

Identificación y caracterización de una especie del género *Alternaria* aislada de semillas de coriandro (*Coriandrum sativum*) procedentes del norte de Buenos Aires

Velázquez, P.D.

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Paraná, Grupo Factores Bióticos y Protección Vegetal.
Correo electrónico: velazquez.pablo@inta.gob.ar

Introducción

El coriandro (*Coriandrum sativum* L.), conocido también como cilantro o culantro, es una especie herbácea anual de cultivo invierno-primaveral perteneciente a la familia *Apiaceae*. Los frutos secos (aquenios) se emplean enteros o molidos en la industria alimentaria mientras que su aceite esencial se destina a la fabricación de cosméticos y a la perfumería. Además, sus hojas frescas o deshidratadas son muy empleadas en el arte culinario (Curioni *et al.*, 1995).

En Argentina, las condiciones agroecológicas permitieron su desarrollo al insertarse en las rotaciones agrícolas de la región pampeana húmeda y subhúmeda como alternativa del cultivo de trigo y por ende, en el doble cultivo coriandro-soja (Arizio y Curioni, 2011). Nuestro país es un importante productor y exportador de América del Sur de coriandro tipo marroquí. Actualmente, su producción se concentra en las provincias de Santa Fe, Córdoba, Buenos Aires y Entre Ríos. La superficie sembrada a nivel nacional durante el año 2014 fue de 5.000 ha, mientras que en 2015 se incrementó a unas 15.000 ha (Paunero, comunicación personal). Los ensayos realizados en Entre Ríos demostraron que el coriandro es un cultivo promisorio, principalmente en el oeste de la provincia (Zapata y Müller, 2008).

Las condiciones climáticas que ocurren en cada campaña, principalmente durante el período de formación de la semilla hasta la cosecha de un cultivo, influyen en la calidad sanitaria de esta. Las lluvias abundantes durante dicho período pueden favorecer una mayor incidencia de hongos potencialmente patógenos en la semilla, como por ejemplo las especies del género *Alternaria*. Entre las especies patógenas citadas en semillas de apiáceas cultivadas se destacan por su efecto negativo sobre la germinación y el desarrollo de plántulas, *A. alternata* (Fr.) Keissl., *A. dauci* (J.G. Kühn) J.W. Groves & Skolko, *A. petroselini* (Neerg.) E.G. Simmons y *A. radicina* Meier, Drechsler & E.D. Eddy (Bulajić *et al.*, 2009; Pavlovic *et al.*, 2014).

A fines de julio de 2016, en el Laboratorio de Patología Vegetal de la EEA Paraná del INTA, se recibió una muestra de semilla de coriandro proveniente de un lote de producción del partido de San Pedro (norte de la provincia de Buenos Aires). Los análisis preliminares realizados para identificar posibles hongos patógenos (cámaras húmedas) permitieron detectar una especie del género *Alternaria* que se caracterizó por el gran tamaño de sus conidios y por estar presente en un elevado porcentaje en la muestra.

Los objetivos del trabajo fueron identificar y caracterizar una especie del género *Alternaria* hallada sobre semillas de coriandro procedentes del norte de la provincia de Buenos Aires.

Materiales y métodos

Se trabajó con una muestra de semilla de coriandro cosechada de un lote de producción situado en el partido de San Pedro, provincia de Buenos Aires.

Análisis de la muestra

La muestra de semilla se analizó con el método del papel de filtro humedecido o *blotter test*, sin desinfectar.

ción previa y con restricción hídrica. Se utilizaron 200 semillas que se distribuyeron en cuatro bandejas de polipropileno de 27 cm x 18,6 cm x 4,8 cm, a razón de 50 semillas cada una, que contenían 9 g de algodón y una hoja de papel de cocina estéril humedecido con 30 mL de una solución de cloruro de sodio (11,8 g.L⁻¹). La incubación de las bandejas se realizó en cámara de cría a 26±2 °C, con 12 h de luz fluorescente y 12 h de oscuridad. A los 7 días, las muestras se examinaron con microscopio estereoscópico y se calculó la incidencia (%) de semillas afectadas por el hongo. Para la identificación del hongo a nivel de especie se consultó la bibliografía disponible (Simmons, 2007; Lopes y Martins, 2008).

Aislamientos

Los aislamientos del hongo se obtuvieron a partir de la siembra de conidios en cajas de Petri de 9 cm de diámetro que contenían el medio de cultivo agar papa glucosado 2 % acidificado (APG Ac) con ácido láctico al 25 % (pH=5,5). Las cajas se incubaron en cámara de cría bajo las mismas condiciones que las empleadas para las bandejas con semillas. Luego de sucesivos repiques, las colonias purificadas se emplearon en la prueba de patogenicidad.

Prueba de patogenicidad

Con la finalidad de cumplir con los postulados de Koch se inocularon plántulas sanas de coriandro de 22 días de edad (estado de 1 a 2 hojas verdaderas) crecidas en invernáculo. Estas se obtuvieron a partir de la siembra de semillas tratadas con un fungicida (carbendazim 30 % más thiram 30 %), colocando diez semillas por maceta (cuatro macetas por tratamiento) con una mezcla de tierra fértil y perlita en una proporción 1:1. Como fuente de inóculo se utilizó una suspensión de conidios que se obtuvo a partir del lavado superficial con agua destilada estéril de colonias de 14 días de edad, ajustándose a una concentración aproximada de 5.10⁴ conidios.mL⁻¹. La inoculación se realizó con un pincel Proarte® N.º 5 mojando con la solución de conidios a todos los folíolos de cada plántula. En el tratamiento testigo se aplicó solamente agua destilada estéril. Posteriormente, cada maceta se cubrió con una bolsa de polietileno ligeramente humedecida en su interior y se llevó a cámara de cría bajo las mismas condiciones que las utilizadas para el crecimiento de las colonias del hongo. Se calculó la incidencia como porcentaje (%) de plántulas enfermas. A los cuatro días, las plántulas se extrajeron, se lavaron en agua corriente y se colocaron en condiciones de cámara húmeda para favorecer el desarrollo del hongo.

Resultados y discusión

En el 73 % de las semillas analizadas se observó una abundante producción de conidióforos simples o ligeramente ramificados que surgían aislados o en pequeños grupos, con conidios castaño-oscuros, solitarios, rectos o curvos, obclavados (Figura 1), con un cuerpo de 51,2 a 97,3 µm de largo y 11,3 a 17,8 µm de ancho (N=30), seis a once tabiques transversales y hasta tres tabiques longitudinales, así como un pico o apéndice filamentosos, flexuoso, hialino, de 68,3 a 276,5 µm de longitud, a veces ramificado (Figura 2). De acuerdo a las características morfométricas, el hongo identificado fue *A. dauci*, agente causal del tizón de las hojas en coriandro y zanahoria (*Daucus carota* L.), enfermedad también conocida como *Alternaria leaf blight o queima das folhas* (Reis et al., 2006).

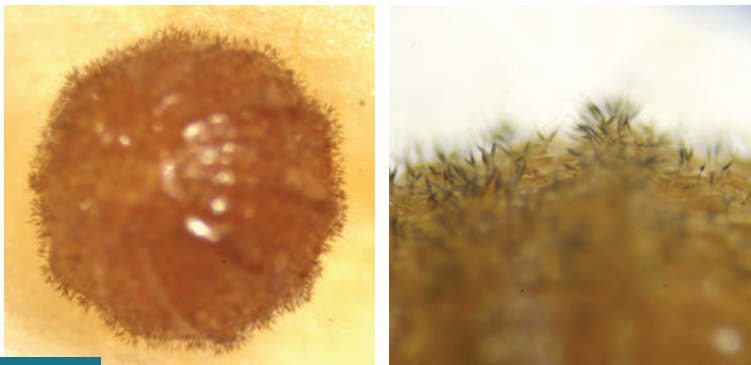


Figura 1. Conidióforos y conidios de *Alternaria dauci* sobre semilla de coriandro.

A. dauci es un patógeno que afecta negativamente la calidad de la semilla y el normal desarrollo de la plántula (Bulajić *et al.*, 2009; Pedroso *et al.*, 2013). En Brasil es importante en el cultivo de coriandro y se lo encuentra asociado a otras especies del mismo género, principalmente *A. alternata*.



Figura 2. Conidios de *A. dauci* con pico simple (flecha azul) o ramificado (flecha roja).

En el medio de cultivo el hongo produjo colonias verde-oliváceas, con anillos concéntricos (Figura 3A), micelio semiinmerso, hifas tabicadas, ramificadas y castaño-claras. Los conidios, extraídos de colonias de 12 días de edad, presentaron una coloración castaño-clará, brillante, con un cuerpo de 37,2 a 92,8 μm de largo por 16,0-25,6 μm de ancho ($N = 30$), tres a ocho tabiques transversales y hasta dos tabiques longitudinales, además de un pico de 51,2 a 176,0 μm de longitud, sin ramificaciones (Figura 3B).

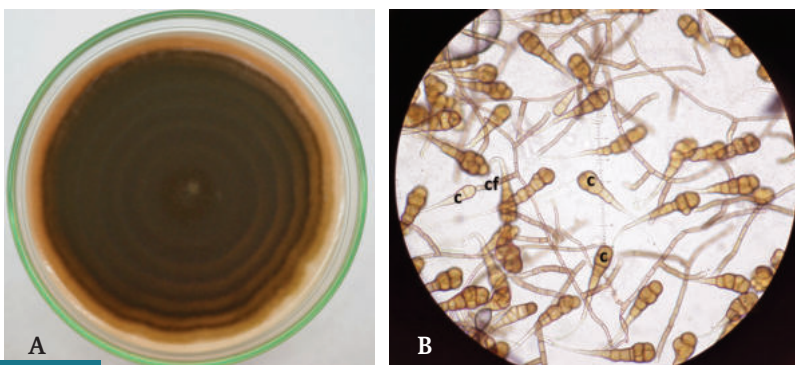


Figura 3. A. Colonia de *A. dauci* de 12 días de edad. B. Conidióforos (cf) y conidios (c) de *A. dauci*.

La mayoría de las plántulas que se inocularon mostraron un marchitamiento generalizado; el conjunto tomó un aspecto atizonado o quemado (Figura 4). Tanto las hojas cotiledonares como las verdaderas

presentaron áreas castaño-claras o castaño-oscuros, de aspecto húmedo, y que llegaron a abarcar en su totalidad a la lámina y hasta pecíolos y tallos. Las plántulas enfermas extraídas de las macetas permitieron observar con mayor detalle los síntomas y las diferencias con las sanas (Figura 5). Con el transcurso del tiempo se observó el retorcimiento de plántulas acompañado con un abundante desarrollo de micelio blanquecino a grisáceo (signo de la enfermedad) (Figura 6). Las observaciones que se realizaron a los tejidos enfermos de estas plantas inoculadas permitieron identificar nuevamente a *A. dauci*, principalmente en los márgenes de las hojas.



Figura 4. A. Plántulas inoculadas con *A. dauci*. B. Plántulas no inoculadas.



Figura 5. A. Plántulas no inoculadas. B. Plántulas inoculadas.



Figura 6. Plántulas con tizón ocasionado por *A. dauci* con abundante desarrollo de micelio.

El hongo sobrevive en los restos de cultivos susceptibles, sobre plantas voluntarias (guachas) y en malezas apiáceas, donde produce los conidios (principal fuente de inóculo) bajo condiciones de elevada humedad relativa (entre 96 y 100 %) o presencia de agua libre y en un rango amplio de temperaturas (entre 8 y 28 °C, con un óptimo de 25 °C). Estos son fácilmente transportados por el viento cuando la humedad relativa decrece poco después de la luz del día. El ciclo completo de la enfermedad, desde la infección hasta la esporulación requiere de 8 a 10 días (Koike *et al.*, 2007).

Las semillas contaminadas, además de actuar como una fuente de inóculo primario en nuevos lotes o nuevas zonas del cultivo, pueden ocasionar importantes pérdidas económicas. Por esta razón, el análisis sanitario de la semilla es una herramienta muy útil que permite disminuir riesgos y generar aumentos de la productividad. En zanahoria, el hongo puede mantenerse viable en la semilla hasta seis años, siendo esta una importante forma de sobrevivencia hasta la implantación de un nuevo cultivo y el reinicio del ciclo de la enfermedad.

Por una parte, además del empleo de semilla “sana”, el manejo de la enfermedad debería complementarse con la siembra de cultivares resistentes o de buen comportamiento, la diversificación de cultivos y la rotación con especies botánicas no emparentadas, así como la optimización de las técnicas de cosecha y almacenamiento. Por otra parte, debido a que *A. dauci* generalmente se localiza en el embrión y/o en el endosperma de la semilla, los tratamientos con fungicidas curasemillas pueden llegar a ser poco eficaces. En tal sentido, los productos protectores no llegan hasta su objetivo, incluso productos sistémicos pueden presentar dificultades para llegar al embrión en una concentración suficiente para eliminar el patógeno (Reis *et al.*, 2006). En el futuro serán necesarios estudios para evaluar la eficacia de tratamientos con fungicidas curasemillas para el control del patógeno.

Conclusiones

Se determinó la presencia de *Alternaria dauci* en semillas de coriandro provenientes del norte de la provincia de Buenos Aires. Mediante inoculaciones artificiales se demostró que el hongo causó tizón en plántulas de coriandro. La presencia de este patógeno en la semilla tendría implicancias en la dispersión de la enfermedad hacia nuevos lotes o nuevas zonas de cultivo.

Bibliografía

- ARIZIO, O.; CURIONI, A. 2011. Mercado mundial y regional del coriandro (*Coriandrum sativum* L.). Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas 5(2):263-278.
- BULAJIĆ, A.; DJEKIĆ, I.; LAKIĆ, N.; KRSTIĆ, B. 2009. The presence of *Alternaria* spp. on the seed of *Apiaceae* plants and their influence on seed emergence. Arch. Biol. Sci. Belgrade, 61(4):871-881.
- CURIONI, A.; GARCÍA, M.; ARIZIO, O. 1995. Análisis de mercado y tecnología de producción de coriandro. Proyecto de Diversificación Productiva-INTA. 68 p.
- KOIKE, S.T.; GLADDERS P.; PAULUS, A.O. 2007. Vegetable diseases. A color handbook. Academic Press. 448 p.
- LOPES, M.C.; MARTINS, V.C. 2008. Fungal plant pathogens in Portugal: *Alternaria dauci*. Rev. Iberoam. Micol. 25:254-256.
- PEDROSO, D.; MUNIZ, M.F.B.; DE TUNES, L.V.M.; MÜLLER, J.; JUNGES, E.; DOS SANTOS, R.F. 2013. Influência de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade de sementes de coentro. Revista Brasileira de Ciências Agrárias 8(4):563-569.
- REIS, A.; SATELIS, J.F.; PEREIRA, R.S.; NASCIMENTO, W.M. 2006. Associação de *Alternaria dauci* e *A. alternata* com sementes de coentro e eficiência do tratamento químico. Horticultura Brasileira 24:107-111.
- SIMMONS, E.G. 2007. *Alternaria*. An identification manual. CBS Fungal Biodiversity Centre. Utrecht, The Netherlands. 775 p.
- TRIGO, M.F.O.O.; TRIGO, L.F.N.; PIEROBOM, C.R. 1997. Fungos asociados às sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) no Rio Grande do Sul. Revista Brasileira de Sementes 19(2):213-217.
- ZAPATA, L.D.; MÜLLER, A.G. 2008. Evaluación de cultivares de coriandro (*Coriandrum sativum* L.) en el oeste de Entre Ríos. En: PAUNERO, I.E. (Ed.). Avances en la investigación en plantas aromáticas en la región pampeana y sur del Litoral. EEA San Pedro. INTA. 25-27 pp.