura 8: Disco de *S. convolvuli* de 6 mm de diámetro recién transferido sobre Agar Avena.

Pruebas de patogenicidad

- Obtención de plantas de *C. arvensis*

Las inoculaciones se realizaron sobre plantas de *C. arvensis* obtenidas a partir de semillas sanas, provenientes de poblaciones creciendo en la localidad de Bahía Blanca (-38.73807, -62.22753). Las semillas (Figura 9) fueron desinfectadas superficialmente y pasaron por un tratamiento pre-germinativo de escarificación química mediante la inmersión en alcohol etílico al 96% durante 24 horas (Davies, 2021). Las semillas se colocaron en germinadores y una vez detectada la radícula se sembraron en macetas de 12 x 12 cm con suelo proveniente de la mezcla de suelo del campus de la Universidad Nacional del Sur y sustrato marca "GROWMIX" multipro en relación 2:1, respectivamente. Las macetas se colocaron en condiciones controladas de temperatura (20°C) y posteriormente fueron trasladadas al invernáculo del

Departamento de Agronomía de la UNS, bajo condiciones controladas tanto de temperatura como de humedad y riego.

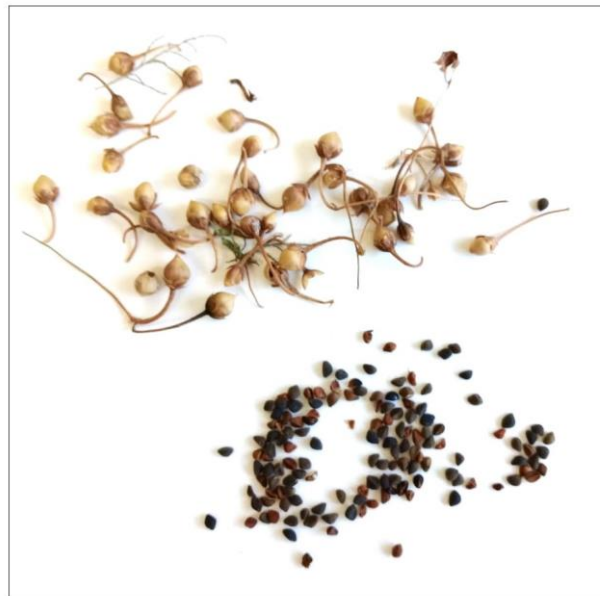


Figura 9: Frutos y semillas sanas provenientes de poblaciones de Bahía Blanca.

- Preparación del inóculo

La obtención del inóculo se llevó a cabo partiendo de los cultivos de hongos creciendo en APG, AAv o AM en cajas de Petri, bajo condiciones de temperatura ambiente. Cuando se observó que las colonias presentaban una importante esporulación con abundante producción de cirros de conidios para ambos hongos, se procedió a separar los picnidios de los medios de cultivos con un ansa y luego se molieron en un mortero de porcelana, logrando así la liberación de los conidios. Seguidamente, se agregó agua destilada y con ayuda de una varilla de vidrio, se batió para obtener una suspensión de conidios, que se volcó en un vaso de precipitado. Para la obtención del volumen deseado, se agregó agua destilada y se calculó la concentración mediante el empleo de una cámara de Neubauer.

- Inoculación de plantas

El asperjado fue el método de inoculación seleccionado. Se aplicaron 15 ml de suspensión de conidios (ver concentración en Resultados) sobre la superficie de las hojas hasta el punto chorreado sobre cuatro plantas sanas para cada hongo seleccionado. Además, se usaron otras cuatro plantas sanas como control que fueron

pulverizadas con agua destilada. Después del asperjado fueron colocadas en una cámara húmeda hermética en condiciones de humedad relativa (HR) cercanas al 100%, temperatura de 20 °C y un fotoperiodo de 12 horas (Figura 10). La cámara húmeda utilizada consistió de una estructura cúbica de alambre cubierta por material plástico, sobre el piso de la cual fueron colocados papeles de diario empapados en agua de red, lo que permitió mantener la humedad relativa cercana a la saturación. Las plantas fueron regadas cada dos días durante la duración de los ensayos. Pasadas las primeras 48 horas posteriores al asperjado, se examinaron las plantas separando las que presentaban síntomas manteniéndolas en las mismas condiciones, pero a una humedad relativa menor a la de saturación (alrededor de 40%) hasta la finalización de los ensayos. Para el caso particular de *Septoria convolvuli*, la inoculación a ese periodo de humedad no registró la aparición de síntomas, se decidió probar un periodo de humedad mayor (cinco días) en cámara húmeda hermética.



Figura 10: Plantas inoculadas dentro de la cámara húmeda.



- Análisis de síntomas y signos desarrollados luego de la inoculación

Se registraron los síntomas producidos durante cuatro semanas desde la inoculación. Los signos fueron verificados mediante observación directa y bajo lupa binocular, sobre la planta formados espontáneamente y luego de haber sido expuesto el material en cámara húmeda. Para dar cumplimiento con los postulados de Koch, se realizaron aislamientos en APG a partir del material vegetal inoculado anteriormente que presentasen síntomas, desinfectando superficialmente. Luego de un tiempo, se realizó una observación de las características culturales y el estudio de estructuras reproductivas bajo microscopio óptico para confirmar que estos hongos eran los mismos que los originalmente aislados.

Determinación preliminar del grado de daño

Se realizaron observaciones a simple vista durante un periodo de tiempo correspondiente a 28 días después de la inoculación (DDI), para analizar el desarrollo de síntomas de la infección en el tejido foliar. Se registraron el momento de aparición de los síntomas, el porcentaje de hojas con síntomas, el número de manchas por hoja, el número de hojas muertas y el número de hojas caídas a los 28 días, a partir de la inoculación para ambos hongos.

RESULTADOS

***Septoria convolvuli* Desm.**

Sintomatología: manchas foliares presentes en el haz y raramente en el envés, encontrándose aisladas o a veces confluyendo; ubicadas en el centro, a veces en los márgenes. Color pardo, de aproximadamente 3,7 mm de largo por 2,7 mm de ancho (n=10) generalmente con 1 a 3 anillos de crecimiento concéntrico. Forma circular a elíptica y sin presencia de halo clorótico. Puntuaciones negras correspondientes a picnidios sobre las manchas, dispuestos mayormente en el haz y menos frecuentemente en el envés, en promedio 10 por mancha (Figura 11).

Descripción del patógeno

Conidiomas picnidiales epífilos 62-123 x 50-105 μm (n=14), subglobosos, negros, inmersos a semiinmersos. Conidios 13-45 x 0,7-2,7 (5) μm , 0-3 (4) tabiques (n=28). Ostiolo central, rara vez descentrado, 12-31 (62) μm . Color hialino con presencia de gotas de aceite. Forma recta, levemente curvos, afinándose hacia las puntas en forma asimétrica. En general, con extremos redondeados, sutilmente agudos. Sin constricciones a nivel de los septos (Figura 12).

Material examinado: *Convolvulus arvensis*, Prov. de Buenos Aires, Argentina

- ✓ Bahía Blanca, -38.680464, -62.227132, 10 de marzo de 2020.
- ✓ Villa Ventana, -38.073829, -61.925471, diciembre de 2019.
- ✓ Villa Ventana, -38.073829, -61.925471, febrero de 2021.

Descripción de las colonias creciendo en medio de cultivo

- Colonias en APG: aterciopeladas con margen suavemente lobulado de forma irregular, elevación cónica y superficie cerebriforme dado por agrupación de numerosos picnidios. Micelio aéreo gris oliváceo (121. Olivaceous grey a 120. Pale olivaceous grey), con centro color blanco y micelio inmerso con coloración gris a negro. Presencia de gotas

correspondientes a cirros de color blanco a gris pálido. Diámetro aproximado de la colonia a los 21 días: 6,7 mm (Figura 13).

- Colonias en AM: aterciopeladas con bordes algodonosos con margen levemente lobulado, de forma más irregular que APG, elevada y limitada. Superficie cerebriforme dada por la formación de numerosos picnidios negros. Micelio aéreo con borde blanco tornándose gris pálido a negro. Micelio inmerso gris oscuro. Diámetro aproximado de la colonia a los 21 días: 4,7 mm (Figura 13).
- Colonias en AAv: aterciopeladas (a veces lanosas debido a la formación de micelio aéreo) con margen levemente lobulado, de forma circular, plana a levemente elevada. Superficie cerebriforme debido a la formación de numerosos picnidios. Micelio aéreo blanco (hialino). Micelio inmerso color negro (104. Fuscous black). Diámetro aproximado de la colonia a los 21 días: 4,1 mm (Figura 13).



Figura 11. Síntomas de *S. convolvuli* a campo, bajo lupa.

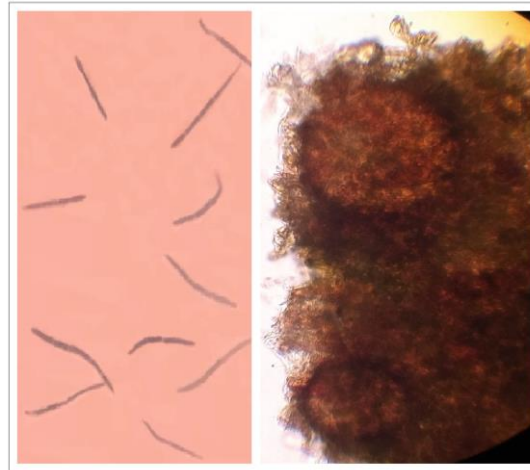


Figura 12. Conidios y picnidios de *S. convolvuli*

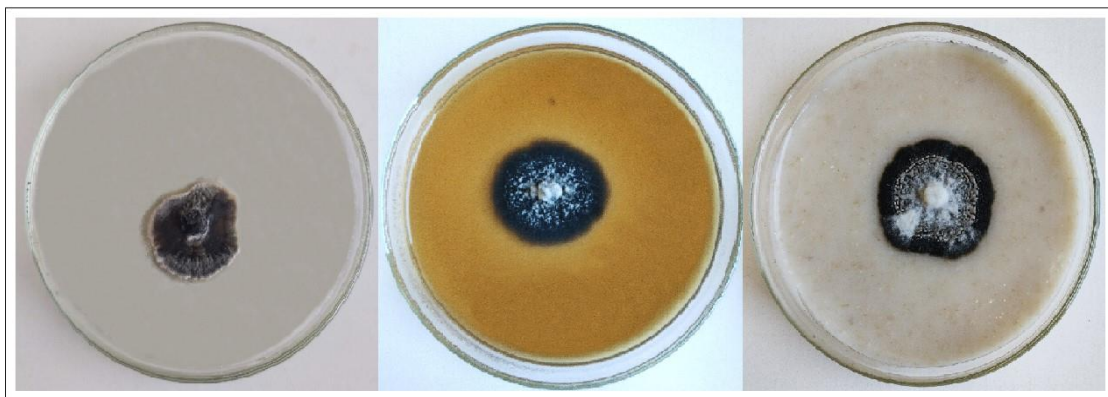


Figura 13: *Septoria convolvuli* creciendo en tres medios de cultivo, captados en distintos momentos de crecimiento (izq. a der.: APG, AM y AAv).

Inoculaciones artificiales: ocho DDI con una suspensión de conidios de $7,3 \times 10^5$ conidios/ml, se observaron los primeros síntomas de coloración inicialmente parda evolucionando a manchas grises a pardo claro, presentando forma rectangular dispuestas tanto en el borde como centro de la hoja. Tamaño de las manchas 6-9 x 4-7 mm. Se logró re-aislar el patógeno inoculado a partir de las manchas desarrolladas (Figura 14).



Figura 14: Evolución de síntomas de *S. convolvuli* durante 28 DDI.

***Stagonospora calystegiae* (Westend.) Bubák.**

Sintomatología

Manchas foliares numerosas ubicadas en ambas caras de la hoja, encontrándose mayormente aisladas, a veces confluyendo. Presentan forma redondeada a elíptica irregular, menos frecuentemente poligonales. Borde pronunciado de color claro y centro un poco más oscuro, de aproximadamente 0,5-1 mm de diámetro (n=10), anillos de crecimiento concéntricos ausentes. Puntuaciones negras correspondientes a picnidios en ambas caras mayormente en el envés, 1-3 (4) por mancha (n=10).

En infecciones relativamente avanzadas con numerosas manchas, se observa clorosis en toda la hoja, salvo alrededor de la mancha donde se visualiza un patrón de islas verdes (Figura 15).

Descripción del patógeno

Conidiomas picnidiales epífilos, 92,4-150,9 x 107,8-147,8 μm (n=10), negros, no inmersos a semiinmersos. Ostiolo central 14-23 μm . Conidios hialinos, 19-52 x 2,6-5,1 (6,2) μm , 1-3 (5) tabiques, de forma recta a curvos, cilíndricos. En general, con extremos obtusos y sin constricciones a nivel de los septos (Figura 16).

Material examinado: *Convolvulus arvensis*, Prov. de Buenos Aires Argentina.

- ✓ Bahía Blanca, -38.679917, -62.284083, abril de 2021.
- ✓ Villa Ventana, -38.073829, -61.925471, diciembre 2019.



- ✓ Villa Ventana, -38.073829, -61.925471, febrero de 2021.
- ✓ Tres Arroyos, -38.370944, -60.299019, diciembre de 2019.

Descripción de las colonias creciendo en medio de cultivo:

- Colonias en APG: aterciopeladas, con margen entero de forma circular, elevación cónica en sus comienzos extendiéndose más tarde y superficie plegada. Micelio aéreo con margen blanco incoloro o bien color durazno (4. Peach), de centro gris (105. Smoke grey seguido de 120. Pale olivaceous grey con zonas oliváceos/ante 48. olivaceous a 45. buff). Centro externo oliváceo a ante oliváceo (89. Olivaceous buff). Micelio interno de borde ocre oscuro (44. Ochreous) y centro castaño (48. Chestnut). Picnidios en el centro de la colonia, por debajo del micelio aéreo, liberando gotas color carne (37. Flesh, cirros de conidios). Diámetro aproximado de la colonia a los 21 días: 11,2 mm (Figura 17).
- Colonias en AM: aterciopeladas, con margen entero de forma circular con elevación más cónica que las colonias de APG y superficie plegada. Micelio aéreo blanco con zonas color durazno. Micelio interno de castaño oscuro. No se observa presencia de cirros, pero sí de picnidios. Diámetro aproximado de la colonia a los 21 días: 8,7 mm (Figura 17).
- Colonias en AA: aterciopeladas o algodonosas hacia el final, de margen entero y forma circular con elevación plana y elevada hacia el final con superficie plegada. Micelio aéreo color blanco translúcido. Micelio interno con presencia de margen blanco tornándose a un salmón (41. Salmon), seguido de rojo damasco (42. Apricot) finalizando con color óxido (39. Rust). Picnidios inmersos aislados, vistos como puntuaciones negras y presencia de gotas blancas. Diámetro aproximado de la colonia a los 21 días: 13,6 mm (Figura 17).



Figura 15: Síntomas de *S. calystegiae* a campo.

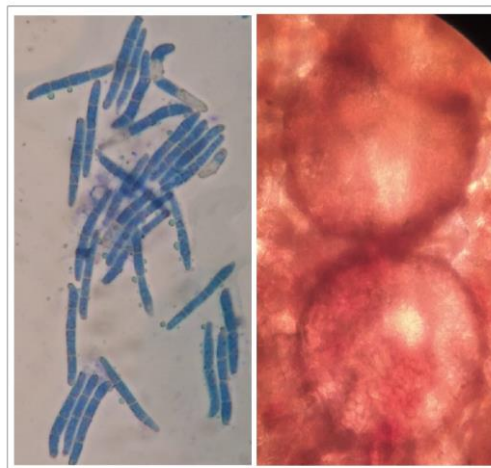


Figura 16: Conidios y picnidios de *S. calystegiae*

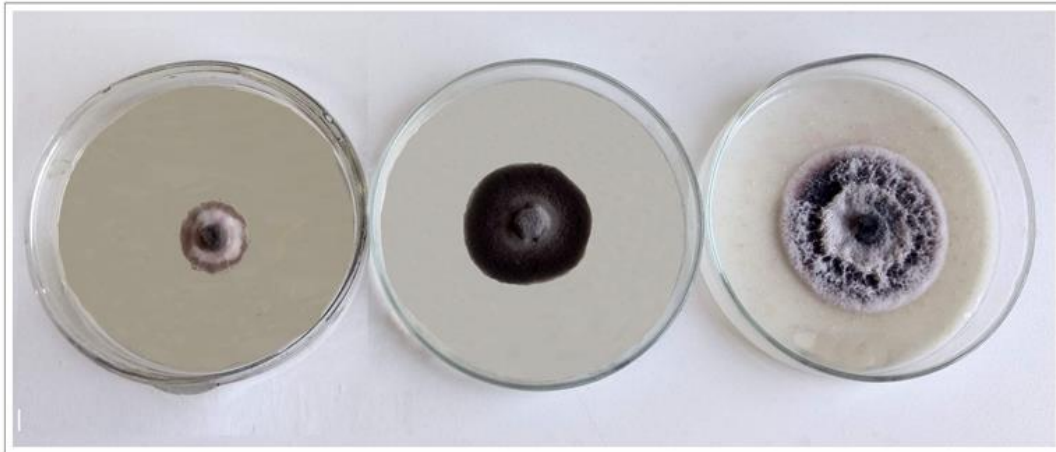


Figura 17: *Stagonospora calystegiae* creciendo en tres medios de cultivo, captados en distintos momentos de crecimiento (izq. a der.: APG, AM y AAv).

Inoculaciones artificiales: cuatro DDI con una suspensión de $6,54 \times 10^5$ conidios/ml, se observaron los primeros síntomas como puntuaciones necróticas pardas aisladas, dispuestas en la lámina al azar. Luego, desarrollaron manchas de centro claro y borde pardo oscuro con halo clorótico, de como máximo 2 a 3 mm. Finalmente, la hoja se volvió totalmente clorótica, mostrando la mancha oscura con isla verde, llevando a la muerte y caída de la hoja. Se logró re-aislar el patógeno inoculado a partir de las manchas desarrolladas (Figura 18).



Figura 18: Evolución de síntomas de *S. calystegiae* hasta 28 DDI.

Determinación del grado de daño

El porcentaje de hojas con síntomas para *S. convolvuli* fue menor durante la primera semana en comparación con la segunda semana donde registró su máximo pico, siendo de 38% y 65%, respectivamente. Posteriormente, se redujo a 49% para los 21 DDI y 45% para los 28 DDI.

En el caso de *S. calystegiae* el porcentaje de hojas con síntomas fue de 49% para los primeros 7 DDI, disminuyendo a 21% en la segunda semana. Luego, se observó una pequeña disminución a los 21 DDI y a los 28 días DDI con un 17%, en ambos (Figura 19, 20).



Figura 19: Visualización de las plantas 28 DDI (Izq.: *S. calystegiae* – Der.: *S. convulvuli*).

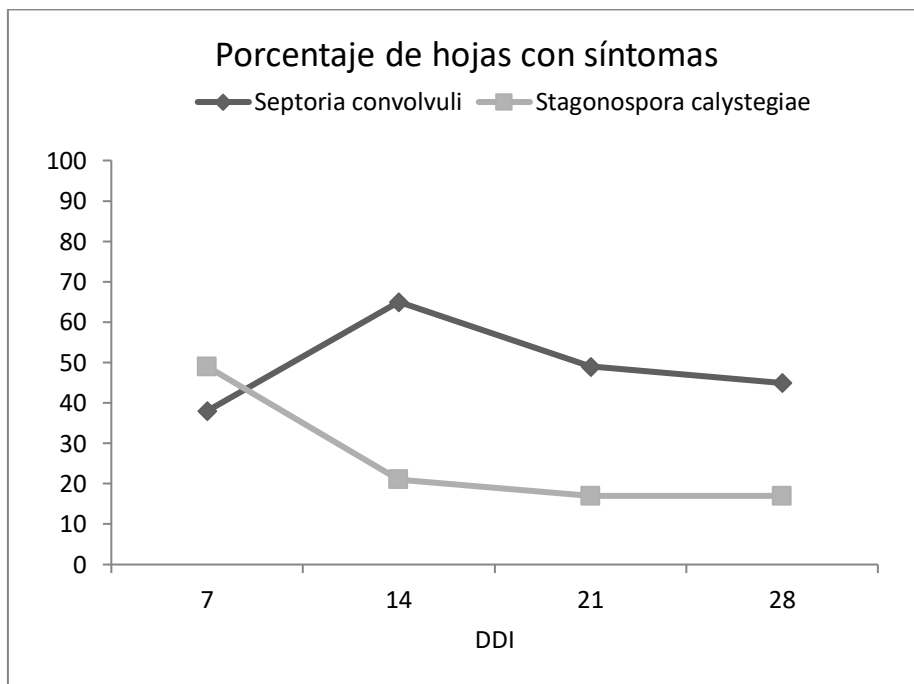


Figura 20: Porcentaje de hojas con síntomas en correhuela (*Convolvulus arvensis*) producidos por *Septoria convulvuli* y *Stagonospora calystegiae* luego de inoculaciones artificiales. (DDI: Días Después de la Inoculación).

En el análisis del número de manchas por hojas que produjo *S. convulvuli*, se pudo contabilizar un máximo de 3 manchas para la primera y tercera semana, marcándose

un mínimo de 2 manchas por hoja a los 14 y 28 DDI. En el caso del número de manchas por hoja producidas por *S. calystegiae*, se registró una media de 47 manchas por hoja para la primera semana, disminuyendo hasta 23 manchas por hoja para los 14 DDI, manteniéndose en 19 manchas para los 21 y 28 DDI (Figura 21).

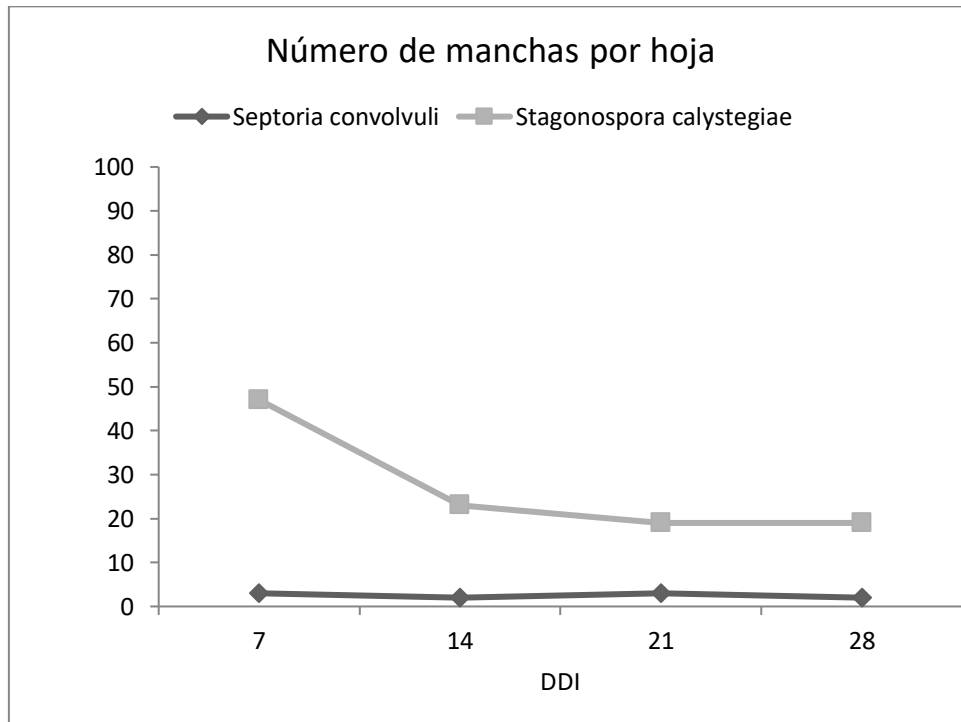


Figura 21: Número de manchas por hoja en correhuela (*Convolvulus arvensis*) producidos por *Septoria convolvuli* y *Stagonospora calystegiae* luego de inoculaciones artificiales.

(DDI: Días Después de la Inoculación).

Finalmente, en la figura 22, podemos determinar que la defoliación promedio fue de 13 hojas caídas durante el periodo total del experimento, reflejando un porcentaje de daño del 17% en el caso *Septoria convolvuli*. Mientras que el porcentaje de daño registrado para *Stagonospora calystegiae*, fue del 75% (66 hojas destruidas en promedio, durante todo el ensayo) (Figura 22).

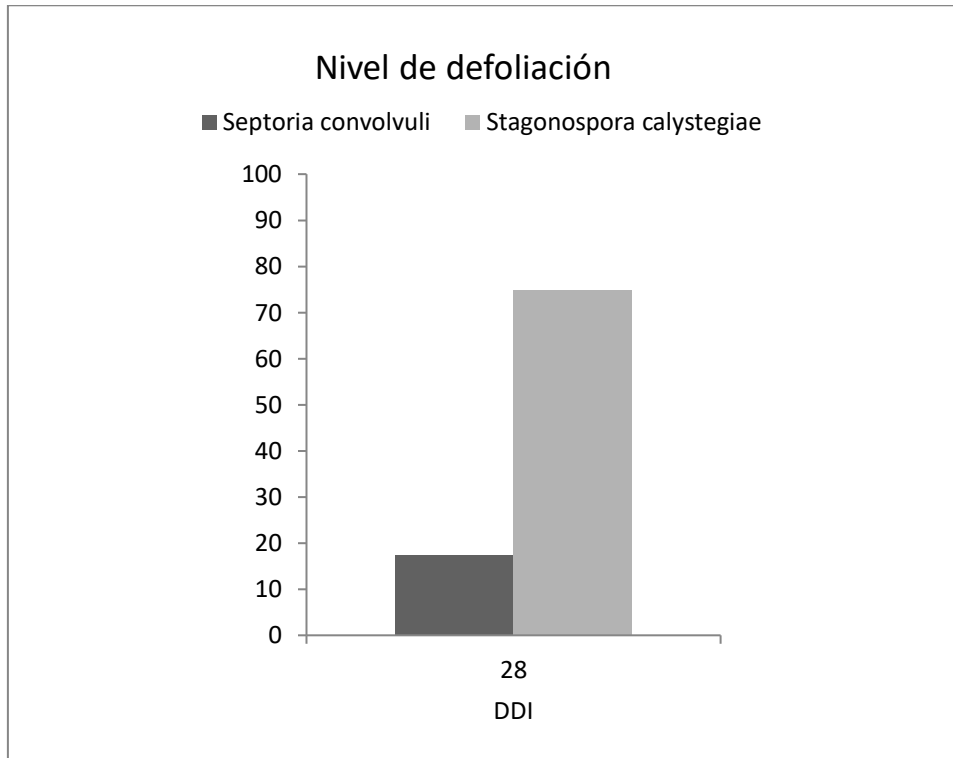


Figura 22: Nivel de defoliación causado en correhuela (*Convolvulus arvensis*) producido por *Septoria convolvuli* y *Stagonospora calystegiae* luego de los 28 DDI. (DDI: Días Después de la Inoculación).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo, se confirmó la presencia de dos enfermedades foliares afectando a poblaciones naturales de *Convolvulus arvensis* en el sudoeste bonaerense. En ambas, el síntoma se caracterizó por ser una mancha cuyo agente causal resultó ser un hongo celomicete. De acuerdo a las características morfológicas tales como tipo de cuerpos de fructificación, forma, color, tabicación de sus conidios y características culturales, los hongos patógenos se identificaron como *Septoria convolvuli* (Desm.) y *Stagonospora calystegiae* (Westend.) Bubák.

Las características estudiadas para *Sp. convolvuli* fueron, en mayor medida, coincidentes con la información encontrada en la literatura. Las manchas se localizan mayormente sobre el haz de las hojas, encontrándose aisladas, a veces confluentes como describen Shin y Sameva (2004), diferenciándose en la forma descrita por Muthumary (1999) como también en el tamaño, dado que fueron sensiblemente menores para ambos autores. En cuanto a la descripción del patógeno, las diferencias se ven reflejadas en el tamaño de los conidios, mientras que presenta una similitud en la forma de los mismos. Este hongo cuenta con una única cita previa en Argentina en la ciudad de Buenos Aires, por Spegazzini (1882). En el presente trabajo se amplía la distribución geográfica de este patógeno.

El principal efecto de las enfermedades causadas por especies del género *Septoria* es la reducción de la actividad fotosintética de las plantas atacadas, debido a la muerte de tejido fotosintético causada por el impacto del hongo (Ramírez, 2014). También aumenta la transpiración, como resultado de la destrucción de parte de la protección aportada por la cutícula (Agrios, 2005) lo que lleva a infecciones expandidas por pérdida de turgencia de la planta y marchitamiento de las hojas. La gran mayoría de los estudios sobre la patología del género *Septoria* están relacionados con especies que atacan cultivos de importancia económica. Entre las de mayor importancia se destacan *Zymoseptoria tritici* (= *S. tritici*), *S. glycines*, *S. apiicola*, *S. petroselini*, *S. lycopersici*, agentes patógenos del trigo, la soja, el apio, el perejil y el tomate, respectivamente (Herbario Virtual UBA, 2023). Para patógenos de este género que atacan malezas, tal como *C. arvensis*, la información existente es significativamente menor. De forma coincidente con nuestro trabajo, los primeros síntomas de *S. gaurina*

sobre *Gaura parviflora* (Onagraceae), maleza invasora en varios países, en ensayos realizado en China, pudieron observarse a los 8 DDI y el hongo produjo defoliación en la planta (Wang et al., 2021).

El segundo hongo patógeno encontrado, *Stagonospora calystegiae* presenta concordancias con las descripciones de Verkley et al. (2013) para la sintomatología en la planta y morfología del hongo, salvo únicamente que a los picnidios los describen como inmersos. Esta especie podría tratarse de un registro realizado por Spegazzini en 1898 en la ciudad de La Plata, Provincia de Buenos Aires, al que denominó *Septoria convolvulina*. Las escasas características dadas por Spegazzini coinciden con el hongo actualmente encontrado. Sin embargo, también coinciden con *St. calystegiae* y, según Hönel (1919), se tratarían de sinónimos, aunque el material de herbario parece no haber sido examinado. Si este fuera el caso, en el presente trabajo se ampliaría la distribución geográfica de este patógeno. Sino, se trataría de una nueva cita, situación que debería verificarse a futuro examinado el material de herbario depositado y corroborando la identidad del aislado encontrado con herramientas moleculares.

En otros países, *C. arvensis* se ha propuesto como blanco de control biológico. Se investigó el accionar de insectos como posibles ACB que atacan distintas partes de la planta, pudiendo disminuir tanto la parte aérea como las raíces (Tóthy Cagáñ, 2005). Asimismo, en Inglaterra en 1995, se aisló el patógeno foliar *St. convolvuli* a partir de síntomas de la enfermedad encontrados en hojas de especies de la familia Convolvuláceas (Pfirter et al., 1999). En Europa (principalmente Inglaterra y Rumania), se demostró que *St. convolvuli* presenta alta eficiencia como agente de control biológico de *C. arvensis* y fue considerado para su uso como ACB bajo un enfoque inundativo (bioherbicida) (Pfirter y Dafago, 1998). En el presente estudio, la especie encontrada no coincide, por lo menos morfológicamente, con *St. convolvuli*. Dado que *St. calystegiae* produjo también altos niveles de necrosis en el área foliar de la maleza, podría considerarse como ACB en nuestra región.

En el este trabajo, ambos hongos realizaron un daño significativo sobre la planta. Las manchas foliares de *Sp. convolvuli* presentan un mayor tamaño, a diferencia de las producidas por *St. calystegiae* sobre la maleza. Sin embargo, en infecciones avanzadas en este último se observó una clorosis en toda la hoja con presencia de islas verdes alrededor de las manchas, que precedieron a la muerte de las



hojas. A favor de este segundo hongo, los síntomas se pudieron apreciar en forma más temprana: a los cuatro días de inoculadas las plantas, mientras que en *Sp. convolvuli* se visualizaron a los ocho días posteriores a la infección. Al finalizar el experimento, aunque el porcentaje de hojas con síntomas de *Sp. convolvuli* fue mayor, el número de manchas por hoja de *St. calystegiae* fue superior ocasionando un nivel de defoliación sobre la maleza considerablemente mayor.

Los resultados obtenidos justifican continuar realizando estudios sobre ambos patógenos. Hasta el momento, podría decirse que el grado de daño de *St. calystegiae* es mayor que el de *Sp. convolvuli*. Sin embargo, esto debería ser corroborado luego de realizar experimentos donde se determinen los niveles óptimos de los factores que promueven la infección y el desarrollo de ambas enfermedades. La selección de uno o ambos hongos a futuro que sirvan a la factibilidad de incorporarlos en control biológico de correhuela dependerá también del grado de especificidad de cada uno. El aporte de este trabajo es un primer paso para el desarrollo de esta forma de manejo para malezas de nuestro país, de manera de colaborar con el manejo integrado de malezas en pos de disminuir el uso de agroquímicos nocivos para el ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- Aapresid, 2014. Conceptos básicos de resistencia a herbicidas. <https://www.aapresid.org.ar/blog/conceptos-basicos-de-resistencia-a-herbicidas>. Recuperado en septiembre de 2023.
- Agrios, GN. 2005. Plant Pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press, London.
- Anderson, F.E. 2017. ¿Es factible aplicar el control biológico de malezas mediante hongos patógenos en Argentina? Libro de resúmenes del I Taller de manejo de malezas y plantas invasoras. Pág. 11.
- Badii, M. H. y Abreu, J. L. (2006). Control biológico una forma sustentable de control de plagas (Biological control a sustainable way of pest control). Daena: International Journal of Good Conscience, 1(1), 82-89.
- Baffoni, P., Gajardo, O. A., Bezic, C. R., & Chorolque, A. (2021). Identificación de patógenos foliares de la maleza *Convolvulus arvensis* en el Valle inferior del Río Negro, una alternativa de biocontrol. 5° Congreso argentino de fitopatología. 59th reunión de aps división Caribe. Corrientes, Argentina. Pág. 154.
- Cabrera, L.A. y Añón Suárez, D. (1965). Flora de la Provincia de Buenos Aires. Col. Cient. Inst. Nac. Tecnol. Agropecu. 4 (5): 153-190, 302-304.
- Cabrera Walsh, G., Briano, J., Enrique de Briano, A., & Anderson, F. E. (2014). Malezas e invasoras de la Argentina (Invasive weeds in Argentina). *Control Biológico de Malezas [Biological Control of Weeds]*, 1, 801-821.
- Cañon, S.L.; Gajardo Barriga, O.A.; Bezic, C. R.; Avilés, L. M.; Dall Armellina, A. A. *Convolvulus arvensis* L.; En Malezas e Invasoras de la Argentina: su Identificación, Ecología y Manejo, Tomo III. Historia y biología. Editorial de la Universidad Nacional del Sur; pp. 191-210.
- Chaves, H. C. (2002). CORREHUELA, Manejo y control en producciones con riego. C.U.R.Z.A. – Universidad Nacional del Comahue. INTA EEA VIRN. pp 5-13.
- GBIF Backbone Taxonomy. (2022). *Convolvulus arvensis* L. in GBIF Secretariat. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei>. Recuperado de septiembre de 2023.



- Davies, M. B. (2021). Protocolo de cultivo de *Convolvulus arvensis* L. en condiciones controladas. <https://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/5849>. Recuperado en septiembre de 2023.
- Dhingra, O. D. y Sinclair, J. B. (1985). Basic plant pathology methods. CRC Press, Inc.
- Evans, H. C., Greaves, M. P., & Watson, A. K. (2001). Fungal biocontrol agents of weeds. In Fungi as Biocontrol Agents: progress, problems and potential (pp. 169-192). Wallingford UK: CABI Publishing.
- FAO. 2023. Manejo integrado de plagas y plaguicidas. <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/ipm/principles-andpractices/es/>. Recuperado en Septiembre de 2023.
- Ferreyra, M. y Green, L. (2012). Flores de la Estepa Patagónica: Guía para el reconocimiento de las principales especies de plantas vasculares de estepa. 1° Edición – Buenos Aires. Vázquez Mazzini Editores. 288 pp.
- Herbario virtual. (2023). Cátedra de Fitopatología. Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Buenos Aires. <https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar>. Recuperado en Septiembre de 2023.
- Holm, L. G., Plucknett, D. L., Pancho, J. V., y Herberger, J. P. (1977). The world's worst weeds. Distribution and biology. University Press of Hawaii.
- Hönel, F.v. (1919). Fungi imperfecti beiträge zur kenntnis derselben. Hedwigia 60: 148-150.
- Labrada, R. (2006). Manejo de malezas: un componente básico de la producción agrícola moderna. Manual de manejo sostenible de malezas, 21-49.
- Marzocca, A. (1994). Guía descriptiva de malezas del Cono Sur Buenos Aires, Argentina: INTA. pp. 103-104.
- Muthumary, J. (1999). First contribution to a monograph of 'Septoria' species in India. Centre for advanced studies in Botany.
- Pflirter, HA, Guntli, D., Ruess, M. y Défago, G. (1999). Preservación, producción en masa y almacenamiento de *Stagonospora convolvuli*, un bioherbicida candidato para la enredadera de campo (*Convolvulus arvensis*). BioControl, 44 (4), 439-449.



- Pfirter, HA y Defago, G. (1998). El potencial de *Stagonospora* sp. como micoherbicida para correhuelas de campo. *Biocontrol Ciencia y tecnología*, 8 (1), 93-101.
- Ramírez, G. H. (2014) Etiología y epidemiología de una mancha foliar de *Araujia hortorum*.
- SENASA, 2021. <http://www.senasa.gob.ar/normativas/decreto-ley-nacional-6704-1963-poder-ejecutivo-nacional>. Recuperado en Septiembre de 2023.
- SIB, 2023. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Sistema de Información de Biodiversidad de la Administración de Parques Nacionales. *Convolvulus arvensis* (correhuela - campanilla -). Parques Nacionales, Argentina. <https://sib.gob.ar/especies/convolvulus-arvensis>. Recuperado en Septiembre de 2023.
- Shin, H. D. y Sameva, E. F. 2004. *Septoria* in Korea. National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon, Korea, 183 pp.
- Spegazzini, C. 1898. Fungi Argentini novi vel critici. *Anales del Museo Nacional de Historia Natural Buenos Aires*, 6: 81-365.
- Spegazzini CL. 1882. Fungi Argentini. Pugillus IV. *Anales Sociedad Científica Argentina*, 13: 11-35.
- Tamayo Esquer, L.M. (2014). La correhuela perenne o gloria de la mañana, factores que la originan y tecnología desarrollada para su manejo integrado en el sur de Sonora, México. 1er Simposium para el Manejo Integrado de Correhuela *Convolvulus arvensis* L. en el valle del Yaqui, Sonora, México. p. 1.
- Tóth, P. y Cagáñ, L. (2005). Organisms associated with the family Convolvulaceae and their potential for biological control of *Convolvulus arvensis*. *Biocontrol News and Information*, 24-pp.
- Verkley, G. J. M., Quaedvlieg, W., Shin, H. D., y Crous, P. W. (2013). A new approach to species delimitation in *Septoria*. *Studies in Mycology*, 75(1), 213-305.
- Wang, Y., Dong, Y., Wang, H., Zou, J., Liang, W. y Li, D. (2021). Caracterización y patogenicidad de *Septoria gaurina* asociada con la enfermedad de la mancha foliar en *Gaura parviflora* en China. *Fitopatología*, 70 (5), 1138-1145.



- Wapshere, A. J. (1974). A strategy for evaluating the safety of organisms for biological weed control. *Annals of applied biology*, 77(2), 201-211.
- Yuan, Z. Q. y Mohammed, C. L. 2002. *Ceratocystis moniliformis* sp. nov., an early colonizer of *Eucalyptus obliqua* logs in Tasmania, Australia. *Australian Systematic Botany*, 15: 125-133.