

# Avances sobre la caracterización del “mal de la tela” en plantas de yerba mate *Ilex paraguariensis* A. St. -Hil.

Dummel, D.M.<sup>1</sup>; Badaracco, A.<sup>1,2</sup>; Kramer, R.<sup>1</sup>; Rohatsch, P.<sup>1</sup>; Agostini, J.P.<sup>3</sup>

## RESUMEN

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. -Hil.) es un cultivo primario y de gran importancia para el noreste de Argentina. En los últimos años, la enfermedad conocida como “mal de la tela”, cuyo agente causal es *Ceratobasidium niltonsouzanum*, está ocasionando importantes daños en la producción; y debido a la poca información existente su manejo resulta muy difícil.

Al inicio de la enfermedad los signos incluyen cordones de micelios blancos visibles sobre las ramas y hojas infectadas. Las hojas se necrosan, se secan y quedan colgando de las ramas por la hifa del hongo. A partir de hojas y ramas sintomáticas, muestreadas de distintas partes de la provincia de Misiones, fue aislado el agente causal para su posterior caracterización morfológica y molecular. Las colonias fueron aisladas y crecieron rápidamente sobre medios de APG (agar papa glucosado), presentando un color blanquecino al inicio, tornándose luego de un color castaño. Con la caracterización morfológica se pudo determinar que el hongo se encuentra distribuido en distintas partes de la provincia de Misiones, afectando las plantaciones con distintos niveles de incidencia. Pruebas de patogenicidad, conducidas en laboratorio, permitieron conocer el progreso de la enfermedad bajo condiciones ambientales favorables. El objetivo del presente trabajo fue contribuir al conocimiento de la enfermedad, con la descripción de síntomas y signos, condiciones predisponentes y caracteres morfológicos y moleculares del agente causal del “mal de la tela”.

**Palabras clave:** *Rhizoctonia* binucleada, test de patogenicidad, filogenia, yerba mate.

## ABSTRACT

Yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) is a primary and important crop in northeastern Argentina. In past years, a disease called white thread blight caused by *Ceratobasidium niltonzousanum* is having a very important impact in the production and has not been well characterized. Thus, the objective of this work was to complement the knowledge with symptom descriptions, morphological and molecular characterization of the causal agent, and pathogenicity tests. Signs of the disease include white mycelial cords visible on the infected branches and leaves with twig die-back, diseased leaves dry up but remain attached to the plant hanging by the fungal hyphae. Symptomatic leaves and branches were sampled from different parts of the province of Misiones. The causal agent was isolated for its subsequent morphological and molecular characterization. The colonies grow rapidly on PDA (potato dextrose agar) and are white at the beginning but later become light brown.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Montecarlo, Protección Vegetal. N3384, Montecarlo, Av. El Libertador 2472 (3384), Montecarlo, Misiones, Argentina. Correo electrónico: dummel.delia@inta.gob.ar

<sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290 (C1425FQB), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Facultad de Ciencias Forestales, Cátedra de Protección Vegetal, Bertoni 124, km 3 (N3380), Eldorado, Misiones, Argentina.

*With the morphological characterization it was possible to determine that the fungus is distributed in different parts of the province of Misiones, affecting the plantations at different levels of incidence. Pathogenicity tests conducted in the laboratory allowed to know the progress of the disease under favorable environmental conditions. This work constitutes a contribution to the knowledge of this disease that affects yerba mate plantations.*

**Keywords:** binucleate *Rhizoctonia*, pathogenicity test, phylogeny, yerba mate.

## INTRODUCCIÓN

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. -Hil.) es un cultivo primario en Misiones y norte de Corrientes, Argentina. Esta planta de hoja perenne fue introducida en las civilizaciones modernas por los indígenas guaraníes de Paraguay, Argentina y Brasil. Sus hojas secas son muy utilizadas en la preparación de una infusión conocida como mate (Instituto Nacional de la yerba mate (INYM, 2019)). Además de su consumo por costumbre tradicional y social, la yerba mate tiene muchos atributos beneficiosos para la salud humana (Lückemeyer *et al.*, 2012).

La superficie cultivada en Argentina es de 165.326 ha, de las cuales 144.014 se encuentran en Misiones (Instituto Nacional de la yerba mate (INYM)). En 2017, la producción fue de 689.000 t de hoja verde. Argentina es el primer productor mundial de yerba mate (54%), seguido de Brasil (40%) y Paraguay (6%). En 2019 se exportaron 39.000 t, mientras que más de 277.000 t fueron destinadas al consumo interno (INYM, 2019). Los principales países a los que se exporta este cultivo son Siria (72%), Chile (14%), Líbano (2%) y Estados Unidos (2%) (CONINAGRO, 2017).

Hasta el momento las enfermedades en plantas de yerba mate no han sido suficientemente estudiadas. Se han identificado algunas enfermedades de origen viral y fúngico (RIAN, 2011; Agostini *et al.*, 2014; Bejerman *et al.*, 2017; 2018). En los últimos años, se detectó en el norte de Misiones una alta incidencia de una enfermedad conocida como "mal de la tela" o "tizón del hilo blanco". Esta enfermedad reduce la productividad del cultivo provocando la muerte de las plantas cuando el ataque es muy severo y sin un manejo sanitario adecuado (RIAN, 2011; Lima *et al.*, 2019).

Los signos de la enfermedad incluyen cordones de micelio blanco visibles en las ramas y hojas infectadas. Las hojas enfermas se secan, pero permanecen adheridas a la planta colgando de las hifas del hongo. Se observan lesiones necróticas en las hojas afectadas; y en la superficie de las hojas severamente afectadas se puede observar el himenio. El hongo puede formar pequeños esclerocios negros en las ramas y hojas de algunas plantas hospederas (RIAN, 2011; Rybak *et al.*, 2014; De Melo *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2019).

Primeramente, Marchionatto (1948) atribuyó la enfermedad al hongo *Corticium koleroga*. Luego, en 2010 y 2014, *Rhizoctonia* spp. fue descrito como el agente causal del mal de la tela, debido a los caracteres morfológicos observados. Recientemente, Lima *et al.* (2019) determinaron mediante técnicas moleculares que el agente causal de estos síntomas en *Ilex paraguariensis* corresponde al hongo *Ceratobasidium nil-tonsouzanum*, teleomorfo de *Rhizoctonia* binucleada. Se lo ha informado como patógeno de numerosos cultivos tropicales, incluidos *Coffea arabica*, *Camellia sinensis*, *Azadirachta indica* y *Eugenia uniflora* en Brasil (De Melo *et al.*, 2018).

Es necesario continuar con los trabajos de investigación para contribuir al conocimiento de la enfermedad y el impacto que ocasiona sobre la producción.

El objetivo de este estudio fue complementar el conocimiento sobre la enfermedad mediante la descripción de síntomas y signos, hospederos, sobrevivencia, caracterización morfológica y molecular del agente de la enfermedad del "mal de la tela" y la realización de pruebas de patogenicidad para determinar el momento en que se produce la infección y el progreso de la enfermedad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Observaciones a campo y toma de muestras

Durante los años 2018/2019/2020 se colectaron hojas y tallos de yerba mate y otros hospederos con síntomas y signos de mal de la tela de los departamentos de General Manuel Belgrano, Puerto Esperanza, Eldorado, Montecarlo, Puerto Rico, El Alcázar, Dos de Mayo, Santo Pipo, San Vicente y Ruiz de Montoya de Misiones, Argentina.

Se realizó un seguimiento a campo de la enfermedad en el departamento de Montecarlo documentándose con registros periódicos todo lo observado.

### Aislamiento del hongo

Se ensayaron dos métodos para obtener el aislamiento puro del patógeno desde hojas y ramas infectadas. El primero consistió en el aislamiento directo del micelio desde las ramas y hojas afectadas en medio de cultivo nutritivo APG (Agar Papa Glucosado), previa desinfección en hipoclorito de sodio al 4% por 1 minuto, seguido de 2 lavados en agua destilada por 1 minuto cada uno y posteriormente secado del micelio en papel de filtro previamente esterilizado. Una vez transferido el micelio a la placa con APG fue puesto en estufa a 25 °C. El segundo método consistió en pegar, con vaselina sólida, en la parte interna de la tapa de la placa de APG una hoja de yerba mate que contenía el micelio del hongo, con el pedicelo de la hoja, muy próximo al medio de cultivo. Se incubó a 25 °C y se observó cada 24 h hasta que el micelio que estaba sobre la hoja empezó a crecer en dirección al medio de cultivo y entró en contacto con él. Luego, se realizó un aislamiento de punta de hifa en una placa con APG nueva. Transcurridas 24 h se realizó un preparado sobre portaobjeto con colorante azul de algodón y ácido láctico (1:600 wt/vol) donde se colocó una sección de la punta de hifa del micelio creciendo en el medio para ser observado con microscopio binocular.

### Identificación del patógeno

#### Caracterización morfológica

Para la caracterización morfológica se utilizaron cultivos puros y se observaron características tales como color, patrón y tasa de crecimiento de la colonia. El color de las colonias

se determinó a los 6 y 10 días visualmente. De esta misma forma se estableció el patrón de crecimiento (escaso, moderado o abundante) que presentaron las hifas en el medio de cultivo. Se midieron un total de 3 repeticiones por aislamiento para determinar el crecimiento diario de las colonias (mm) durante 6 días a 25 °C. Se realizaron preparados microscópicos desde punta de hifa de micelios creciendo sobre APG de 48 h de edad. Se registró el tipo de septo, la constricción, el ángulo de ramificación de los micelios y la formación de basidios y basidiosporas.

### Caracterización molecular

El ADN se extrajo a partir de cultivos puros del micelio del hongo macerado con nitrógeno líquido con un kit comercial (PURO Fungi PB-L Productos Bio-Lógicos) según las instrucciones del fabricante. La PCR (reacción en cadena de la polimerasa, polymerase chain reaction por sus siglas del inglés) se llevó a cabo utilizando los cebadores ITS-1 e ITS-4 para un fragmento de ADN ribosómico (White *et al.*, 1990). La mezcla de reacción de PCR (25 µl) contenía: 2 µl de ADN, 2,5 U de ADN polimerasa Taq Platinum (PB-L Productos Bio-Lógicos), 2,5 µl de 10X Taq Buffer II, 1,5 µl de MgCl<sub>2</sub> 25 mM, 2,5 µl de dNTPs 10 mM, 1,5 µl de cada cebador 10 mM y 12,5 µl de agua de grado molecular. La amplificación se realizó con un paso inicial de desnaturalización a 94 °C por 4 minutos, seguido de 35 ciclos consistentes en desnaturalización a 94 °C por 2 minutos, annealing a 56 °C por 30 segundos y extensión a 72 °C por 60 segundos y una extensión final de 72 °C por 5 minutos. Los productos de PCR se purificaron con el kit PURO Gel Extraction (PB-L Productos Bio-Lógicos) siguiendo las instrucciones del fabricante y se enviaron para su secuenciación a la Unidad Genómica, Instituto de Biotecnología, INTA, siguiendo el método de terminación de cadena de dideoxinucleótidos con el ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Reaction kit (Applied Biosystems Group) según las instrucciones del fabricante en un secuenciador automatizado ABI PRISM1 3130 (Applied Biosystems Group). La secuenciación se realizó con los cebadores directo e inverso de la PCR. Las secuencias de nucleótidos se depositaron en GenBank con los números de acceso: MN829448, MN829449, ON041143 y ON041144.

### Análisis filogenéticos

Las secuencias de nucleótidos obtenidas en este estudio junto con secuencias obtenidas en el Genbank se analizaron y alinearon con el programa BioEdit 7.0.5.3. sequence Alignment Editor (Hall, 1999). Se calculó el modelo de sustitución nucleotídica utilizando el software MEGAX (Kumar *et al.*, 2018). Se llevaron a cabo dos métodos diferentes para la construcción del árbol filogenético. Para el análisis de distancias se utilizó el método de Neighbor-Joining usando MEGAX software (1000 bootstrap replicates) (Kumar *et al.*, 2018). El análisis de inferencia bayesiana se realizó utilizando el software MrBayes (Huelsenbeck y Ronquist 2001; Ronquist *et al.*, 2012). Los árboles fueron editados con el programa Figtree (Rambaut, 2010).

### Test de patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad se realizaron utilizando cultivos puros obtenidos mediante la transferencia de puntas de hifas fúngicas a placas que contenían APG. Se utilizaron plantines de

yerba mate de un año de edad provenientes de viveros comerciales y se cultivaron bajo condiciones controladas en invernadero. El método de inoculación consistió en colocar sobre el tallo del plantín de yerba mate un bloque de agar de 1 cm x 1 cm, donde previamente creció el hongo, envuelto en un algodón empapado en agua destilada estéril. Luego, con el algodón se cubrió el tallo y se envolvió con un film transparente para mantener la humedad. Se roció el plantín con agua destilada estéril y se cubrió con una bolsa de plástico transparente durante el tiempo en que se llevaron a cabo las observaciones. Las plantas fueron mantenidas a temperatura ambiente. Se utilizaron un total de 6 plantas, 3 inoculadas con el patógeno y 3 inoculadas con APG sin crecimiento de micelio como control negativo. Las observaciones se realizaron a los 5, 9, 12 y 19 días posinoculación.

## RESULTADOS

### Descripción de los síntomas y signos de la enfermedad

Los primeros síntomas fueron observados en la brotación de primavera en brotes de aproximadamente 20 cm de largo sobre ramas que presentaban restos de rizomorfos y esclerocios del hongo de la temporada anterior. Los síntomas inician en ramas verdes jóvenes provocando una necrosis de los tejidos corticales y finalmente la muerte de la rama. Se observa una pérdida de brillo natural en el lado abaxial de las hojas infectadas. El tejido recién infectado tiene una apariencia grasosa debido a la ruptura de las células en las hojas. Luego, las hojas infectadas se vuelven de color marrón claro y a medida que avanza la enfermedad se oscurecen. Las hojas muertas quedan colgadas de las ramas por las hifas del hongo que forman cordones miceliales (rizomorfos) dando el nombre a la enfermedad. El patógeno progresa infectando otras ramas de la misma planta por contacto directo. El avance de la enfermedad se ve favorecido por el contacto estrecho que se produce en plantaciones de altas densidades debido a la baja circulación de aire y alta humedad.

El progreso de la enfermedad requiere de una humedad relativa alta (superior al 85%), temperaturas de alrededor de 25 °C y mojado constante de las hojas. Cuando las condiciones ambientales no son favorables el patógeno forma estructuras de resistencia, conocidas como esclerocios, de color blanquecino que, con el tiempo, se vuelven pardas oscuras (figura 1.A-G).

Los primeros síntomas se observan en plantas que se encuentran en los bordes de los lotes lindantes con plantaciones forestales o nativas. Síntomas similares fueron observados en plantas que se encuentran creciendo en asociación con la yerba, como ser: loro negro (*Cordia trichotoma*), canela de venado (*Helietta apiculata*), palo pólvora (*Trema micrantha*), lapacho negro (*Handroanthus heptaphyllus*), laurel guayca (*Ocotea puberula*), isapuy para (*Machaerium paraguayensis*) y en árboles frutales como los cítricos (*Citrus reticulata*) y lianas perennes (*Dicella nucifera*) que se encontraban creciendo sobre las plantas de yerba mate afectadas por este hongo.

Esta enfermedad se distribuye actualmente en los departamentos: General Manuel Belgrano, Puerto Esperanza, Eldorado, Montecarlo, Caraguataí, El Alcázar, Dos de Mayo, San Vicente Puerto Rico, Jardín América, Santo Pipó y Oberá; sin embargo, en estas últimas áreas tiene una incidencia menor que en los lotes ubicados al norte de la provincia de Misiones.

## Características culturales y morfológicas

De los dos métodos que se probaron para el aislamiento del hongo, se obtuvieron mejores resultados pegando las hojas de yerba infectadas con el micelio del hongo en la tapa de la caja de Petri porque hubo menos contaminación con otros microorganismos. Este método permitió obtener puntas de hifas fúngicas puras de diferentes localidades de Misiones (tabla 1). Además, se observaron estructuras sexuales, como basidios con formación de basidiosporas.

Las colonias crecieron rápidamente en el medio APG. Al principio, las colonias son de color blanco y luego se tornan de color crema a marrón claro (tabla 1). La caracterización microscópica se realizó con un aislado puro. El micelio presentaba ramificaciones cerca del tabique distal de las células hifales en ángulo recto, en hifas viejas, con producción de células moniloides. El ángulo de ramificación característico del micelio se observó en un total de 20 aislamientos bajo un microscopio binocular. Esta caracterización morfológica es consistente con miembros del hongo del género *Rhizoctonia* (figura 2. A-F).

El crecimiento lineal diario del hongo de cada aislamiento se midió por triplicado luego de 6 días de realizado el repique. Las cajas de Petri con APG se mantuvieron en oscuridad a 25 °C.

## Caracterización molecular y análisis filogenético

Se amplificaron por PCR cuatro muestras (R2\_Ilex, R3\_Ilex, R12\_Canela y R13\_Ilex) de una región del fragmento ribosómico ITS. La cepa R12\_Canela fue aislada desde un hospedero nativo conocido como canela de venado (*Helietta apiculata*). Se construyeron árboles filogenéticos por los métodos de inferencia bayesiana y distancias genéticas utilizando las secuencias obtenidas en este estudio junto con secuencias obtenidas del GenBank. Los árboles obtenidos por ambas metodologías fueron similares (datos no mostrados). En la figura 3 se muestra el árbol obtenido mediante inferencia bayesiana. Los aislamientos fúngicos analizados en este estudio agruparon con *C. niltonsouzanum* aislado de plantas tropicales de Brasil y con cepas aisladas de *I. paraguariensis* de Argentina (figura 3). En

todos los casos se determinó que el agente causal fue *Ceratobasidium* sp., que pertenece a uno de los estadios teleomórficos de *Rhizoctonia* binucleada.

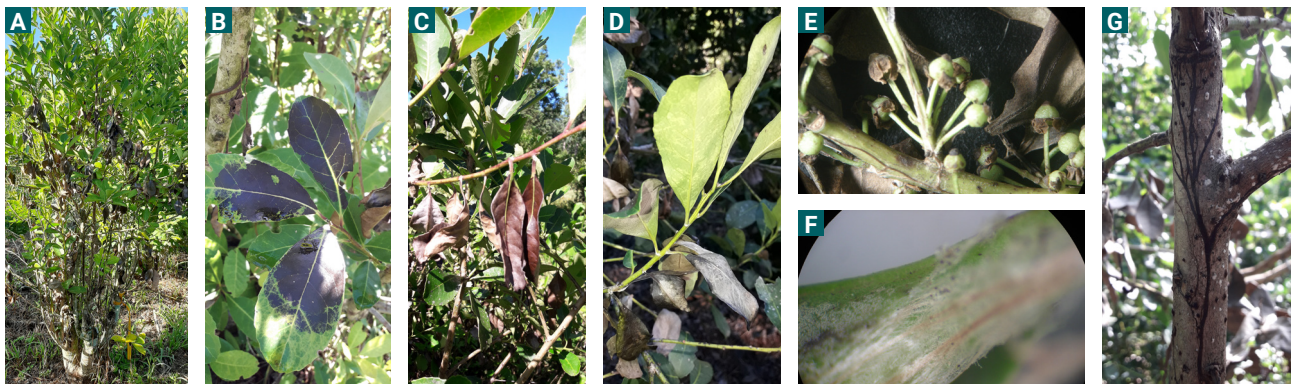
## Test de patogenicidad

A partir de los 9 días desde la inoculación de las plantas se observó la formación de micelio sobre el tallo de las plantas de yerba mate, creciendo en sentido superior e inferior desde el punto de inoculación. Luego de 19 días posinoculación, se observaron hojas necróticas colgando de las ramitas por las hifas del hongo que formaron los cordones de micelio (rizomorfos). Los síntomas producidos por la cepa aislada en la prueba de patogenicidad fueron idénticos a los observados en las plantas infectadas en campo. Los reaislamientos de las hifas obtenidas de las plantas analizadas se confirmaron mediante caracterización molecular y morfológica. A partir de estos estudios se confirmó que el agente causal de la enfermedad de mal de la tela en yerba mate fue *Ceratobasidium niltonsouzanum* comprobando así los postulados de Koch (figura 4). La cepa R2\_Ilex\_paraguariensis se utilizó para la inoculación y la cepa R3\_Ilex\_paraguariensis se obtuvo de las plantas infectadas utilizadas en la prueba de patogenicidad. Ambas cepas fueron secuenciadas, lo que confirmó que el agente causal es *C. niltonsouzanum*.

## DISCUSIÓN

El mal de la tela es una enfermedad que se conoce en la yerba mate en el norte de la provincia de Misiones, Argentina, desde el siglo pasado (Marchionatto, 1948). Pero hasta el momento no se habían realizado estudios del agente causal y sus consecuencias en la producción.

Un estudio anterior reportó que el agente causal asociado a esta enfermedad en los árboles de yerba mate era *Corticium koleraga* (Marchionatto, 1948). Otros estudios han descripto a *Rhizoctonia* sp. como el agente causal del mal de la tela debido a las características morfológicas observadas (RIAN, 2011; Rybak et al., 2014). Lima et al. (2019) determinaron que el causante de esta sintomatología es *C. niltonsouzanum* pertene-



**Figura 1.** A) Sintomatología observada en plantas afectadas por *C. niltonsouzanum*, los primeros síntomas comienzan en la parte media de la copa, en los brotes internos. B) A medida que el hongo penetra en el tejido las hojas se vuelven negras. C) Las hojas secas quedan unidas al tallo por el micelio del hongo. D) El envés de las hojas pierde su brillo natural. E) Formación de micelio en tallos y frutos. F) A medida que avanza la enfermedad el micelio cambia de un color blanquecino a marrón oscuro. G) Formación de esclerocios en tallos cuando las condiciones ambientales son desfavorables para el desarrollo de la enfermedad. Elaborado para la presente edición.

Localidad de muestreo	Identificación	Características del micelio		
		Ratio de crecimiento (mm/día) <sup>a</sup>	Ángulo de ramificación a 90°	Constricción en ramificación
General Manuel Belgrano	R1_Ilex	4,51	Sí	Presente
	R12_Canela	3,45	Sí	Presente
	R13_Ilex	-	Sí	Presente
Montecarlo	R2_Ilex	4,45	Sí	Presente
	R3_Ilex	3,44	Sí	Presente
	R4_Ilex	3,05	Sí	Presente
	R5_Ilex	3,78	Sí	Presente
	R6_Ilex	5,08	Sí	Presente
	R7_Ilex	4,4	Sí	Presente
	R8_Ilex	5,65	Sí	Presente
	R9_Ilex	5	Sí	Presente
	R10_Ilex	4,25	Sí	Presente
	Puerto Esperanza	R11_Ilex	5,34	Sí

Tabla 1. Origen y número de aislamientos de *C. niltonsouzanum* por localidad de muestreo. Características morfológicas de los aislados en medio APG. Se identifica número de aislamiento y hospedero del cual fue aislado. Elaborado para la presente edición. <sup>a</sup> Media de 3 repeticiones.

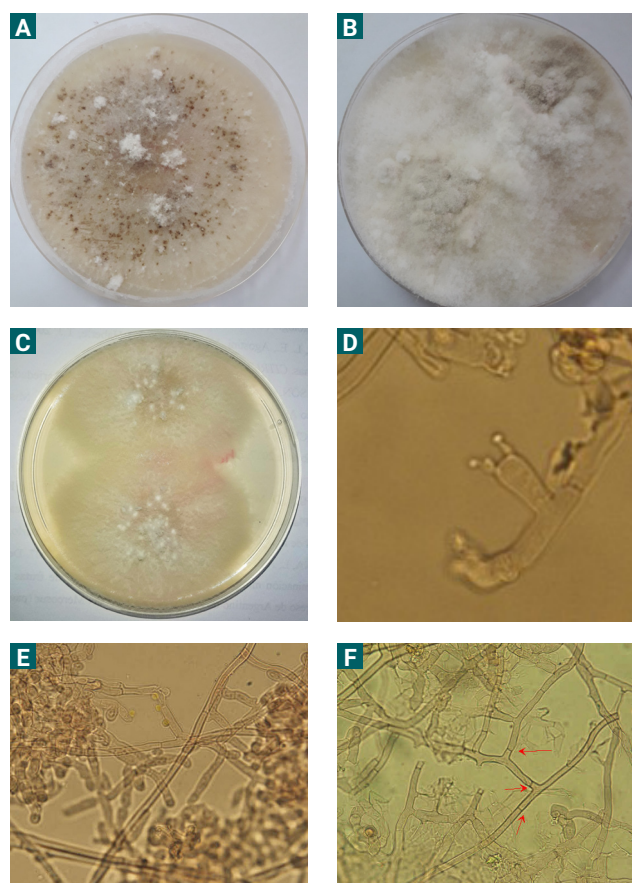


Figura 2. A) Colonia de 10 días creciendo en oscuridad a 25 °C. B) Colonia de 25 días creciendo en oscuridad a 25 °C. C) Colonia de 3 días obtenida de plantas inoculadas en condiciones ambientales controladas. D) Formación de basidios luego de un día en cámara húmeda con ambiente saturado. E) Células moniliales observadas a microscopio óptico a 40X. F) Ramificación de hifas en ángulo de 90°. Elaborado para la presente edición.

ciente al género binucleado *Rhizoctonia*. *C. niltonsouzanum* se describió por primera vez como el agente patológico del tizón del hilo blanco en las plantas de neem (*Azadirachta indica* A. Juss), pitanga (*Eugenia uniflora* L.) y té (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) en Brasil (De Melo et al., 2018). Los signos de la enfermedad incluían cordones visibles de micelio blanco que se formaban en las ramas y hojas infectadas mostrando lesiones necróticas en las hojas afectadas. En hojas muy afectadas se pudo observar al hongo colonizándolas. El hongo forma pequeños esclerocios en las ramas y hojas de algunos hospedantes. En este trabajo se observaron los mismos síntomas en cultivos de yerba mate descritos por Melo et al. (2018).

El número nuclear de las hifas celulares permite identificar entre una *Rhizoctonia* multinucleada, cuyos teleomorfos pertenecen al género *Thanatephorus*; o *Rhizoctonia* binucleada cuyos teleomorfos pertenecen al género *Ceratobasidium* (González García et al., 2006). En este estudio, el número nuclear de las hifas celulares no se pudo determinar, quizás debido a la resolución del microscopio. A pesar de ello, otras caracterizaciones morfológicas y moleculares permitieron la identificación y detección del agente causal de la enfermedad del mal de la tela. Uno de ellos fue la presencia y detección de estructuras sexuales como basidios y basidiosporas, que son características significativas para la identificación de especies. Este hallazgo junto con los estudios moleculares y filogenéticos obtenidos en este trabajo permitieron determinar que estos aislados pertenecen al género *Ceratobasidium*, el cual es un basidiomiceto cuya fase anamórfica es una especie binucleada de *Rhizoctonia* (Stalpers and Andersen, 1998).

La yerba mate presenta un patrón de brotación con 3 picos bien definidos a lo largo de toda la campaña, estos se dan en primavera, verano y otoño (Sansberro et al., 2000). Estos 3 períodos de brotación proporcionan material susceptible disponible para el ataque de este patógeno siempre y cuando las condiciones ambientales sean favorables para su desarrollo.

Cuando las condiciones ambientales no son favorables para su desarrollo *C. niltonsouzanum* forma estructuras denomi-

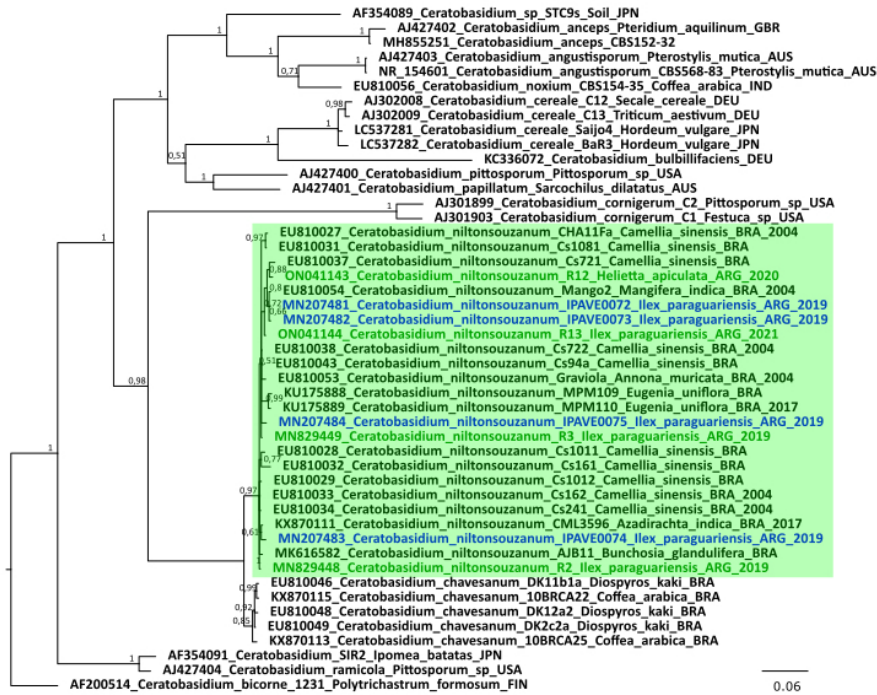


Figura 3. Árbol filogenético obtenido mediante Inferencia Bayesiana a partir de las secuencias de la región del espaciador transcrito interno (ITS). Los valores de probabilidad posterior bayesiana se muestran en los nodos. Las secuencias de *C. niltonsouzanum* de este estudio están en verde y otras secuencias de Argentina en yerba mate en azul. Elaborado para la presente edición.

nadas esclerocios sobre el tallo de las plantas afectadas. Tal como lo explica Agrios (2004), existen patógenos cuyo desarrollo y esporulación, así como la producción de los síntomas que ocasionan, se inhiben tan pronto como llegan los climas cálidos y secos y solo vuelven a reanudarse hasta que llueve o después de que retorna el tiempo húmedo. Ensayos realizados en laboratorio demostraron que, si no se les aplica humedad constante a las plantas inoculadas, el progreso de la enfermedad se detiene y no prospera.

La escasa información disponible sobre el manejo de la enfermedad en las plantaciones de yerba mate favoreció su disseminación a diferentes localidades de Misiones y tal vez a otras regiones productoras.

La proximidad de los cultivos de yerba mate con plantaciones nativas permite inferir que proviene de otros hospederos que se encuentran en estas zonas. Tal afirmación se debe a que las primeras observaciones de plantas infectadas se encuentran en los bordes, lindantes a las plantaciones de especies nativas donde según la orientación de las plantaciones puede contar con sombra y humedad durante largos períodos. De la misma manera, en Brasil, Siviero *et al.* (2019) informaron que el patógeno *Rhizoctonia solani* que causa el tizón foliar en la yuca (*Manihot sculenta*), el cual es un cultivo importante en la región, proviene de otros huéspedes que se encuentran en los ecosistemas forestales circundantes. Los resultados obtenidos en este trabajo contribuyen al conocimiento de un problema fitosanitario en el cultivo de yerba mate que se viene observando desde hace años en la región, el cual se está expandiendo hacia otras zonas y posiblemente a otros cultivos debido a la diversidad de hospederos sobre la cual fue observada. Los resultados obtenidos brindan herramientas para la búsqueda de alternativas de manejo para disminuir

la incidencia de la enfermedad en las parcelas afectadas. Se necesitan más estudios para una comprensión más completa del patosistema.

## AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por INTA, PDI090, Análisis de patosistemas en los principales cultivos agrícolas y caracterización de sus componentes.

## BIBLIOGRAFÍA

AGOSTINI, J.P.; DE BREUIL, S.; DUMMEL, D.M.; CANOVAS, S.; GIOLITTI, F.; KORNOWSKI, M.V.; NOME, C. 2014. Evidencias de infección viral en plantas de Ilex paraguayensis. Ciencia y Tecnología de los Cultivos Industriales (4), 17-21.

BEJERMAN, N.; DE BREUIL, S.; DEBAT, H.; MIRETTI, M.; BADARACCO, A.; NOME, C. 2017. Molecular characterization of yerba mate chlorosis-associated virus, a putative cytorhabdovirus infecting yerba mate (*Ilex paraguayensis*). Arch Virol 162:2481-2484. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3363-8>

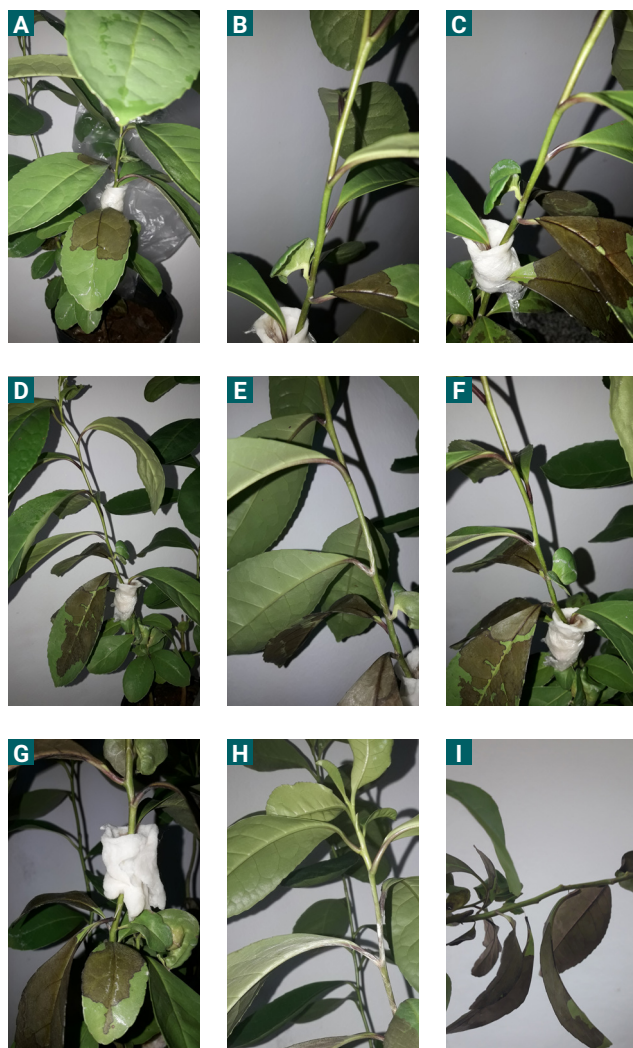
BEJERMAN, N.; DE BREUIL, S.; NOME, C. 2018. Identification and molecular characterization of a novel circular single-stranded DNA virus associated with yerba mate in Argentina. Arch Virol 163:2811-2815. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3910-y>

CONINAGRO. 2017. Yerba mate.

DE MELO, M.P.; MATOS, K.S.; MOREIRA, S.I.; DA SILVA, F.F.; CONCEIÇÃO, G.H.; NECHET, K.; HALFELD-VIEIRA, B.A.; BESERRA JÚNIOR, J.E.A.; VENTURA, J.A.; COSTA, H.; FURTADO, E.L.; ALVES, E.; CERESINI, P.C. 2018. Two new *Ceratobasidium* species causing white thread blight on tropical plants in Brazil. Trop Plant Pathol 43:559-571. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0237-x>

GONZÁLEZ GARCÍA, V.; PORTAL ONCO, M.A.; RUBIO, S.V. 2006. Review. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. Spanish J Agric Res 4:55-79. <https://doi.org/10.5424/sjar/2006041-178>

HALL, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT Nucleic Acids Symp. Ser. 41:9598 pp. <https://doi.org/citeulike-article-id:691774>



**Figura 4.** Planta de yerba mate inoculada con *C. niltonsouzanum* obtenida del aislamiento de la punta de la hifa. A, B, C) 12 días después de la inoculación, en la imagen A se puede observar el inicio de la infección. D, E, F) 16 días después de la inoculación, imagen E formación de micelio en hojas superiores; F formación de micelio en la axila de la hoja. G, H, I) 19 días después de la inoculación, la imagen H muestra el desarrollo del micelio en el tallo y el pedicelo de la hoja; la imagen I muestra hojas desprendidas que cuelgan del micelio del hongo. Elaborado para la presente edición.

HUELSENBECK, J.P.; RONQUIST, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. Yang and Rannala.

INYM. 2019. Informe del Sector Yerbatero. 1-17.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Mol Biol Evol 35:1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>

LIMA, N.B.; KRYVENKI, M.A.; CONFORTO, C.; SERRI, D.; KRAMER, R.; ROCA, M.; VARGAS-GIL, S. 2019. First Report of White Thread Blight caused by *Ceratobasidium niltonsouzanum* on Yerba Mate in Argentina. Plant Dis 2-5.

LÜCKEMEYER, D.D.; MÜLLER, V.D.M.; MORITZ, M.I.G.; SCHENKEL, E.P.; BARARDI, C.R.M.; REGINATTO, F.H.; SIMÕES, C.M.O. 2012. Effects of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (yerba mate) on herpes simplex virus types 1 and 2 replication. Phyther Res 26:535-540. <https://doi.org/10.1002/ptr.3590>

MARCHIONATTO, J.B. 1948. Tratado de Fitopatología. Ediciones Libr. del Colegio, Buenos Aires 537.

RAMBAUT, A. 2010. FigTree v1.3.1. Inst. Biol. Evol. Univ. Edimburgo, Edimburgo.

RIAN. 2011. Yerba mate. Manual de campo. (Disponible: <https://inta.gob.ar/documentos/yerba-mate-manual-de-campo> verificado: 04 de febrero de 2020).

RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DER MARK, P.; AYRES, D.L.; DARLING, A.; HÖHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M.A.; HUELSENBECK, J.P. 2012. Mrbayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Syst Biol 61:539-542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

RYBAK, M.; RYBAK, R.; CABRERA, M.G.; ALVAREZ, R.E. 2014. Enfermedades de la yerba mate. Miscelanea N.º 66. Estación Experimental Cerro Azul, INTA. (Disponible: [https://baunne.unne.edu.ar/documentos/ENFERMEDADES\\_YERBAMATE\\_TE.pdf](https://baunne.unne.edu.ar/documentos/ENFERMEDADES_YERBAMATE_TE.pdf) verificado: 05 de febrero de 2020).

SIVIERO, A.; DE MACEDO, P.E.F.; MOREIRA, G.T.S.; NECHET, K.; Coelho, R.M.S.; HALFELD-VIEIRA, B.A. 2019. First report of cassava leaf blight caused by *Rhizoctonia solani* AG-1 IA. Australas Plant Dis Notes 14:1-3. <https://doi.org/10.1007/s13314-019-0356-3>

STALPERS, J.A.; ANDERSEN, T.F. 1998. A Synopsis of the Taxonomy of Teleomorphs connected with *Rhizoctonia* S.L. En: SNEH, B.; JABAJI, S.; NEATE, S.M. (eds.). *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Springer, 49-63 pp. WHITE, T.J.; BRUNS, T.D.; LEE, S.B.; TAYLOR, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. PCR - Protocols and Applications- A Laboratory Manual. Academic Press. 315-322 pp. (Disponible: [https://www.researchgate.net/publication/223397588\\_White\\_T\\_J\\_T\\_D\\_bBrunns\\_S\\_B\\_Lee\\_and\\_J\\_W\\_Taylor\\_Amplification\\_and\\_direct\\_sequencing\\_of\\_fungal\\_ribosomal\\_RNA\\_Genes\\_for\\_phylogenetics](https://www.researchgate.net/publication/223397588_White_T_J_T_D_bBrunns_S_B_Lee_and_J_W_Taylor_Amplification_and_direct_sequencing_of_fungal_ribosomal_RNA_Genes_for_phylogenetics) verificado: 05 de febrero de 2020).