

# Presencia de *Phomopsis* sp., agente causal del tizón del orégano (*Origanum vulgare*) en Córdoba, Argentina

YOSSEN, V.<sup>1</sup>; CONLES, M.<sup>1</sup>; CRAGNOLINI C.<sup>1</sup>

El orégano (*Origanum vulgare* L.) ocupa el primer lugar en la producción de especias en la Argentina. Se cultiva principalmente en las provincias de Córdoba, Mendoza, San Juan y San Luis (COFECYT, 2009). El Valle de Traslasierra, ubicado al oeste de Córdoba, es la principal zona de producción y comercialización de hierbas aromáticas y medicinales. Las variedades Criollo, Negrito y Mendocino son, históricamente, las más cultivadas. Sin embargo, las dos últimas están paulatinamente dejando de utilizarse como consecuencia de haber perdido rendimiento y calidad en el producto final (Suárez, 2005). En los años 2009 y 2010, se encontraron varios patógenos en los cultivos de la zona. Así, se pudo evidenciar la presencia de *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp. y *Septoria* sp. Además, se observaron síntomas de roya y de un atizonamiento en el cual las plantas presentaban, al comienzo, manchas necróticas pequeñas e irregulares de 1-3 mm sobre hojas, pecíolos e inflorescencias. Sobre los tallos jóvenes las lesiones eran superficiales y en los más viejos se observó agrietamiento del tejido cortical. En ambos casos las manchas medían entre 2 mm y 4 mm y eran de color marrón oscuro. Posteriormente, las hojas e inflorescencias se necrosaban y parte o toda la planta moría (Argüello *et al.*, 2012). En la Argentina se describieron otros patógenos que pueden producir tizón, como *Alternaria alternata* (Jauch y Gally, 1985; Madia *et al.*, 2008), *Stemphyllium* sp. (Madia *et al.*, 2008), *Colletotrichum* sp. (Perelló y Dal Bello, 1995) y *Curvularia* sp. (Sandoval *et al.*, 2002). Se planteó como objetivo determinar el agente causal del tizón en los cultivos de orégano, en el Valle de Traslasierra, para poder elaborar estrategias efectivas de manejo de la enfermedad.

Se recolectaron plantas de orégano con manchas necróticas en las hojas, tallos y flores, en dos lotes de 2.500 m<sup>2</sup> cultivados con la variedad Negrito, en el departamento

San Javier (31° 56' S, 65° 12' O), provincia de Córdoba. Además, se evaluó la incidencia de la enfermedad como porcentaje (%) de plantas con síntomas, en 20 plantas recolectadas en cada uno de los nueve surcos de cada lote. Los tallos de las plantas recolectadas en el campo que tenían manchas de color castaño oscuro, fueron colocados en una cámara húmeda en condiciones de laboratorio, bajo iluminación natural y durante cinco días, para hacer una observación visual de los síntomas. Además, se realizaron aislamientos en función de las plantas con síntomas de tizón. Los trozos de tejidos obtenidos de las manchas necróticas de ramas y pecíolos fueron agitados en agua esterilizada con 1 mL de Tween 20%, en un agitador rotativo a 4000 rpm, durante 15' y a 30 °C. El tratamiento fue realizado para limpiar el material de las gotas de aceites que posee y que llevan microorganismos que contaminan los medios de cultivos. Posteriormente, los trozos fueron desinfectados con un 70% de etanol, durante 1 minuto y con una solución de hipoclorito de sodio comercial (50 g/L de Cl activo) al 10%. Luego, se sembraron en cajas de Petri con agar papa glucosado (APG), 2%, pH 5,5. Las cajas se mantuvieron en condiciones de laboratorio con aproximadamente 23±2 °C bajo iluminación natural, durante 10 a 15 días, para permitir la formación de picnidios. Posteriormente, con aguja histológica esterilizada se tomaron cirros de los picnidios y se los sembró sobre APG 2%, pH 5,5 para obtener cultivos puros. El hongo fue identificado sobre la base de sus características morfológicas (Sutton, 1980). Para realizar las pruebas de patogenicidad se utilizaron conidios obtenidos de los picnidios de 10 días, desarrollados en APG 2%, pH 5,5. Una suspensión de 2x10<sup>6</sup> conidios alfa/mL de agua esterilizada se pulverizó hasta punto de goteo sobre las ramas de ocho plántulas de orégano de 60 días, con cuatro ramas cada una, provenientes de cultivo de meristemas del laboratorio de Biotecnología de la Facul-

<sup>1</sup>Manejo Integrado de Plagas y Terapéutica Vegetal. Departamento Protección Vegetal. F.C.A. Universidad Nacional de Córdoba. CC: 509. 5000-Córdoba, Argentina. Correo electrónico: viyossen@agro.unc.edu.ar

tad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba. Como control se utilizó un número igual de plántulas. Previamente, se realizaron heridas en los tallos con una aguja hipodérmica esterilizada. Las plántulas se colocaron en una cámara de crecimiento a  $22\pm 1,5$  °C, con 12 horas de luz fluorescente y 12 horas de oscuridad. Los controles se pulverizaron con agua esterilizada y se acondicionaron igual que el material inoculado. La presencia de la enfermedad se evaluó por la sintomatología en las ramas, pecíolos y hojas de las plántulas a los 15 días de inoculadas. El hongo fue aislado nuevamente de sectores necrosados de las ramas desinfectados con etanol 70% y con hipoclorito de sodio comercial (50 g/L de Cl activo) al 10%, durante un minuto en cada solución. Posteriormente, fueron sembrados en APG 2%, pH 5,5. Otro ensayo consistió en colocar sobre un cultivo del patógeno en APG 2%, pH 5,5, trozos de 2 cm de ramas de plantas de orégano sanas de la variedad Negrito, provenientes del cultivo de meristemas. Para la desinfección del material se siguió la misma metodología descrita anteriormente. Luego, los trozos se colocaron en las cajas de Petri sobre el cultivo del hongo y fueron mantenidas en una cámara de crecimiento a  $22\pm 1,5$  °C y con fotoperíodo de 12/12 horas luz/oscuridad durante 5-10 días. Aislamientos del patógeno, de siete días de desarrollados en APG 2% y pH 5,5, fueron remitidos al Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), perteneciente al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Castelar y al Instituto de Botánica Spegazzini, de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata, para la determinación del agente etiológico.

La incidencia de la enfermedad fue del 41% y 57% en los dos lotes evaluados. El signo del patógeno, a los cinco días de colocados los trozos de ramas en cámara húmeda, no se hizo visible. En los aislamientos realizados en cajas de Petri aparecieron, a los 10 días, picnidios prominentes y con cirros. En los cultivos puros realizados a partir de los cirros el hongo comenzó a crecer a los 2 días. El micelio blanco, al comienzo con áreas concéntricas, tomó color castaño grisáceo y en el reverso de la caja se observaron zonas oscuras. La presencia de picnidios se observó a los 10 días de la siembra cuando las colonias alcanzaron un diámetro de 4 cm a 8 cm. Los picnidios negros, globosos y uniloculares de 130-200  $\mu\text{m}$  de diámetro se presentaron solitarios o agregados, inmersos en una masa estromática. Entre los 3-4 días de aparecidos se observaron los exudados cremosos que solamente presentaron conidios alfa unicelulares, hialinos, constrictos en el centro y con una base roma de 2-2,5 x 5-8  $\mu\text{m}$ . A su vez, se observaron células conidiógenas largas, no doliformes o ampuliformes como las que caracterizan al género *Phoma* spp. En las pruebas de patogenicidad se observó en las plantitas, la presencia de manchas castaño oscuro sobre las ramas. Cuando se aisló nuevamente el hongo de los sectores de ramitas enfermas creció, en el medio del cultivo, micelio blanco. Luego oscuro y, posteriormente, aparecieron los picnidios del patógeno. En los trozos de tallos sembrados sobre cultivos del hongo se observó abundante fructificación. Picnidios oscuros y globosos crecieron sobre el ma-

terial a los cinco días de incubados. Las observaciones realizadas en IMYZA-INTA y en el Instituto de Botánica Spegazzini, determinaron que los aislamientos correspondían al género *Phomopsis* sp. Debido a la poca bibliografía existente para la determinación de especies de *Phomopsis* (la última de Punithalingam y Spooner, 2002) y a la gran cantidad de especies determinadas hasta el momento (970 especies), es necesario realizar una determinación a nivel molecular (Barreto, D. y Arambarry, A.; 2011. Comunicación personal).

Los resultados de este trabajo indican que *Phomopsis* sp. es el patógeno que produce atizamiento en las plantas de orégano en el Valle de Traslasierra, provincia de Córdoba, Argentina. Al no haber encontrado en nuestro país y en el mundo antecedentes acerca de la presencia de este patógeno sobre el cultivo de orégano, se deberá realizar un estudio taxonómico más detallado para la determinación de la especie. Aislamientos de *Phomopsis* sp. se encuentran en la colección del Laboratorio de Manejo Integrado de Plagas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba.

## BIBLIOGRAFÍA

- ARGÜELLO, J.A.; NUÑEZ, S.B.; DAVIDENCO, V.; SUÁREZ, D.; SEISDEDOS, L.; BAIGORRIA, M.; LA PORTA, N.; RUIZ, G.; YOSSEN, V. 2012. Sistema de Producción y Cadena de Valor del Cultivo de Orégano (*Origanum vulgare* spp. L.) en la Provincia de Córdoba (R.A.). PHYTON 81: 4-11.
- COFECYT (Consejo Federal de Ciencia y Tecnología) 2009. Hierbas aromáticas y medicinales. Córdoba, Misiones, Salta. Disponible en internet: [http://www.cofecyt.mincyt.gov.ar/pdf/productos\\_alimenticios/Hierbas/Especies\\_Hierbas\\_Aromaticas\\_y\\_Medicinales.pdf](http://www.cofecyt.mincyt.gov.ar/pdf/productos_alimenticios/Hierbas/Especies_Hierbas_Aromaticas_y_Medicinales.pdf)
- JAUCH, C.; GALLY, M.E. 1985. Presencia de *Alternaria alternata* (Fries) Keissler en *Origanum vulgare* L.. Jornadas Nacionales de Actualización sobre Recursos Naturales. Libro de Actas: Vol. 6, 225-228. Necochea. Buenos Aires.
- MADIA, M.S.; GAETÁN, S.A.; PAUNERO, I. 2008. Lesiones foliares en orégano. XXXI Congreso Argentino de Horticultura. 407. Mar del Plata. Buenos Aires. 30 de septiembre-3 de octubre.
- PERELLÓ, A.E.; DAL BELLO, G.M. 1995. Nota sobre las necrosis foliares ocasionadas por *Alternaria alternata* en romero y *Colletotrichum* spp. en lavanda, salvia y orégano. Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg. Vol. 10 (2), 275-281.
- PUNITHALINGAM, E.; SPOONER, B.M. 2002. New taxa and new records of Coelomycetes for the UK. Kew Bull. 57(3): 533-563.
- SANDOVAL, M.C.; FÁLICO DE ALCARAZ, L.M.; ATLAS DE GOTUZZO, E.; NOELTING, M.C.I. 2002. Presencia de *Curvularia lunata* en orégano (*Origanum vulgare* L.). XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. 110. Fac. de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba. 26-28 de junio.
- SUÁREZ, D. 2005. El cultivo del orégano - Aspectos Técnicos de la Producción de Aromáticas en la Región. Boletín electrónico INTA Villa Dolores. ISS 1669-1032. Año I, N.º 3.
- SUTTON, B.C. 1980. The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Commonwealth Mycological Institute. Kew. England. 696 pp.