

Este trabajo ha sido presentado como requisito
para la obtención del Grado Académico de

MAESTRIA EN GENETICA VEGETAL
Area Mejoramiento Genético Vegetal

*UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO - INSTITUTO NACIONAL DE
TECNOLOGIA AGROPECUARIA*

“RESISTENCIA GENETICA DEL MANÍ FRENTE A
SCLEROTIUM ROLFSII Y SCLEROTINIA SCLEROTIORUM:
VARIABILIDAD, HEREDABILIDAD Y CORRELACIONES EN
GERMOPLASMA CON Y SIN MEJORA GENÉTICA”.

Tesis del Ing. Agr. JORGE BALDESSARI

.....
Ing. Agr. Guillermo
March
Consejero

.....
Ing. Agr. (M.Sc.)
Carlos Biasutti
Consejero

.....
Ing. Agr. Edgardo
Giandana
Director

Junio de 2000

Para Mónica y Victoria, pues parte de su tiempo están en esta tesis.

Mi muy especial agradecimiento al Ing. Agr. Gustavo D. Guerra y al Ing. Agr. (MB) Fernando Casanoves sin cuya contribución el presente trabajo no podría haberse realizado. Vaya también mi reconocimiento para el Agr. Roberto Sanchez, Dra. Pilar Díaz, Biól. (MB) Julio Di Rienzo, Lic. Est. Marta Quaglino y para todos aquellos que de una u otra manera hicieron posible este trabajo.

INDICE

	Página
INTRODUCCION.....1
MATERIAL Y METODOS.....17
RESULTADOS.....44
DISCUSION.....85
CONCLUSIONES.....105
BIBLIOGRAFIA.....109
ANEXO.....117

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1: Tratamientos agroquímicos utilizados en la conducción de las parcelas del material vegetal.....	25
Cuadro 2: Variables registradas en los ensayos de comportamiento frente a <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Sclerotium rolfsii</i>	34
Cuadro 3 Producción de esclerocios y características de los mismos correspondientes a los aislamientos de <i>Sclerotium rolfsii</i> ...	49
Cuadro 4 Producción de esclerocios y características de los mismos correspondientes a los aislamientos de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	49
Cuadro 5: Estadísticos descriptivos para las lesiones producidas por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Sclerotium rolfsii</i> en los “ensayos de taxonomía”.....	69
Cuadro 6: Análisis de la Varianza de la Longitud de la lesión por <i>Sclerotium rolfsii</i> (ensayo n°1).....	72
Cuadro 7: Análisis de la Varianza de la Longitud de la lesión por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (ensayo n°2).....	72
Cuadro 8: Estadísticos descriptivos para las variables “lessr” y “lesss” en los “ensayos de antigüedad”.....	77
Cuadro 9: Análisis de la Varianza de la Longitud de la lesión por <i>Sclerotium rolfsii</i> (ensayo n°3).....	78
Cuadro 10: Análisis de la Varianza de la Longitud de la lesión por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (ensayo n°4).....	78

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1: “Caja de germinación” conteniendo esclerocios de <i>Sclerotium rolfsii</i>	20
Figura 2: Reacciones de compatibilidad entre aislamientos de <i>S. rolfsii</i>	20
Figura 3: Reacciones de compatibilidad entre aislamientos de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	21
Figura 4: Entrecruzamiento de hifas y formación de zonas de alta densidad en <i>Sclerotium rolfsii</i>	45
Figura 5: Entrecruzamiento de hifas y formación de zonas de alta densidad en <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	45
Figura 6: zona de rechazo en <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	46
Figura 7: Diferentes densidades en los micelios de aislamientos de <i>Sclerotium rolfsii</i>	46
Figura 8: Tubos con estacas inoculadas.....	54
Figura 9: Gradilla con tubos inoculados.....	54
Figura 10: Distintos tipos de lesiones producidas por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Sclerotium rolfsii</i>	54
Figura 11: Lesiones típicas causadas por <i>Sclerotium rolfsii</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	54
Figura 12: Dendrograma de las poblaciones de acuerdo a la variable “lessr”.....	68
Figura 13: Dendrograma de las poblaciones de acuerdo a la variable “lesss”.....	70
Figura 14: Dendrograma de los cultivares de acuerdo a la variable “lessr”.....	80
Figura 15: Dendrograma de los cultivares de acuerdo a la variable “lesss”.....	80
Figura 16: Parentesco entre los participantes del ensayo de cultivares.	81

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1: Características de los aislamientos de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Sclerotium rolfsii</i> utilizados.....	17
Tabla 2: Descripción de las poblaciones utilizadas en los ensayos de taxonomía.....	30
Tabla 3: Descripción de los cultivares utilizados en los ensayos de antigüedad.....	31
Tabla 4: Frecuencias de las categorías de las variables evaluadas en el Ensayo n° 1.....	54
Tabla 5: Frecuencias de las categorías de las variables evaluadas en el Ensayo n° 2.....	55
Tabla 6: Combinaciones de variables analizadas por Correspondencias Múltiples y sus correspondientes números de gráficos (para Ensayos de Taxonomía).....	59
Tabla 7: Resumen de los resultados de los Análisis de Correspondencias realizados sobre los ensayos de taxonomía.....	65
Tabla 8: Combinaciones de variables analizadas por Correspondencias Múltiples y sus correspondientes números de gráficos (para Ensayos de Antigüedad).....	73
Tabla 9: Resumen de los resultados de los Análisis de Correspondencias realizados sobre los ensayos de antigüedad.....	76
Tabla 10: Heredabilidades de las variables “lessr” y “lesss” en los “ensayos de taxonomía”.....	83
Tabla 11: Correlaciones entre las variables “lessr” y “lesss” en los “ensayos de taxonomía”.....	83
Tabla 12: Heredabilidad y correlaciones de las variables “lessr” y “lesss” en los “ensayos de antigüedad”.....	84

INDICE DE GRAFICOS

	Página
Gráfico 1: Relaciones entre características de estacas en Ensayos 1 y 2.....	118
Gráfico 2: Relaciones entre características de estacas y variedades botánicas en Ensayos 1 y 2.....	119
Gráfico 3: Relaciones entre características de estacas y micelio en Ensayo 1.....	120
Gráfico 4: Relaciones entre características de estacas y micelio en Ensayo 2.....	121
Gráfico 5: Relaciones entre características de estacas y micelio en Ensayos 1 y 2.....	122
Gráfico 6: Relaciones entre características de estacas y lesión en Ensayo 1.....	123
Gráfico 7: Relaciones entre características de estacas y lesión en Ensayo 2.....	124
Gráfico 8: Relaciones entre características de estacas y lesión en Ensayos 1 y 2.....	125
Gráfico 9: Relaciones entre características de estacas, variedades botánicas y micelio en Ensayo 1.....	126
Gráfico 10: Relaciones entre características de estacas, variedades botánicas y micelio en Ensayo 2.....	127
Gráfico 11: Relaciones entre características de estacas, variedades botánicas y micelio en Ensayos 1 y 2.....	128
Gráfico 12: Relaciones entre características de estacas, variedades botánicas y lesión en Ensayo 1.....	129
Gráfico 13: Relaciones entre características de estacas, variedades botánicas y lesión en Ensayo 2.....	130
Gráfico 14: Relaciones entre características de estacas, variedades botánicas y lesión en Ensayos 1 y 2.....	131
Gráfico 15: Relaciones entre características de estacas, micelio y lesión en Ensayo 1.....	132
Gráfico 16: Relaciones entre características de estacas, micelio y lesión en Ensayo 2.....	133
Gráfico 17: Relaciones entre características de estacas, micelio y lesión en Ensayos 1 y 2.....	134
Gráfico 18: Relaciones entre características de estacas, variedades botánicas, micelio y lesión en Ensayo 1.....	135
Gráfico 19: Relaciones entre características de estacas, variedades botánicas, micelio y lesión en Ensayo 2.....	136
Gráfico 20: Relaciones entre características de estacas, variedades botánicas, micelio y lesión en Ensayos 1 y 2.....	137
Gráfico 21: Relaciones entre características de estacas y subespecies en Ensayos 1 y 2.....	138
Gráfico 22: Relaciones entre características de estacas, subespecies y micelio en Ensayo 1.....	139
Gráfico 23: Relaciones entre características de estacas, subespecies y	

micelio en Ensayo 2.....	140
Gráfico 24: Relaciones entre características de estacas, subespecies y micelio en Ensayos 1 y 2.....	141
Gráfico 25: Relaciones entre características de estacas, subespecies y lesión en Ensayo 1.....	142
Gráfico 26: Relaciones entre características de estacas, subespecies y lesión en Ensayo 2.....	143
Gráfico 27: Relaciones entre características de estacas, subespecies y lesión en Ensayos 1 y 2.....	144
Gráfico 28: Relaciones entre características de estacas, subespecies, micelio y lesión en Ensayo 1.....	145
Gráfico 29: Relaciones entre características de estacas, subespecies, micelio y lesión en Ensayo 2.....	146
Gráfico 30: Relaciones entre características de estacas, subespecies, micelio y lesión en Ensayos 1 y 2.....	147
Gráfico 31: Relaciones entre características de estacas en Ensayos 3 y 4.....	148
Gráfico 32: Relaciones entre características de estacas y cultivar en Ensayos 3 y 4.....	149
Gráfico 33: Relaciones entre características de estacas y lesión en Ensayo 3.....	150
Gráfico 34: Relaciones entre características de estacas y lesión en Ensayo 4.....	151
Gráfico 35: Relaciones entre características de estacas y lesión en Ensayos 3 y 4.....	152
Gráfico 36: Relaciones entre características de estacas, cultivares y lesión en Ensayo 3.....	153
Gráfico 37: Relaciones entre características de estacas, cultivares y lesión en Ensayo 4.....	154
Gráfico 38: Relaciones entre características de estacas, cultivares y lesión en Ensayos 3 y 4.....	155

RESUMEN

Sclerotium rolfsii y *Sclerotinia sclerotiorum* son importantes hongos fitopatógenos del maní (*Arachis hypogaea*). Para reducir su incidencia se utilizan cultivares con resistencia genética. Sin embargo, el desarrollo de estos cultivares es difícil por la poca confiabilidad de los métodos de evaluación de la resistencia de los genotipos de maní y por la inexistencia de fuentes de resistencia notorias. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) Evaluar la variabilidad de caracteres morfológicos y la tasa de crecimiento de aislamientos de *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*. 2) Ensayar técnicas de evaluación “in-vitro” que permitan estimar el grado de resistencia de germoplasma de maní frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*. 3) Determinar si existe relación entre clasificación taxonómica y/o morfología de las estacas y respuesta a los patógenos mencionados. 4) Comparar la resistencia de cultivares de maní actuales y antiguos y visualizar el comportamiento de líneas de genealogía frente a ambos patógenos. 5) Estimar la “heredabilidad en sentido amplio” de los caracteres “resistencia frente a *S. sclerotiorum*” y “resistencia frente a *S. rolfsii*” y sus correlaciones fenotípica, ambiental y genotípica.

La tasa de crecimiento registrada por ambos patógenos (a partir de las 24 hs. post-siembra) se ajustó a un modelo lineal. Los aislamientos ensayados de *S. sclerotiorum* exhibieron una inusual uniformidad en todos los caracteres excepto compatibilidad micelial. Entre aislamientos de *S. rolfsii* pudieron observarse diferencias en la morfología, producción de esclerocios y grupos de compatibilidad micelial.

Las modificaciones aplicadas a un método preexistente de evaluación de resistencia simplificaron la metodología y aumentaron su confiabilidad.

En los ensayos para cumplimentar el objetivo 3, se halló asociación entre variables que describen a las estacas y en menor medida con variedades botánicas y subespecies. La pertenencia a una subespecie fue determinante en el comportamiento frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*, mientras que la “variedad botánica” no influyó significativamente. El factor “población” fue el más importante en la determinación de la extensión de la lesión. La asociación entre tipos de estacas, tamaño de lesión y subespecie (y variedades botánicas en menor medida) sugieren que la morfología afectó el comportamiento frente a ambos patógenos, particularmente frente a *S. sclerotiorum*.

En los ensayos para cumplir el objetivo 4 se detectó variabilidad dentro de los cultivares para la resistencia frente a *S. sclerotiorum*, pero no para *S. rolfsii*. La causa de esto es desconocida. La antigüedad de los cultivares no tuvo influencia sobre el comportamiento frente a los patógenos

utilizados. Se evaluaron líneas de parentesco (de cultivares) con distinto número de generaciones, no observándose relación entre resistencia a ambos patógenos y antigüedad de los cultivares.

Se obtuvieron altos valores de heredabilidad, superiores a los de la bibliografía. Estos podrían deberse a una reducción de la varianza ambiental debida al método empleado. La magnitud de la correlación genética obtenida, sumada a las evidencias bibliográficas sustentan la presunción de que los mecanismos de resistencia a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* en maní, poseen rutas biosintéticas comunes.

GENETIC RESISTANCE OF PEANUT TO SCLEROTIUM ROLFSII AND
SCLEROTINIA SCLEROTIORUM: VARIABILITY HERITABILITY AND
CORRELATIONS IN BRED AND NON-BRED GERMPLASM.

SUMMARY

Sclerotium rolfsii and Sclerotinia sclerotiorum are important phytopathogenic fungi of peanut (*Arachis hypogaea* L.). Its incidence can be reduced by using genetic resistant cultivars. However the development of such cultivars is hindered by the lacking of noticeable sources of genetic resistance and also by the low reliability of the screening methods.

The objectives of this work were 1) To evaluate the morphological traits variability and the growth rate of *S. sclerotiorum* and *S. rolfsii* isolates. 2) To test “in-vitro” screening techniques that enable the assessment of genetic resistance to *S. sclerotiorum* and *S. rolfsii* in peanut germplasm. 3) To determine if a relationship exists between taxonomic classification and/or cutting morphology of peanut landraces and its reaction to both fungi. 4) To compare the resistance of old and new cultivars while visualizing the reaction of ancestry lines to both pathogens. 5) To estimate “broad sense heritability” of the traits “resistance to *S. sclerotiorum*” and “resistance to *S. rolfsii*” and its phenotypic, environmental and genotypic correlations.

The growth rate for both pathogens (from 24 hours after sowing) fitted a linear model as has been cited for many fungi. Tested *S. sclerotiorum* isolates showed unusual uniformity in all traits but micelial compatibility. Differences were found between *S. rolfsii* isolates in morphology sclerotia production and micelial compatibility group.

The applied modifications to a preexistent resistance screening method simplified the methodology while increased the reliability.

In the trials done to accomplish the objective number 3 an association between cutting-describing variables were found and also to a lower extent with botanical varieties and subspecies. The subspecies of a given genotype was determinant in its reaction to *S. sclerotiorum* and *S. rolfsii* but the botanical variety was not. The “landrace” factor was the most important in determining the lesion length caused by both fungi. The association between cutting type lesion length and subspecies (and botanical variety to a lower extent) suggests that morphology affected the reaction to both pathogens (specially *S. sclerotiorum*).

In the trials done to accomplish the objective number 4 within cultivar variability was detected for resistance to *S. sclerotiorum* but not to *S. rolfsii*. The causes of this finding are unknown. The cultivar age had no influence on the reaction to both pathogens. In this work ancestry lines with different generation number were tested. No pattern relating resistance and ancestry was observed. The high heritability values obtained here exceeds those cited in the literature. This could be due to a reduction in the environmental variance as a result of to the screening technique. The genetic correlation obtained in this work added to bibliographic evidences support the hypothesis of common biosynthetic paths in the mechanisms of resistance to *S. sclerotiorum* and *S. rolfsii* in peanut.

INTRODUCCION

El maní cultivado (*Arachis "hypogaea" L.*) es un cultivo alimenticio de gran importancia. Fija nitrógeno, se adapta a una amplia gama de climas y suelos y provee alimento a más de 2.500 millones de seres humanos (Simpson, 1991) Es originario de Sudamérica y su distribución natural se restringe a Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay y Uruguay. Sin embargo, no se lo encuentra como planta silvestre, sino asociado a la actividad humana (Krapovickas, 1973).

Entre las principales limitantes del cultivo de maní se hallan las enfermedades (Porter *et al.*, 1982; Sherwood *et al.*, 1995; CONAMA, 1999). Sin lugar a dudas, las enfermedades del rizoplano son las que causan mayores daños y las de más difícil control (Porter *et al.*; 1982; Middleton *et al.*; 1994). En el area productora de maní de Argentina, tienen una alta incidencia *Sclerotium rolfsii* Sacc y *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (March y Marinelli; 1995).

S. rolfsii. (teleomorfo *Athelia rolfsii* (Curzii) Tu & Kimbrough) es un hongo fitopatógeno del rizoplano, especialmente importante en regiones templado-cálidas a tropicales (Harlton *et al.*, 1995). Tiene un rango de hospedantes de más de 500 especies pertenecientes a 100 familias, ubicadas principalmente dentro de las dicotiledóneas (Punja & Rahe, 1992) . Los síntomas que este hongo produce sobre sus hospedantes incluyen: pudrición de tallo y raíces, cancro en ramas e hipocotilo y “damping off” en pre y postemergencia. Se ha demostrado que existe gran variabilidad entre aislamientos, tanto a nivel de morfología (esclerotos, micelio, rizomorfos) como de DNA (Harlton *et al.*, 1995; Punja & Damiani, 1996; Hernandez Medina y Herrera Ysla, 1997). Esta variabilidad da como resultado diferencias en el comportamiento de los aislamientos (especialmente en cuanto a crecimiento y patogenicidad. *Sclerotium rolfsii* puede reproducirse, crecer y ser patogénico entre los 20 y 36°C, aunque su óptimo se halla entre los 27 y 30°C (Z. Punja, com. pers.). En algunos trabajos se ha informado una correlación directa entre tasa de crecimiento y patogenicidad (Punja *et al.*, 1985; Z. Punja, com. pers.).

Como patógeno de maní produce la enfermedad conocida como “marchitamiento por *Sclerotium*”. Los síntomas iniciales son amarillamiento y marchitamiento de ramas o de la planta entera. A continuación las hojas se tornan marrón oscuro y caen a veces prematuramente (Backman, 1990). Si hay alta humedad y temperatura, puede verse sobre el cuello de la planta el micelio blanco algodonoso (signo del patógeno). Las lesiones sobre las ramas y clavos son inicialmente de color marrón claro y de aspecto húmedo, oscureciéndose con el avance de la enfermedad. Las vainas infectadas usualmente se pudren, aún cuando no se registran síntomas visibles de la enfermedad sobre la parte aérea de la planta. Condiciones cálidas y húmedas favorecen la aparición de la enfermedad. Esto ocurre usualmente cuando se produce el cierre de la canopia (cierre del surco). Sin embargo, si las condiciones de alta humedad se mantienen durante varios días de manera continua, la enfermedad puede aparecer antes del cierre de la canopia (Backman, 1990).

La forma de reproducción y resistencia de *S. rolfsii* es a través de esclerocios pequeños, marrones y esféricos; aunque hay notorias diferencias morfológicas entre esclerocios de distintos aislamientos (Punja & Damiani, 1996; Hernandez Medina y Herrera Ysla, 1997). Los compuestos volátiles que se desprenden de algunos residuos vegetales en el suelo producen la germinación de estos esclerocios (Linderman & Gilbert, 1973^a; Beute & Rodriguez-Kábana, 1979^a, 1979^b). Los residuos vegetales y hojas caídas sirven de base alimenticia y puente para que el micelio alcance la planta. Este hongo sobrevive como saprófito aún sobre restos vegetales de especies no-hospedantes, permitiéndole incluso formar esclerocios. Estos sobreviven de año a año, aunque su viabilidad se reduce de manera notoria si son enterrados profundamente (Backman, 1990).

Backman (1990) cita que las pérdidas que este hongo ocasiona en maní dependen del número de focos por metro de hilera, variando las pérdidas por muerte de plantas y desprendimiento de vainas entre 12 y 91 kg/ha.

S. sclerotiorum (teleomorfo *Whetzelinia sclerotiorum* (Lib.) Korf & Dumont) es un hongo fitopatógeno del rizoplasma. Su omnipresencia, su amplio rango de hospedantes (64 familias) y su gran variabilidad, lo transforman en un problema sanitario importante en innumerables regiones y cultivos (Kohn *et al.*, 1991; Pratt, 1992). Puede ser descrito como un hongo de zonas templadas, aunque en América se ha informado de su presencia desde Alaska hasta el sur de Chile (Pratt, 1992).

En maní produce la enfermedad conocida como “tizón por *Sclerotinia*” o “moho blanco”, la cual fue citada en Argentina por primera vez por Marchionatto en 1922. Los síntomas iniciales son marchitamiento rápido (tizón) del extremo de las ramas atacadas. Los sitios de infección inicial son pequeñas lesiones de aspecto húmedo y de color verde-claro. Frecuentemente las lesiones se encuentran en las zonas del tallo y de los clavos en contacto con el suelo (Marinelli y March, 1996), aunque en infecciones ascospóricas pueden hallarse en la porción superior del follaje (Pratt, 1992). Estas manchas (lesiones) iniciales se agrandan y adquieren color castaño claro con un borde nítido entre tejido sano y enfermo (Marinelli y March, 1996). Otro síntoma característico de la enfermedad es el enriado de las partes afectadas. Cuando la parte atacada es el clavo, se produce la pudrición y consecuente desprendimiento de vainas (Porter, 1990).

Bajo condiciones de alta humedad ambiente, puede verse en la zona infectada el micelio blanco algodonoso (signo del patógeno). La planta atacada puede morir o bien sólo alguna de sus ramas, en función de las condiciones ambientales. Marinelli y March (1996) informaron que en maní, la muerte de las plantas atacadas se produjo a los 10-12 días de la infección, aunque las condiciones ambientales (básicamente la temperatura) pueden modificar estos valores (Pratt, 1992; Nelson *et al.*, 1991^b). Condiciones frescas y húmedas favorecen la aparición de la enfermedad. En Córdoba esto ocurre usualmente hacia el final del verano. Desde fines de marzo, la canopia densa, la alta humedad relativa y las temperaturas frescas conforman el ambiente ideal para la aparición de la

enfermedad (March y Marinelli, 1995). Sin embargo, si tales condiciones se dan previamente, puede aparecer con anterioridad. Tal fue el caso de la campaña agrícola 1997/98.

S. sclerotiorum se reproduce a través de esclerocios grandes, negros y de forma irregular que se forman sobre y dentro de las partes atacadas del vegetal. La variabilidad observada entre aislamientos a nivel de esclerotos se debe a diferencias genéticas como de sustrato (Le Tourneau, 1979; Porter, 1990). Al igual que lo que ocurre con *S. rolfsii*, los compuestos volátiles de algunos residuos vegetales en el suelo favorecen la germinación de los esclerocios (Linderman & Gilbert, 1973^b). Estos pueden entonces germinar produciendo micelio (“germinación micelial”) y atacar a la planta usando los residuos vegetales como puente. Los esclerocios también pueden germinar dando lugar a las estructuras sexuales (apotecios), lo que se conoce como “germinación carpogénica”. Las ascosporas producidas pueden infectar el maní si las condiciones bajo la canopia del cultivo son adecuadas (Porter, 1990, Marinelli y March, 1996). Durante la campaña 97/98, pudieron observarse dos ciclos de ataque carpogénico (ascospórico) durante el temporada de maní, merced a las condiciones frescas y muy húmedas desde mediados de febrero hasta fines de abril (G. March, com. pers.).

S. sclerotiorum solo se ha citado como patógeno importante de maní en Argentina (Marinelli y March, 1996). En ese trabajo se informa de niveles de incidencia de hasta el 25%.

Sin lugar a dudas, *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* son patógenos de máxima importancia en la zona manisera argentina (región central de la provincia de Córdoba). Esta importancia ha aumentado como consecuencia de cambios en el sistema productivo de esta región, pudiendo mencionarse entre los más importantes:

- la introducción de cultivos susceptibles a estos patógenos. A mediados de la década del '70 comienza a crecer la superficie de soja. Por la alta rentabilidad de este cultivo, esta zona que

hasta ese momento era agrícola-ganadera se transformó en netamente agrícola (Freire *et al.*, 1998). La secuencia predominante pasó a ser soja-maíz(sorgo) o maní-maíz(sorgo), o a veces soja-maíz(sorgo)-maní-maíz(sorgo). Asimismo, hacia mediados de los '80 comienza a crecer la superficie de girasol. Con ello, el maní comienza a ser cultivado en lotes que han tenido poco tiempo atrás un cultivo susceptible. Desde el punto de vista de la epidemiología de los patógenos del rizoplano, las secuencias de cultivo descritas pueden considerarse monocultivo (Marinelli y March, 1996). Ello es debido a que éstos poseen estructuras de preservación (esclerocios) que retienen su viabilidad por varios años (Middleton *et al.*; 1994).

- La introducción en lotes limpios, de esclerocios de *S. sclerotiorum* como contaminante de semilla de soja y girasol. Este patógeno se encuentra frecuentemente presente a través de sus esclerocios en semilla de soja que solo ha recibido procesamiento con máquinas de aire-zaranda y en semilla de girasol de todas las categorías (aún de híbridos comerciales).
- Cambio de los cultivares de maní utilizados. Hasta comienzos de los '80, los cultivares Spanish y Valencia predominaban en el área manisera. Su porte erecto dificultaba la formación del microclima conducente a la proliferación de hongos bajo la canopia (Dow *et al.*, 1988, Marinelli y March, 1996). El cambio de éstas variedades por las de tipo runner, de porte rastro y follaje denso, favorecieron un incremento de la incidencia de estos hongos (Coffelt & Porter, 1982).

Las estrategias para reducir la incidencia de estos patógenos son variadas: control químico (Csinos, 1987; Smith *et al.*, 1992; Branch & Brenneman, 1996; Greeson *et al.*; 1998), control biológico (Akem & Melouk, 1987; Hannusch & Boland, 1995), medidas culturales como rotaciones (Porter *et al.*, 1982; March y Marinelli, 1995), densidades de siembra y porte del cultivar para no generar canopias densas (Coyne *et al.*, 1977); Dow *et al.*, 1988), cultivares tolerantes (Coffelt & Porter, 1982; Branch & Csinos; 1987) y combinaciones de algunas de las anteriores (Branch & Brenneman,

1996; Damicone & Jackson, 1996; Hagan *et al.*; 1997; Rodriguez-Kabana *et al.*, 1997; Brenneman, T.B., 1998).

En los últimos años se está verificando por parte de los consumidores una creciente valoración de alimentos “naturales”. Esto es, aquellos obtenidos con prácticas “no-contaminantes”, ambientalmente sanas (Gullino & Kuijpers, 1994). De allí que hayan tomado nuevo impulso estrategias como la utilización de microorganismos de control biológico y la utilización de cultivares resistentes que requieran de poco o ningún fungicida (Gorbet *et al.*; 1997^a; Shokes & Black, 1997).

La resistencia genética de los vegetales a los diversos factores de estrés biótico (virus, bacterias, hongos, insectos, nematodos, etc.) ha sido definida por Fry (1982) como “...la característica de un planta de suprimir al patógeno y el desarrollo de la enfermedad”. Dentro de esta resistencia se hallan incluidos dos términos de implicancias muy diferentes; el “escape” o “supresión fenológica” y la “resistencia verdadera o morfo-fisiológica”.

El “escape” o “supresión fenológica” es aquella característica del vegetal que le permite evitar confrontar con el patógeno o crear condiciones inadecuadas para este (Parlevliet & Zadoks, 1977).

Entre los mecanismos de escape más usuales a la infección por *S. sclerotiorum* y *Sclerotium rolfsii*, merecen citarse dos: el tipo de porte-canopia y el ciclo del cultivar (Shew *et al.*, 1987).

Los cultivares con canopias permeables, generan microclimas cálidos y secos que no favorecen a estos patógenos (Coyne *et al.*, 1977; Coffelt & Porter, 1982; Fuller *et al.*, 1984^a; Shew *et al.*, 1987).

Asimismo, los cultivares erectos ponen menor superficie de tallos en contacto con el suelo, disminuyendo así la probabilidad de enfrentar al patógeno (Coffelt & Porter, 1982).

En cultivos de verano, cultivares con ciclo corto escapan a *S. sclerotiorum* pues maduran antes de que las condiciones ambientales permitan la aparición de la enfermedad (Coffelt & Porter, 1982;

Fuller *et al.*, 1984^b; Marinelli y March, 1996). Tal estrategia no es factible en *Sclerotium rolfsii*, pues es un patógeno que se presenta a lo largo de la estación de crecimiento (Backman, 1990).

Además del “escape”, existen mecanismos asociados con barreras estructurales o respuestas activas de la planta al establecimiento y/o infección por parte del patógeno. Estos mecanismos se agrupan bajo el término “resistencia verdadera” (Parlevliet & Zadoks, 1977) o “resistencia morfo-fisiológica” (Shew *et al.*; 1987).

Entre los mecanismos de resistencia morfo-fisiológica pueden mencionarse las barreras estructurales preformadas (Bell, 1981; Godoy, 1981) y aquellas producidas “de novo” (Oku, 1992). Asimismo pueden generarse sustancias de defensa o producirse la muerte las células en contacto con el patógeno para evitar su avance (Oku, 1992).

Numerosos trabajos han informado que las barreras preformadas son el principal mecanismo de defensa de los vegetales ante el ataque de *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* (Porter *et al.*, 1975^a; Lumsden, 1979; Pettit *et al.*, 1979; Punja *et al.*, 1985; Vear, F. & D. Tourvielle de Labrouhe, 1985; Sedun & Brown, 1989). Sin embargo, existen informes de sugieren otros mecanismos de mayor importancia, tales como las barreras producidas “de-novo” (Gulyás & Mesterházy, 1992; Tahmasebi-Enferadi *et al.*, 1998), reacciones hipersensitivas (Grau *et al.*, 1982, Melouk *et al.*, 1992), bloqueo de enzimas o toxinas del patógeno (Miklas *et al.*, 1992^a; Oku, 1992 Thompson *et al.*, 1995) e inclusive combinaciones de algunos de los mecanismos citados anteriormente (Punja *et al.*, 1985).

El uso de cultivares que posean resistencia a patógenos es uno de los más importantes aportes al manejo integrado de enfermedades (Sherwood *et al.*, 1995). Su utilización no requiere acciones especiales por parte del productor, no es perjudicial para el ambiente, es compatible con otras técnicas de manejo de enfermedades y usualmente es efectiva para reducir los niveles de enfermedad (Fry, 1982).

Para la obtención de cultivares resistentes a un patógeno, es necesario poder evaluar correctamente el tipo y la intensidad de la resistencia. Para esto se han descrito numerosos métodos, genéricamente denominados “métodos de evaluación” (*screening*) (Porter *et al.*, 1975^b; Hunter *et al.*, 1981; Coffelt & Garren, 1982; Madjid *et al.*, 1983; Brenneman *et al.*, 1988; Shokes *et al.*, 1996; Wegulo *et al.*; 1998). Una primera clasificación de estos métodos podría dividirlos en “a campo” y “en invernáculo-laboratorio”, cada uno de los cuales presenta ventajas y desventajas. Los primeros exhiben como ventajas que el triángulo de enfermedad (patógeno-hospedante-ambiente) se reproduce tal cual es (Hooker, 1983). Asimismo, las plantas pueden expresar su fenotipo normal, lo que es imprescindible para una correcta estimación de su grado de resistencia (Boland & Hall, 1986, Nelson *et al.*, 1991^b). Sin embargo, los métodos de evaluación a campo presentan varios problemas. Entre ellos merecen citarse:

- a- Son dependientes de las condiciones ambientales para la aparición de la enfermedad. Usualmente se necesita de una adecuada combinación de temperatura y humedad que no siempre puede lograrse a campo (Coffelt & Porter, 1982).
- b- La desuniforme distribución del inóculo sobre el terreno entorpece la evaluación (Melouk *et al.*, 1992). Esta distribución lleva a malas interpretaciones respecto del comportamiento de un genotipo frente al patógeno. Este inconveniente puede morigerarse en parte produciendo inoculaciones artificiales. Sin embargo, aún con esta medida, las condiciones microambientales altamente variables pueden alterar el desarrollo de la enfermedad (Shew *et al.*; 1987).
- c- No se puede separar el escape de la resistencia morfo-fisiológica (Coffelt & Porter, 1982).

Para lograr esta separación, existen los métodos de evaluación en invernáculo-laboratorio que pueden utilizar plantas enteras o partes de ellas. Son bastante sensibles y solo detectan real resistencia morfo-fisiológica. Además uniformizan el ambiente de manera que el patógeno

encuentra condiciones adecuadas para prosperar, independientemente de las condiciones climáticas o de la posible “supresión fenológica” por parte del genotipo (Melouk *et al.*; 1992). Como ventajas adicionales presentan el requerir pocas semillas, poco tiempo y presentar resultados independientemente de las condiciones climáticas de la temporada (Brenneman *et al.*, 1988). Sin embargo, algunas veces presentan alteraciones importantes sobre algunos factores determinantes de la enfermedad. Por ejemplo, las plantas cultivadas en invernáculo presentan un fenotipo muy distinto al que presentan “a campo”. Ello influye en su posterior comportamiento frente el patógeno (Dickson *et al.*, 1982; Nelson *et al.*, 1991^a; Miklas *et al.*, 1992^a; Chappell *et al.*, 1995). Una forma de solucionar este problema es utilizar material (plantas o parte de estas) provenientes de campo para ensayarlas en condiciones controladas (Brenneman *et al.*, 1988; Melouk *et al.*, 1992; Chappell *et al.*, 1995)

Los métodos de evaluación en invernáculo-laboratorio se han utilizado con buenos resultados con diversos cultivos y patógenos (Hunter *et al.*, 1981; Coffelt & Garren; 1982; Shew *et al.*, 1987; Pratt, 1996). En el caso de maní se han informado tres métodos de evaluación que ensayan estacas de tallo en laboratorio (métodos “de estaca o in-vitro”). Todos ellos se emplearon para *Sclerotinia minor* (Brenneman *et al.*, 1988; Melouk *et al.*; 1992, Chappell *et al.*, 1995). No sucede lo mismo con *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*, en los que aún no han sido propuestas técnicas rápidas de laboratorio para maní. Para resistencia a *S. rolfsii*, solo se ha citado en soja una técnica de las llamadas “de estaca” (Akem & Dashiell, 1991).

Si bien el porte erecto o tipo de canopia abierta (responsables del escape) son importantes como componentes de la resistencia (Chappell *et al.*, 1995), no son convenientes dentro de un cultivar. Esto es debido a que no se logran las altas tasas fotosintéticas de los ideotipos rastreros (Ketring *et al.*; 1982). Adicionalmente, la tecnología de cultivo (arrancadoras-invertidoras) se ha desarrollado en función de los cultivares rastreros, por lo que los portes erectos no son aceptados.

A diferencia de lo que ocurre con la componente de escape, la resistencia fisiológica es importante para el logro de cultivares de maní resistentes a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*. Este carácter puede incorporarse dentro de germoplasma por procesos selectivos, manteniendo sus buenas características agronómicas, particularmente porte y eficiencia fotosintética (C. Simpson, com. pers.).

La efectividad del proceso selectivo de un carácter depende de la importancia relativa de las componentes genéticas y ambientales en la determinación del fenotipo de los individuos para ese carácter (Allard, 1960). Este concepto se conoce como “heredabilidad en sentido amplio” o “grado de determinación genética”. La heredabilidad en sentido amplio, puede expresarse más formalmente como la proporción de la variabilidad fenotípica total (observada en un grupo o población) que es debida a causas genéticas (Mariotti, 1986). Así puede escribirse:

$$H = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_f^2}$$

Donde:

H = “heredabilidad en sentido amplio”.

σ_g^2 = varianza genética.

σ_f^2 = varianza fenotípica.

En el numerador de la fórmula (varianza genética, σ_g^2) se incluyen las varianzas aditivas, de dominancia, epistática y las de sus respectivas interacciones. Desde el punto de vista del mejoramiento es de mayor utilidad conocer la relación entre las varianzas aditiva y fenotípica (heredabilidad en sentido estricto, h^2). Sin embargo, desde el punto de vista práctico, en especies autógamas es mucho más sencillo llegar a conocer la H (Ramalho *et al.*, 1993). De esta manera puede conocerse de manera aproximada, cuanta determinación genética tiene un carácter y si se

justifica avanzar en su mejora. Esto sin perder de vista que toda estimación de heredabilidad es válida para el grupo o población ensayado y las condiciones experimentales utilizadas (Mariotti, 1986)

El carácter resistencia fisiológica a *S. sclerotiorum* ha sido motivo de investigación en numerosas especies, obteniéndose valores de heredabilidad moderados a bajos (Fuller *et al.*, 1984^b; Miklas & Grafton, 1992; Halimi *et al.*, 1994)

En maní se encontraron valores similares para resistencia a *Sclerotinia minor* (Wildman *et al.*, 1992). Si bien este trabajo podría tomarse como orientación para la heredabilidad de la resistencia a *S. sclerotiorum* en maní, la interpolación de los resultados de ensayos de resistencia a distintas especies del género *Sclerotinia* debe tomarse con cuidado. En algunos trabajos se ha informado de mecanismos de patogenicidad similares dentro del género (Lumsden & Wergin, 1980; Sedun & Brown, 1989), mientras que en otros se han encontrado diferencias (Pratt, 1991; Rowe, 1993). La determinación de la *H* del carácter “resistencia a *S. sclerotiorum*” en maní permitiría estimar las posibilidades de un proceso de mejora por tal carácter.

La correlación genética entre caracteres es de suma importancia para el mejorador, pues determina que cambios producidos en un carácter puedan afectar positiva o negativamente a otros caracteres de interés (Falconer, 1990). Para conocer la correlación genética entre caracteres es necesario primero conocer las varianzas genéticas de los caracteres en cuestión y luego la covarianza entre ellos. Cuanto más exacta sea la estimación de la varianza genética de ambos caracteres, más confiable será la de su correspondiente correlación genética. Consecuentemente podrá conocerse cual será la respuesta correlacionada sobre un carácter en respuesta a la selección operada sobre otro carácter (Falconer, 1990) y podrá optarse en consecuencia por diferentes estrategias de mejora para uno o ambos caracteres (Hallauer & Miranda Fo.; 1981).

Hasta el presente se han identificado pocas fuentes de real resistencia fisiológica a *S. sclerotiorum* o *S. rolfsii* en maní (Wynne *et al.*, 1991; Murthy & Reddy, 1993). De allí la importancia de realizar una adecuada clasificación del material entre resistente y susceptible, con miras a realizar estudios básicos de los caracteres “resistencia fisiológica” a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* y aplicar los genotipos resistentes a procesos de mejora.

El desarrollo de una buena técnica de evaluación “in vitro” para resistencia a *S. rolfsii* y *S. sclerotiorum*, permitiría una correcta valoración de la resistencia fisiológica al eliminar los problemas citados de los ensayos a campo y la componente de escape en la resistencia. Además permitiría disminuir la componente ambiental en la expresión del carácter (Fehr, 1987), gracias a que tornaría uniforme el ambiente de evaluación.

Entre las especies vegetales, se ha citado repetidamente correlación entre caracteres morfo-fisiológicos y origen geográfico y pertenencia taxonómica (Palta & Li, 1979; Becerra Velazquez & Gepts, 1994; González *et al.*, 1995, Clements *et al.*, 1996). Sin embargo, en otras ocasiones se ha informado lo contrario (Brenneman *et al.*, 1988; Melouk *et al.*, 1992; Skinner & Stuteville, 1992). Este panorama de inconsistencia también se ha observado en maní.

El maní (*Arachis “hypogaea”* L.) se halla dividida taxonómicamente de la siguiente manera (Krapovickas, 1973):

A. hypogaea

ssp. *hypogaea*

var. *hypogaea* (vulgarmente “tipo virginia”)

var. *hirsuta*

ssp. *fastigiata*

var. *fastigiata* (vulgarmente “valencia”)

var. *vulgaris* (vulgarmente “español”)

En algunos trabajos se cita que, la pertenencia a diferente variedad botánica estableció diferencias en el comportamiento de distintos genotipos frente a patógenos (Porter *et al.*, 1975^b; Grichar & Smith, 1992; Melouk *et al.*, 1992; Porter *et al.*, 1992). Sin embargo, los resultados han sido muchas veces contradictorios. Así, mientras para algunas experiencias los genotipos con pedigrees con predominio de la subespecie “*fastigiata*” resultaron más tolerantes a *Sclerotinia minor* (Porter *et al.*; 1992), en otras fueron más susceptibles (Melouk *et al.*; 1992). En no pocos trabajos no se halló un patrón definido (Coffelt & Porter; 1982).

En lo que respecta a comportamiento frente a *S. sclerotiorum*, no se ha observado relación aparente entre taxonomía y resistencia (Porter *et al.*; 1975^b).

Respecto de *S. rolfsii*, el panorama de inconsistencia es similar (Cooper, 1961; Garren, 1964; Branch & Csinos, 1987; Shew *et al.*, 1987; Grichar & Smith, 1992; Besler *et al.*, 1997)

Tal confusión podría deberse a la utilización en los ensayos de pocos genotipos, de genotipos con pedigrees de distinto grupo botánico, o bien de una inadecuada clasificación en función de las limitantes en los métodos de evaluación.

Krapovickas (1973) relaciona las variedades botánicas con distribución geográfica. Así, las diferentes variedades botánicas provienen de condiciones agroecológicas distintas. Por consiguiente, sería dable esperar que presiones selectivas (naturales o humanas) hayan causado diferencias a nivel de caracteres tan importantes como la resistencia a *S. rolfsii* o *S. sclerotiorum*. Es por consiguiente esperable que las variedades presenten diferente grado de resistencia frente a ambos patógenos.

En el mejoramiento genético de los cultivos, el mejorador selecciona (usualmente) varios caracteres al mismo tiempo. Según Simmonds (1979), la manera más usual de hacerlo es a través de una mezcla no siempre bien definida de niveles de truncamiento independiente y de un índice (no totalmente explícito). Tal proceder se debe a las restricciones usuales de recursos con las que se enfrenta el mejorador. De allí que en las primeras generaciones, con gran número de individuos, se apele al truncamiento en caracteres de alta heredabilidad (Dolan *et al.*, 1996). A medida que van disminuyendo los individuos comienza a tomar importancia el índice sobre caracteres con heredabilidad moderada. Hacia el final del proceso, se da paso de manera notoria al índice. Esto es así pues difícilmente aparezcan a esta altura defectos tan importantes (en los materiales remanentes) que no hayan sido descartados por truncamiento.

La resistencia a hongos de suelo se ha tornado un objetivo cada vez más importante en la mayoría de los programas de mejora en el mundo (Wynne *et al.*, 1991; Isleb & Wynne; 1992). Sin embargo, siempre ha existido como carácter de cierta importancia dentro de ese “índice no explicitado” (D. Gorbet, com. pers.) del que habla Simmonds (1979). A pesar de ello, al probar materiales de distinta antigüedad, rara vez se nota diferencia a favor de los cultivares actuales (Smith *et al.*, 1989; Shokes *et al.*, 1998). Resultados similares se han encontrado al comparar genotipos seleccionados por su resistencia y sus padres (Melouk *et al.*, 1992; Wildman *et al.*, 1992, Wells *et al.*, 1994). Ello puede deberse a la baja heredabilidad de este carácter (Coffelt & Porter, 1982; Wildman *et al.*, 1992). Al formar parte (la resistencia) del índice selectivo, baja la eficiencia de selección (Falconer, 1990). Esa baja heredabilidad del carácter se debe en gran parte a la forma de evaluación de la resistencia durante el proceso selectivo. Esta se realiza a campo sobre la base de parcelas pequeñas, con todo lo que ello significa respecto a mala distribución del inoculo, control biológico del patógeno, escapes (Brenneman *et al.*, 1988; Melouk *et al.*, 1992; Shokes *et al.*, 1996).

En los procesos de selección en maní a lo largo del tiempo, ha intervenido (inadvertidamente a veces) como criterio la resistencia a *S. rolfsii* y *S. sclerotiorum* (Wynne *et al.*, 1991). Por consiguiente, sería factible que los materiales modernos presentaran (en promedio) mejor comportamiento que los materiales antiguos frente a estos patógenos como resultante del proceso selectivo (Falconer, 1990). Sin embargo, no se han realizado ensayos tendientes a comprobar esta presunción. Por consiguiente, podría no estarse utilizando en los procesos de mejora materiales antiguos de buenas características generales y adecuado nivel de resistencia. Ello bajo el supuesto de que los materiales modernos no solo presentan ventajas agronómicas (básicamente rendimiento) respecto de los antiguos, sino que poseen, al menos, resistencia de una magnitud similar a los materiales de mayor antigüedad (fruto de ese criterio de mejora).

Para refutar o no esta presunción, es necesario comparar el comportamiento frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* de cultivares liberados en épocas distintas. Numerosos autores han recalcado la importancia de contar con germoplasma de maní con resistencias múltiples (Wynne *et al.*, 1991; Grichar & Smith, 1992; Gorbet *et al.*, 1997^a). Hasta el momento se han obtenido pocos materiales con cierta resistencia a más de un patógeno de suelo (Wynne *et al.*, 1991). Sin embargo, tales materiales no han conseguido gran difusión por poseer características agronómicas subóptimas (D. Gorbet, com. pers.).

El desarrollo de germoplasma con resistencia conjunta a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* necesita de adecuada comprensión de los mecanismos de patogénesis y los de su contraparte, la resistencia.

Los mecanismos de patogénesis de *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* presentan similitudes importantes, que incluyen penetración física a través de la cutina y secreción temprana de ácido oxálico y enzimas degradadoras de los polímeros de la pared celular (Bateman & Beer, 1965; Lumsden, 1979; Marciano *et al.*, 1983; Punja *et al.*, 1985; Smith *et al.*, 1986). Sin embargo, hasta el presente no se

ha comprobado la similitud de los mecanismos de resistencia a estos patógenos (Wynne *et al.*, 1991).

La existencia de tal similitud podría verse reflejada al enfrentar los mismos genotipos a ambos patógenos. Rankings similares implicarían una correlación entre ambos mecanismos de resistencia (Mitchell-Olds *et al.*; 1995).

El presente trabajo posee los siguientes objetivos:

1. Evaluar la variabilidad de caracteres morfológicos y la tasa de crecimiento de aislamientos de *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*.
2. Ensayar técnicas de evaluación “in-vitro” que permitan estimar el grado de resistencia de germoplasma de maní frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*.
3. Determinar si existe relación entre clasificación taxonómica o morfología de las estacas y respuesta a los patógenos mencionados.
4. Comparar la resistencia de cultivares de maní actuales y antiguos y visualizar el comportamiento de líneas de genealogía frente a ambos patógenos.
5. Estimar la “heredabilidad en sentido amplio” de los caracteres “resistencia frente a *S. sclerotiorum*” y “resistencia frente a *S. rolfsii*” y sus correlaciones fenotípica, ambiental y genotípica.

MATERIAL Y METODOS

Durante los ensayos del presente trabajo se utilizó material vegetal y fúngico. Algunas de sus características se exponen a continuación:

Material Fúngico: La denominación, hospedante, y área de origen de los aislamientos utilizados en los distintos ensayos realizados pueden apreciarse en la Tabla 1.

Tabla 1: Características de los aislamientos de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Sclerotium rolfsii</i> utilizados.		
Patógeno	Aislamiento	Origen
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	SsM98-1	Sobre maní, E.E.A. INTA Manfredi
	SsM98-2	Sobre capítulo de girasol, E.E.A. INTA Manfredi
	SsC98-3	Sobre soja, zona de Corralito
<i>Sclerotium rolfsii</i>	SrM98-1	Sobre soja, zona de Tancacha
	SrM98-2	Sobre maní, E.E.A. INTA Manfredi
	SrM98-3	Sobre maní , zona de Laguna Larga

Para poder contar con buen número de esclerocios de cada aislamiento, los esclerocios traídos de campo fueron multiplicados de la siguiente manera: zanahorias desinfectadas externamente en una

solución de hipoclorito de sodio (1,2 gr de Cloro activo/litro de producto) al 3% v/v, se cortaron en rodajas y colocaron en un recipiente formando una fina capa sobre el fondo. Sobre esta se colocaron los esclerocios desinfectados por 10 segundos en solución de alcohol etílico al 70% v/v y 30 segundos en solución de hipoclorito de sodio (1,2 gr de Cloro activo/litro de producto) al 3% v/v, enjuagándose los posteriormente en dos oportunidades con agua estéril.

El recipiente tapado fue colocado en cámara con condiciones controladas a 23 ± 1 ó $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ dependiendo del patógeno (*S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* respectivamente). El ciclo fotoperiódico fue de 16 hs de luz y 8 hs de oscuridad. Los nuevos esclerocios se consideraron maduros cuando alcanzaron su coloración usual (negra y marrón oscura respectivamente), en ese momento se destapó el recipiente y se esperó hasta que se secaran. Luego fueron recogidos y conservados a temperatura ambiente hasta su utilización en los distintos ensayos.

Los aislamientos de ambos patógenos no fueron multiplicados sobre sustratos moderadamente ricos en energía (Agar Papa Dextrosa, etc.) para evitar pérdida de patogenicidad del aislamiento (Punja & Rahe, 1992; Pratt, 1992).

Con el objeto de conocer el comportamiento y las características morfológicas de los distintos aislamientos, su variabilidad y finalmente decidir que material utilizar en los ensayos de resistencia, se realizaron dos tipos ensayos para cada patógeno: Ensayos de Compatibilidad Micelial y Ensayos de Velocidad de crecimiento de los aislamientos. Asimismo, para caracterizar adicionalmente el material fúngico, se registraron las características morfológicas de las colonias y esclerocios.

Ensayos de Compatibilidad Micelial

El objetivo de estos ensayos fue determinar si los aislamientos eran capaces de fusionar sus micelios conformando un heterokarion estable. Si ello no era posible se formaba entre ambos una “zona de rechazo”, la que se observaba como una detención en el avance y un engrosamiento de ambos micelios en la zona de contacto. La incompatibilidad micelial deja de lado la posibilidad de estar frente al mismo aislamiento.

Para *S. rolfsii* se realizaron dos ensayos. En el primero se utilizaron esclerocios de los aislamientos SrM98-1 y SrM98-3, mientras que en el segundo se agregó el aislamiento SrM98-2. En el caso de *S. sclerotiorum*, se realizó un solo ensayo con los 3 aislamientos.

Las colonias utilizadas se obtuvieron de la siguiente manera: los esclerocios desinfectados fueron colocados en cajas de Petri (100x10 mm) conteniendo 15 mililitros de Agar Papa Dextrosa + 15 microlitros de solución de ampicilina (100 partes por millón). Una vez sembrados los esclerocios a razón de 5 por caja (“cajas de germinación”) se incubaron a 23 ± 1 ó $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ dependiendo del patógeno (Figura 1). Cuando los esclerocios produjeron colonias de 3-4 cm de diámetro, se tomaron trozos de agar de 4 mm de diámetro de la periferia de las colonias conteniendo micelio en activo crecimiento, los que fueron repicados a “cajas de enfrentamiento” (100x10 mm) conteniendo 15 mililitros de Agar Papa Dextrosa. En los márgenes de las cajas y en radios opuestos se colocaron los trozos de agar provenientes de las “cajas de germinación”. En cada caja se enfrentaron 2 ó 3 aislamientos, dependiendo del ensayo. Las cajas se mantuvieron a 23 ± 1 ó $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ (dependiendo del patógeno) hasta que los micelios tomaran contacto y se percibiera claramente la reacción resultante. La reacción se calificó como compatible si entre ambas colonias se produjo un entrecruzamiento de ambos micelios, verificándose solo un ligero frente entre ambos producto de una mayor densidad de hifas por área (figuras 2A y 3). La reacción se calificó como incompatible, cuando en la zona de contacto entre ambas colonias se observó un marcado frente de menor densidad de ambos micelios

separando ambas colonias (figura 2B). Este frente era producto de la inhibición recíproca del crecimiento de ambos micelios (Kohn *et al.*, 1991).

Ensayos de Velocidad de crecimiento de los aislamientos

Este ensayo se llevó a cabo con el fin de conocer la velocidad de crecimiento de los aislamientos con que se contaba, en las condiciones (temperatura, fotoperíodo) en las que se realizarían las pruebas de comportamiento frente a ambos patógenos. Colateralmente se buscaba conocer si era posible la utilización simultánea de la cámara de condiciones controladas para ensayos de resistencia y para el repique de los hongos a utilizar en tales ensayos. Para realizar los ensayos se tomó en cuenta las temperaturas usuales durante la época de aparición de cada patógeno (G. March, com. pers.; Pratt, 1992), las temperaturas citadas en la bibliografía (Nelson *et al.*, 1991^b, Pratt, 1992, Punja *et al.*, 1985, Harlton *et al.*, 1995) y algunos resultados de ensayos preliminares (datos no mostrados). Por consiguiente los ensayos de velocidad de crecimiento se realizaron a $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ y a $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ para *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* respectivamente y en un régimen fotoperiódico de 16 hs de luz.

La secuencia utilizada en estos ensayos fue:

- 1) desinfección de esclerocios (según protocolo ya descrito) y siembra en “cajas de germinación”.
- 2) repique a cajas para medir crecimiento (“cajas de crecimiento”). Desde las “cajas de germinación” se tomaron púas de 4 mm. de diámetro, utilizando para ello sólo una colonia (derivada de un esclerocio). Generalmente las púas se extrajeron a los 2 días de germinado el esclerocio. Cada púa fue colocada en posición central (en el caso de *S. rolfsii*) o marginal (en el caso de *S. sclerotiorum*) en cada “caja de crecimiento”.
- 3) registro de crecimiento. Para el caso de *S. rolfsii*, diariamente se marcó sobre cuatro radios opuestos el avance de la colonia. En el caso de *S. sclerotiorum*, sobre tres radios divergentes desde

el borde de la púa se marcó el avance de la colonia a las 9 y 15 hs de cada día, comenzando 24 hs después de la siembra. En ambos ensayos se consideró como última lectura a aquella obtenida antes de que la colonia alcanzase el borde de la caja sobre cada radio.

En el ensayo de *S. rolfsii* se utilizaron seis cajas de cada aislamiento sobre las que se midió el desarrollo de las colonias. En el caso de *S. sclerotiorum*, se emplearon tres cajas de cada aislamiento.

Los milímetros alcanzados en cada medición se consideraron como variable “mm”. El ritmo de crecimiento de *S. rolfsii* permitió recoger 3-4 mediciones sobre cada radio, mientras que en el caso de *S. sclerotiorum* se obtuvieron 5-6 mediciones.

Con estos datos se ajustó un modelo de regresión lineal simple de acuerdo al siguiente modelo:

$$\text{mm} = \text{ordenada al origen} + \text{día} * \text{tasa de crecimiento (pendiente)}.$$

En el caso de *S. sclerotiorum*, por tomarse mediciones 2 veces al día, en el modelo se reemplazó “días” por “horas”

Para estimar si los modelos lineales ajustaban correctamente, se realizaron Pruebas de bondad de ajuste (lack of fit) para cada grupo de datos (Rawlings, 1988).

Para conocer si ambos aislamientos diferían en su tasa de crecimiento, se realizó una prueba de comparación de pendientes (Rawlings, 1988).

Características morfológicas de los esclerocios de distintos aislamientos:

Para conocer la variabilidad morfológica de los aislamientos, sobre las cajas del “Ensayo de velocidad de crecimiento” se midieron el peso y número de esclerocios producidos. Adicionalmente, para *S. rolfsii* se registraron color y coalescencia de los esclerocios.

En el caso de *S. rolfsii*, se recogieron los esclerocios producidos en cada una de las cajas y se pesaron para conocer la producción (gramos de esclerocios/caja). Luego se calculó el peso promedio sobre una muestra de 20-30 esclerocios (que no presentaran coalescencia). Sobre las variables “Gramos de esclerocios/caja” y “Peso promedio del esclerocio” se realizaron Análisis de la Varianza de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado y posterior prueba de diferencia de medias (diferencia mínima significativa). Cada caja de Petri se consideró una unidad experimental.

En el ensayo de *S. sclerotiorum* se procedió de manera similar a *S. rolfsii*, pero las variables relacionadas con la producción de esclerocios (“Gramos de esclerocios/caja”, “Peso promedio del esclerocio” y “Número de esclerocios/caja”) se calcularon utilizando la totalidad de lo producido en cada caja. De esta manera se contó con tres tratamientos (aislamientos) y tres repeticiones (cajas de Petri).

La tasa de crecimiento fue el criterio que se adoptó para elegir que aislamiento utilizar en los ensayos de comportamiento frente a ambos patógenos. Se consideró que aquellos aislamientos con mayor tasa de crecimiento son más virulentos y convenientes para este tipo de ensayos (Punja *et al.*, 1985). Por ello, SrM98-1 fue seleccionado entre los aislamientos de *S. rolfsii*. De entre los aislamientos de *S. sclerotiorum* se eligió al azar a SsM98-1.

Material Vegetal: ”. Las semillas utilizadas en los ensayos de comportamiento frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* fueron obtenidas del Banco Activo de Germoplasma de Maní de la E.E.A. INTA Manfredi (BAGMM).

La siembra de los genotipos se realizó el 19/10/98 en la E.E.A. I.N.T.A. Manfredi, en un lote con un suelo tipo Haplustol típico serie Oncativo. Las semillas fueron tratadas con fungicida curasemillas

Vitavax (Thiram 20% + Carboxin 20%) a 1 centímetro cúbico de producto comercial por cada genotipo evaluado (60 semillas).

Las parcelas fueron de 1 surco de 5 metros de largo, con una densidad de 12 semillas/metro. Los surcos estuvieron distanciados a 1,4 metros para permitir un desplazamiento cómodo. Las parcelas recibieron tres riegos (presiembr, 20 y 110 días postsiembra) de aproximadamente 30 mm cada uno. Una vez implantado el cultivo (30 días postsiembra) se procedió a individualizar en cada parcela 10 plantas con una estaca numerada. Se tomaron plantas al azar que estuvieran en competencia perfecta dentro del surco. Dicha individualización permitió luego la utilización de cada planta como fuente de variación en los análisis estadísticos y la estimación de “heredabilidad en sentido amplio” y de correlaciones (fenotípica, ambiental y genotípica) entre las resistencias a ambos patógenos.

Las parcelas recibieron aplicaciones de herbicidas y fungicidas según se detalla en el cuadro 1

Cuadro 1: Tratamientos agroquímicos utilizados en la conducción de las parcelas del material vegetal		
Fecha de aplicación	Producto y dosis/Ha	Función
26/10/98	Imazetapir (1 lt) + Cletodim (Select, 1 lt) + 2-4 DB (0,5 lt)	Control de malezas de gramíneas y latifoliadas
2/11/98	Imazetapir (1 lt) + Cletodim (Select, 1 lt) + 2-4 DB (0,5 lt)	Control de malezas de gramíneas y latifoliadas
25/11/98	Imazetapir (1 lt)	Control de <i>Cyperus rotundus</i>
23/12/98	Cletodim (1 lt)	Control de gramíneas
5/1/99	Cletodim (2 lt)	Control de gramíneas
9/2/99	Cletodim (2,5 lt)	Control de gramíneas
12/2/99	Tebuconazole (0,5 lt.)	Control de viruela
2/3/99	Cletodim (2 lt)	Control de gramíneas
31/3/99	Tebuconazole (0,5 lt.)	Control de viruela

Las aplicaciones de agroquímicos se realizaron con un equipo de empuje manual (especial para experimentos) para reducir los posibles daños a las plantas.

Para poder contar con un método de evaluación “in-vitro” de la resistencia a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* se comparó el desempeño de dos métodos a través de 3 ensayos.

El primer método fue informado por Melouk et al. (1992). Consiste en cortar estacas de 12-16 cm tomadas del extremo de ramas laterales de plantas de al menos 45 días de edad. A gabinete, las hojas de las estacas se cortan dejando 1 cm de pecíolo, excepto los primordios de hojas del brote terminal. Estas estacas se inoculan colocando un trozo de micelio de 4 mm de diámetro (púa) obtenido de la periferia de cultivos en activo crecimiento. La púa se coloca en la axila foliar, en la parte media de la estaca. Cada estaca se coloca dentro de un tubo de ensayo conteniendo solución Hoagland. La estaca está sostenida por un trozo de espuma de poliuretano en su extremo inferior. Los tubos de ensayo son colocados en gradillas y éstas son envueltas en bolsas plásticas cerradas para crear así una atmósfera saturada conducente al desarrollo de ataque por el patógeno. Las gradillas se colocan en una cámara con luz (fotoperíodo de 16 hs) y temperatura controladas. Este método fue descrito para *Sclerotinia minor* con temperaturas de 25-29°C. En el marco del presente trabajo se lo empleó también para *Sclerotinia sclerotiorum* a 23±1°C y para *Sclerotium rolfsii* a 30±1°C.

A los 5 días de la inoculación se extraen las estacas y se registran las variables de interés.

El segundo método evaluado es una modificación efectuada al anterior, consistente en eliminar el trozo de espuma, reemplazar la solución Hoagland por agua corriente y cerrar cada tubo de ensayo individualmente con plástico termocontráctil.

Ensayos Preliminares

Se realizaron para comparar del desempeño de los métodos de evaluación “in-vitro”. Se llevaron a cabo tres ensayos que se describen a continuación:

Ensayo preliminar n° 1: se utilizaron 14 plantas de maní cultivadas a campo, de 45 días de edad, pertenecientes al cultivar de maní ASEM 447 INTA. De cada planta se obtuvieron 2 estacas, cada una de las cuales fue inoculada de acuerdo a cada uno de los métodos arriba descritos con púas de cultivo de *S. minor* obtenido de manera similar a la informada bajo el título “Ensayos de Velocidad de crecimiento de los aislamientos”

Sobre cada estaca se registraron (a 5 días de la inoculación) las siguientes variables:

Grosor de la estaca (gros): diámetro medido en milímetros, a la mitad de la estaca. Si la rama no tenía sección cilíndrica, se tomó el diámetro menor.

Cantidad de nudos de la estaca (cantnu): de acuerdo a una escala visual arbitraria comparativa entre genotipos, se calificó en tres categorías. “muchos nudos”, “regular cantidad de nudos” y “pocos nudos”.

Suculencia de la estaca (sucul): de acuerdo a una escala táctil arbitraria comparativa entre genotipos, se calificó en tres categorías. “mucho suculencia”, “regular suculencia” y “poca suculencia”. A mayor dureza a la compresión (sobre la parte sana) se consideró menor suculencia.

Extensión de la lesión producida por el patógeno (les): medida desde el extremo macroscópicamente visible hasta el otro (en sentido longitudinal) en mm.

Para asegurar la similitud de las estacas asignadas a cada método, éstas se compararon para la variable Grosor de la estaca (gros) por medio de un test t apareado. Para las variables Cantidad de nudos de la estaca (cantnu) y Suculencia de la estaca (sucul) se aplicó el Test exacto de Fisher para independencia entre las variables y los métodos de evaluación de resistencia.

Para evaluar el desempeño de ambos métodos de estimación de resistencia, la variable Extensión de la lesión producida por el patógeno (les) fue analizada por un test t apareado. Este test se realizó con y sin inclusión de estacas sin lesión aparente.

Ensayo preliminar n° 2: se utilizaron plantas de maní cultivadas a campo, de 45 días de edad, pertenecientes a los cultivares de maní ASEM 447 INTA y ASEM 485 INTA. Se emplearon 3 plantas de cada cultivar. De cada planta se obtuvieron 4 estacas, inoculándose dos de ellas por un método y las dos restantes por el otro método. Se utilizó el aislamiento SrM98-1 de *S. rolfsii* y sobre cada estaca se registraron las mismas variables que en el ensayo preliminar n°1.

Para asegurar la similitud de las estacas de cada genotipo asignadas a cada método de inoculación, se probó la asociación entre las variables Cantidad de nudos de la estaca (cantnu) y Suculencia de la estaca (sucul) de cada genotipo y ambos métodos por medio del Test exacto de Fisher.

Para evaluar el desempeño de ambos métodos de estimación de resistencia y su posible interacción con el genotipo evaluado, la variable Extensión de la lesión producida por el patógeno (les) fue analizada por un ANOVA de acuerdo al modelo:

$$y_{ijk} = \mu + \beta_j + \tau_k + \delta_{j*k} + \epsilon_{ijk} \quad ; \text{ donde:}$$

y_{ijk} = observación i-ésima del nivel j-ésimo del factor “método de inoculación”, nivel k-ésimo del factor “genotipo”, de la variable “les”.

μ = media general.

β_j = efecto del nivel j-ésimo del factor “método de inoculación”.

τ_k = efecto del nivel k-ésimo del factor “genotipo”.

δ_{j*k} = efecto de la interacción de los factores “método de inoculación” y “genotipo”.

ϵ_{ijk} = error experimental.

Como covariable se probó en el modelo la variable Grosor de la estaca (gros).

Este modelo se probó con y sin inclusión de estacas sin lesión aparente.

Ensayo preliminar n° 3: similar al ensayo preliminar n°2 pero utilizando el aislamiento SsM98-1 de *S. sclerotiorum*. Las variables registradas y su tratamiento estadístico fueron similares a los del ensayo anterior.

Ensayos de determinación del comportamiento de diversos genotipos de maní frente a *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotium rolfsii*

Se realizaron cuatro ensayos. Los primeros dos (Ensayos de taxonomía) se realizaron para determinar si existía relación entre clasificación taxonómica de poblaciones de maní y comportamiento frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*.

Los dos ensayos restantes (Ensayos de antigüedad), tuvieron como objetivo comparar la respuesta de cultivares actuales y antiguos de maní frente a *S. rolfsii* y *S. sclerotiorum*.

En los “Ensayos de taxonomía” se utilizaron poblaciones pertenecientes a las cuatro variedades botánicas de maní. En un primer ensayo (N° 1) se probó la respuesta de distintas poblaciones frente a *S. rolfsii* y en el segundo ensayo (N° 2) se las probó frente a *S. sclerotiorum*.

Para elegir de entre las entradas del **BAGMM** los genotipos intervinientes en estos ensayos, se tomaron las poblaciones (landraces) que no hubieran sufrido procesos de mejora reciente. Con el fin de asegurar esto, se utilizaron solamente entradas provenientes de los genocentros primarios de la especie y cuyos datos de pasaporte no dejaran lugar a dudas de cumplir con esas restricciones. De

entre estas poblaciones y por cada variedad botánica se eligieron al azar las utilizadas en los ensayos 1 y 2. La discriminación por variedad botánica fue ocho poblaciones de cada una de las variedades “*fastigiata*”, “*vulgaris*” e “*hypogaea*” y cuatro de la variedad “*hirsuta*” (por no existir más entradas de esta variedad en el BAGMM), totalizando 28 poblaciones.

La procedencia de los genotipos, así como algunos datos de caracterización, pueden apreciarse en la Tabla 2.

Tabla 2: Descripción de las poblaciones utilizadas en los ensayos de taxonomía				
REM	Pais de origen	Zona de origen	Nombre Local	Taxonomía
291	Argentina	Entre Ríos		Ahfv
292	Argentina	Corrientes		Ahfv
293	Argentina	Corrientes		Ahfv
307	Argentina	Corrientes		Ahfv
314	Argentina	Corrientes		Ahfv
321	Argentina	Corrientes		Ahfv
535	Bolivia	Bermejo		Ahhh
564	Bolivia	Padilla		Ahhh
664	Bolivia	San Isidro		Ahhh
692	Bolivia	Chulumani		Ahhh
694	Bolivia	Capani		Ahhh
704	Bolivia	San Ignacio		Ahhh
1086	Bolivia	Villa Montes		Ahff
1170	Bolivia	San Borja		Ahff
1221	Bolivia	Buena Vista	Maní Blanco	Ahff
1230	Bolivia	Covendo	Maní Criollo	Ahff
1236	Bolivia	Caranaví		Ahff
2507	Ecuador	Pedro Carbó		Ahhh
2512	Ecuador	Pichincha	Pepón	Ahhh
2534	Ecuador	San Antonio		Ahhi
2535	Ecuador	Runicucho		Ahhi
2536	Ecuador	Loma del Sargentillo	Rosita	Ahff
3617	Perú	La Molina	Rojo Gigante	Ahhi
3618	Perú	La Libertad	Maní Trujillano	Ahhi
3651	Perú	Loreto		Ahff
3687	Perú	San Francisco		Ahff
4109	Uruguay	Pasaje La Paloma		Ahfv
4110	Uruguay	Ruta 5, 8 km. de Bichadero		Ahfv

REFERENCIAS:

REM: Registro Entrada de Maní. Este número sirve como único identificador de cada entrada y nunca será reasignado a otra entrada del Banco Activo de Germoplasma de maní de Manfredi.-

Pais: País de origen de la muestra.-

Lugar de origen: Zona o lugar donde fue recolectada la muestra.-

Nombre Local: Denominación dada a la muestra en el lugar de origen.-

Taxonomía: Género, especie, subespecie y variedad botánica.-

Ahhh: *Arachis hypogaea hypogaea hypogaea*
 Ahhi: *Arachis hypogaea hypogaea hirsuta*
 Ahff: *Arachis hypogaea fastigiata fastigiata*
 Ahfv: *Arachis hypogaea fastigiata vulgaris*

En los “Ensayos de antigüedad” se eligieron cultivares de EEUU y Argentina, por existir en el BAGMM cultivares de ambos países con la antigüedad requerida. Dentro de los cultivares de ambos países, se tomaron aquellos de más de 30 años de liberación comercial (“antiguos”) eligiéndose al azar cinco genotipos por cada país. Posteriormente y de la misma manera se eligieron los cultivares “actuales” (aquellos con menos de 15 años de liberación).

Ambos ensayos (Ensayos 3 y 4) se realizaron evaluando 7 plantas (individualizadas) de cada genotipo.

En la Tabla 3 pueden observarse algunos datos de los cultivares utilizados.

Tabla 3: Descripción de los cultivares utilizados en los ensayos de antigüedad				
REM	País de origen	Nombre	Año de liberación	Agencia/Compañía que liberó
278	Argentina	Blanco Santa Fé	1950	Estación Experimental Manfredi (Min. Agric. Ganad. y Pesca)
337	Argentina	Manfredi Virginia 3	1975	INTA Manfredi
338	Argentina	Manfredi Virginia 7	1974	INTA Manfredi
343	Argentina	Manfredi Virginia 4	1973	INTA Manfredi
344	Argentina	Manfredi Virginia 5	1975	INTA Manfredi
399	Argentina	Florman INTA	1985	INTA Manfredi
	Argentina	Mf 478	en proceso	INTA Manfredi
	Argentina	Mf 480	en proceso	INTA Manfredi
	Argentina	Mf 484	en proceso	INTA Manfredi
	Argentina	ASEM 485 INTA	1999	INTA Manfredi
2660	EEUU	Starr	1961	Texas Agric. Exp. Stn.
2666	EEUU	Early Runner	1952	Florida Agric. Exp. Stn.
2685	EEUU	Virginia Bunch 67	1967	Virginia Agric. Exp. Stn.
2693	EEUU	Florigiant	1961	Florida Agric. Exp. Stn.
2694	EEUU	NC 5	1964	North Carolina Agric. Exp. Stn.
2699	EEUU	Tamrun 88	1988	Texas Agric. Exp. Stn.
2702	EEUU	NC 9	1985	North Carolina Agric. Exp. Stn.
2732	EEUU	Georgia Green	1996	University of Georgia
2733	EEUU	Sunoleic 95R	1995	Florida Agric. Exp. Stn.
2734	EEUU	VirusGard	1997	Agratech Seeds

REFERENCIAS:

REM: Registro Entrada de Maní. Este número sirve como único identificador de cada entrada y nunca será reasignado a otra entrada del Banco Activo de Germoplasma de maní de Manfredi.-

País: País de origen de la muestra.-

Nombre: Denominación interna o la asignada al liberar a mercado.-

Año de liberación: en el que fue comercializado por primera vez.

Agencia/Compañía que liberó: aquella que puso el cultivar en el mercado

Tanto en los “Ensayos de taxonomía” como en los “Ensayos de antigüedad”, se utilizó la modificación del método de Melouk *et al.* (1992) (descrita en Ensayos preliminares) para medir el comportamiento de los genotipos frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*:

De cada planta individualizada se tomó una estaca cada vez. Cada estaca fue individualizada con una banda elástica con etiqueta. Por cada parcela (genotipo) se cortaron siete estacas que se colocaron en bolsas plásticas para reducir el estrés transpiratorio. Las plantas donantes que murieron durante la realización de los ensayos fueron reemplazadas por las tres plantas remanentes previamente individualizadas. A gabinete, las hojas de las estacas a inocular fueron cortadas dejando 1 cm de pecíolo, excepto los primordios de hojas del brote terminal. Estas estacas se inocularon con los aislamientos SrM98-1 o SsM98-1, para *S. rolfsii* y *S. sclerotiorum* respectivamente. Cada estaca se colocó dentro de un tubo de ensayo. Los tubos se dispusieron en gradillas, aleatorizándose su localización dentro de la gradilla. La gradilla fue colocada en una cámara con luz y temperatura controladas. El fotoperíodo de 16 hs. La temperatura fue de $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ para *S. sclerotiorum* y $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ para *S. rolfsii*. A los cinco días de inoculadas, las estacas fueron retiradas de la cámara y sobre ellas se midieron las siguientes variables:

Densidad del micelio formado por el patógeno (denmi): se calificó de acuerdo a una escala visual arbitraria de 1 a 3, siendo 1=micelio laxo, 2=micelio medianamente denso y 3=micelio denso.

Grosor de la estaca (gros): , diámetro medido en milímetros, a la mitad de la estaca. Si la rama no tenía sección cilíndrica, se tomó el diámetro menor.

Grosor categórico de la estaca (grosca): de acuerdo a la siguiente escala categórica.

diámetro < 5 milímetros = “finas”

diámetro > 6 milímetros = “gruesas”

diámetro entre 5 y 6 milímetros = “intermedias”.

Cantidad de nudos de la estaca (cantnu): de acuerdo a una escala visual arbitraria comparativa entre genotipos, se calificó en tres categorías. “muchos nudos”, “regular cantidad de nudos” y “pocos nudos”.

Suculencia de la estaca (sucul): de acuerdo a una escala táctil arbitraria comparativa entre genotipos, se calificó en tres categorías. “mucho suculencia”, “regular suculencia” y “poca suculencia”. A mayor dureza a la compresión (sobre la parte sana) se consideró menor suculencia.

Extensión de la lesión producida por el patógeno (les): medida desde el extremo macroscópicamente visible hasta el otro (en sentido longitudinal) en mm.

Extensión de la lesión producida por el patógeno expresada como variable categórica (lesc): se calificó como “pequeña” cuando el valor de “les” fue menor a la media menos la desviación estándar ($\mu - \sigma$). Se calificó como “grande” cuando el valor de “les” fue mayor a la media más la desviación estándar ($\mu + \sigma$). Si el valor de “les” se encontraba entre $\mu - \sigma$ y $\mu + \sigma$ la variable “lesc” se calificó como “intermedia”.

Tipo de lesión producida (tipole): se calificó de acuerdo a una escala visual arbitraria de 1 a 3, siendo 1=lesiones superficiales menores a 2 mm., 2=lesión restringida a un lado de la estaca y 3=lesión que rodea a la estaca (modificado de Melouk *et al.*, 1992).

Para diferenciar las variables al ser aplicadas a ensayos de distintos patógenos, se le agregó al final del nombre de la variable la terminación “sr” cuando fue utilizada en ensayos de *S. rolfsii* y “ss” cuando fue utilizada para *S. sclerotiorum*. Así, “sucul” (suculencia de la estaca) se renombró como “suculsr” cuando se evaluó la suculencia de las estacas en ensayos de *S. rolfsii*. Cuando esta variable se evaluó en estacas utilizadas en ensayos de *Sclerotinia*, la variable se llamó “suculss”.

De manera simplificada, lo anterior puede observarse en el Cuadro 2

<i>CUADRO 2: Variables registradas en los ensayos de comportamiento frente a Sclerotinia sclerotiorum y Sclerotium rolfsii</i>				
<i>Variable</i>	<i>Ensayo</i>	<i>Nombre en el ensayo</i>	<i>Categorías (solo para categóricas)</i>	<i>Análisis en que se utilizó</i>
Densidad del micelio formado por el patógeno (densmi)	N° 1 y 3	denmisr	a: poca b: mediana c: mucha	Análisis de Correspondencias Múltiple
	N° 2 y 4	denmiss	o: poca n: mediana m: mucha	
Grosor de la estaca (en mm.)	N° 1 y 3	grossr		ANOVA (covariable)
	N° 2 y 4	grosss		
Grosor categórico de la estaca (grosca)	N° 1 y 3	groscasr	j: finas k: intermedias l: gruesas	Análisis de Correspondencias Múltiple
	N° 2 y 4	groscass	p: finas q: intermedias r: gruesas	

<i>CUADRO 2 (continuación)</i>				
Cantidad de nudos de la estaca (cantnu)	N° 1 y 3	cantnusr	d: pocos e: regular f: muchos	Análisis de Correspondencias Múltiple
	N° 2 y 4	cantnuss	s: pocos t: regular u: muchos	
Suculencia de la estaca (sucul)	N° 1 y 3	suculsr	g: poca h: regular i: mucha	Análisis de Correspondencias Múltiple
	N° 2 y 4	suculss	v: poca w: regular x: mucha	
Extensión de la lesión producida por el patógeno	N° 1 y 3	lessr		ANOVA, Clustering y cálculo de heredabilidad y correlación
	N° 2 y 4	lesss		

<i>CUADRO 2 (continuación)</i>				
Extensión de la lesión producida por el patógeno expresada como variable categórica (lesca)	N° 1 y 3	lescasr	\$: pequeña %: intermedia &: grande	Análisis de Correspondencias Múltiple
	N° 2 y 4	lescass	7: pequeña 8: intermedia 9: grande	
Tipo de lesión producida (tipole)	N° 1 y 3	tipolesr	@: tipo 2 #: tipo 3	Análisis de Correspondencias Múltiple
	N° 2 y 4	tipoless	2: tipo 2 3: tipo 3	
Subespecie (spp)	N° 1 y 2		=: <i>fastigiata</i> @: <i>hypogaea</i>	Análisis de Correspondencias Múltiple
Variedad Botánica (var)	N° 1 y 2		1: <i>vulgaris</i> 2: <i>hypogaea</i> 3: <i>fastigiata</i> 4: <i>hirsuta</i>	Análisis de Correspondencias Múltiple

Cultivar (cv)	Nº 3 y 4			Análisis de Correspondencias Múltiple
------------------	----------	--	--	---------------------------------------

En los cuatro ensayos se evaluaron siete plantas (individualizadas) de cada genotipo. Sobre cada planta se extrajeron tres estacas (repeticiones) para ser inoculadas en distintas fechas.

La disposición física de las repeticiones se realizó bajo un diseño en bloques completos aleatorizados. Las fechas de inoculación fueron consideradas como bloques.

Las variables “lessr” y “lesss” registradas sobre las estacas se tomaron como indicadores de resistencia (a *S. rolfsii* y *S. sclerotiorum* respectivamente) por parte del vegetal (Melouk *et al.*, 1992, Brenneman *et al.*, 1988).

Para cada ensayo se realizaron ANOVAS sobre las variables “lessr”, “lesss”, “grossr” y “grosss”.

En el caso de los “Ensayos de taxonomía” las plantas se consideraron anidadas en poblaciones, estas en variedad botánica y estas a su vez en subespecie. El diseño de tratamientos es consecuentemente anidado en 4 etapas, de acuerdo al siguiente modelo:

$$y_{ijkl} = \mu + \beta_i + \tau_j + \delta_{k(j)} + \gamma_{l(jk)} + \lambda_{m(jkl)} + \epsilon_{ijkl} \quad ; \text{ donde:}$$

y_{ijklm} = observación i-ésima del nivel j-ésimo del factor “subespecie”, nivel k-ésimo del factor “variedad botánica”, nivel l-ésimo del factor “población”, nivel m-ésimo del factor “planta”, de las variables “lessr”, “lesss”, “grossr” o “grosss”.

μ = media general.

β_i = efecto del bloque i-ésimo.

τ_j = efecto del nivel j-ésimo del factor “subespecie”.

$\delta_{k(j)}$ = efecto del nivel k-ésimo del factor “variedad botánica”, anidado dentro del factor “subespecie”.

$\gamma_{l(jk)}$ = efecto del nivel l-ésimo del factor “población”, anidado dentro de los factores “subespecie” y “variedad botánica”.

$\lambda_{m(jkl)}$ = efecto del nivel m-ésimo del factor “planta”, anidado dentro de los factores “subespecie”, “variedad botánica” y “población”.

ϵ_{ijklm} = error experimental.

Como bloque se consideró cada fecha de inoculación. Los factores intervinientes fueron considerados: subespecie (fijo), variedad botánica (fijo), población (aleatorio) y planta (aleatorio).

Para visualizar los patrones de agrupamiento entre las poblaciones en función de la longitud de las lesiones ocasionadas por cada patógeno, se realizó un Análisis de Agrupamiento (*Clustering*) por el método de ligamiento promedio utilizando la distancia euclídea entre las observaciones.

Para estudiar la relación existente entre las distintas variables categóricas registradas en los 4 ensayos de comportamiento frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*, se utilizó Análisis de Correspondencias Múltiples (cf. Cuadro 2). El Análisis de Correspondencias Múltiples es el análisis de componentes principales ponderado de una tabla de contingencia de entrada múltiple. En él se hallan representadas gráficamente en espacios dimensionales de menor magnitud las asociaciones entre las filas y columnas de la tabla (Lebart *et al.*, 1984).

En una primera instancia se analizó como variable de implicancia taxonómica a “variedad botánica”. Posteriormente, se analizó la variable “subespecie”, la que reemplazó a “variedad botánica”.

Al igual que en los “ensayos de taxonomía”, sobre los “ensayos de antigüedad” se realizaron ANOVAS sobre las variables “lessr”, “lesss”, “grossr” y “grosss”.

Estos ensayos se analizaron siguiendo un modelo que consideró los factores: grupo de antigüedad (actuales vs. antiguos), cultivar y planta. Los factores intervinientes fueron considerados: grupo (fijo), cultivar (aleatorio) y planta (aleatorio).

Las plantas se consideraron anidadas dentro de cultivares y éstos dentro de grupo de antigüedad (“actuales” o “antiguos”). El diseño de tratamientos fue anidado en dos etapas de acuerdo al siguiente modelo:

$$y_{ijkl} = \mu + \beta_i + \tau_j + \delta_{k(j)} + \gamma_{l(jk)} + \epsilon_{ijkl} \quad ; \text{ donde}$$

y_{ijkl} = observación i-ésima del nivel j-ésimo del factor “grupo”, nivel k-ésimo del factor “cultivar”, nivel l-ésimo del factor “planta” de las variables “lessr”, “lesss”, “grossr” o “grosss”.

μ = media general.

β_i = efecto del bloque i-ésimo.

τ_j = efecto del nivel j-ésimo del factor “grupo”.

$\delta_{k(j)}$ = efecto del nivel k-ésimo del factor “cultivar”, anidado dentro del factor “grupo”.

$\gamma_{l(jk)}$ = efecto del nivel l-ésimo del factor “planta”, anidado dentro de los factores “grupo” y “cultivar”.

ϵ_{ijkl} = error experimental.

Al igual que en los “ensayos de taxonomía”, en los ensayos de antigüedad también se utilizó Análisis de Correspondencias (para estudiar la relación existente entre variables categóricas) y Análisis de Agrupamiento (tomando en cuenta las variables “lessr” y “lesss”) para visualizar posibles patrones de agrupamiento entre los cultivares.

Sobre los ensayos de taxonomía y de antigüedad se calculó la “heredabilidad en sentido amplio” de los caracteres “resistencia a *S. rolfsii*” y “resistencia a *S. sclerotiorum*”. Para ello se utilizaron las

variables “lessr” y “lesss”, respectivamente. La “heredabilidad en sentido amplio” se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula (Cruz e Regazzi, 1994):

$$H = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_f^2}$$

Donde:

H = heredabilidad en sentido amplio.

σ_g^2 = varianza genotípica

σ_f^2 = varianza fenotípica

Asimismo se calculó el “error de la estimación de la heredabilidad en sentido amplio”, de acuerdo a Mariotti (1986):

$$\sigma_{(H)} = \sqrt{\frac{2(N-1)(1-(H)^2)(1+(k_2-1)H)^2}{k_2^2(N-k_1)(N-1)}}$$

Donde:

$\sigma_{(H)}$ = error estándar de la heredabilidad en sentido amplio

N = número de observaciones.

H = heredabilidad en sentido amplio.

k_1 = número de poblaciones o cultivares.

k_2 = número de repeticiones de cada población o cultivar.

Para el cálculo de heredabilidad solo se incluyeron los datos obtenidos sobre la misma planta en las tres fechas de inoculación. En los “ensayos de taxonomía” las heredabilidades se calcularon para ambas subespecies separadamente y luego conjuntamente. El modelo utilizado en el cálculo de las H y sus errores contempló solamente bloques y poblaciones o cultivares (en función del tipo de ensayo).

Con los valores de las variables “lessr” y “lesss” se calcularon las correlaciones fenotípica, ambiental y genotípica entre las resistencias a ambos patógenos. Estas correlaciones se calcularon separadamente para ambos tipos de ensayos (“de taxonomía” y “de antigüedad”), de acuerdo a las siguientes fórmulas (Cruz e Regazzi, 1994):

$$r_f = \frac{PM_{xy}}{\sqrt{CM_x CM_y}}; \quad r_a = \frac{PMR_{xy}}{\sqrt{CMR_{ax} CMR_{ay}}}; \quad r_g = \frac{\hat{\sigma}_{gxy}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{gx}^2 \hat{\sigma}_{gy}^2}}$$

Donde:

r_f = correlación fenotípica

PM_{xy} = Producto medio fenotípico de la fuente de variación “cultivar”.

CM_x = Cuadrado medio fenotípico de la fuente de variación “cultivar” para la variable “x”.

CM_y = Cuadrado medio fenotípico de la fuente de variación “cultivar” para la variable “y”.

r_a = correlación ambiental

PMR_{xy} = Producto medio del “error”.

CMR_x = Cuadrado medio del “error” para la variable “x”.

CMR_y = Cuadrado medio del “error” para la variable “y”.

r_g = correlación genotípica

σ_{gxy} = estimador de covarianza genotípica entre “x” e “y”.

σ_{gx}^2 = estimador de varianza genotípica de “x”.

σ_{gy}^2 = estimador de varianza genotípica de “y”.

Adicionalmente se calculó el “error estándar de la correlación genotípica” de acuerdo a la siguiente fórmula (Falconer, 1990):

$$\sigma_{(r_g)} = \frac{1-r_g^2}{\sqrt{2}} \sqrt{\left(\frac{\sigma_{(H_x)}\sigma_{(H_y)}}{H_x H_x} \right)}$$

Donde:

$\sigma_{(r_g)}$ = “error estándar de la correlación genotípica”

r_g^2 = correlación genotípica al cuadrado

$\sigma_{(H_x)}$ = error estándar de la heredabilidad en sentido amplio del carácter “x”, siendo “x” la extensión de la lesión producida por *S. rolfsii*.

$\sigma_{(H_y)}$ = error estándar de la heredabilidad en sentido amplio del carácter “y”, siendo “y” la extensión de la lesión producida por *S. sclerotiorum*.

H_x = heredabilidad en sentido amplio del carácter “x”.

H_y = heredabilidad en sentido amplio del carácter “y”.

El modelo utilizado en el cálculo de las correlaciones y del error de la correlación genotípica contempló solamente bloques y poblaciones o cultivares (en función del tipo de ensayo).

En los “ensayos de taxonomía” las correlaciones se calcularon para ambas subespecies separadamente y luego conjuntamente.

Solo se utilizaron los datos que correspondían a plantas que fueron utilizadas en las 3 repeticiones de los ensayos de ambos patógenos.

RESULTADOS

ENSAYOS SOBRE EL MATERIAL FUNGICO

Ensayos de compatibilidad micelial: Los apareamientos en ambos patógenos se clasificaron fácilmente como compatibles o incompatibles al cabo de siete días. Las hifas de colonias del mismo aislamiento o de aislamientos compatibles se entrecruzaron estableciendo una zona de mayor densidad de micelio y los esclerocios se formaron sobre toda la superficie de ambas colonias. Esto puede observarse en las figuras 4 y 5.

Entre los aislamientos incompatibles se formó una clara “zona de rechazo”. Esta se observa como una zona en donde los micelios pierden densidad al entrar en contacto (Figuras 6 y 7).

Sobre esta “zona de rechazo” se observó la formación de mayor número de esclerocios en el caso de *S. sclerotiorum*, mientras que no ocurrió lo mismo en *S. rolfsii*.

En *S. rolfsii*, se establecieron dos grupos de compatibilidad micelial, uno que incluyó a los aislamientos SrM98-2 y SrM98-3 y el otro que solo incluyó a SrM98-1. El primer grupo presentó micelio más denso y menor número de esclerocios que el segundo. El aislamiento SrM98-2 produjo generalmente 3-4 esclerocios inmaduros (blanco-crema) por caja, al cabo de 25 días. Por su parte, SrM98-3 produjo 10 esclerocios maduros (promedio) al cabo de 15 días.

En *S. sclerotiorum*, se establecieron dos grupos de compatibilidad micelial, uno que incluyó a los aislamientos SsM98-1 y SsM98-2 y el otro que solo incluyó a SsC98-3. Las colonias de ambos grupos fueron morfológicamente similares.

Ensayos de velocidad de crecimiento:

Se ajustó una regresión lineal para describir el crecimiento de las cepas. Asimismo se realizó una prueba de pendientes para observar si las pendientes (tasas de crecimiento) de ambas cepas diferían a nivel estadístico.

Ambas tasas de crecimiento difirieron significativamente ($p=0,00001$). Las ecuaciones que describieron el crecimiento radial de la colonia correspondiente a cada aislamiento fueron las siguientes:

SrM98-1

$$\text{milímetros de crecimiento radial} = -5,4677 + 14,12 * \text{días} \quad (R^2 = 0,9721)$$

SrM98-3

$$\text{milímetros de crecimiento radial} = -4,4779 + 10,86 * \text{días} \quad (R^2 = 0,9505)$$

La ordenada al origen se debe a que entre la siembra de la púa y la primera medición se dan dos fases (“lag” y “exponencial”). Ambas son de corta duración y dan paso rápidamente a un crecimiento de tipo lineal (Fariña *et al.*, 1997). Como las mediciones de crecimiento se realizaron a partir de las 24 horas post-siembra, el modelo lineal no cuantificó estas dos fases iniciales (Koch, 1975). Por ello se buscó determinar si el modelo empleado describía correctamente el crecimiento a partir de este momento. Para esto se realizó una prueba de bondad de ajuste del modelo utilizando el error puro (lack of fit), para cada aislamiento. Ambas pruebas arrojaron valores de $p=0,1040$ y $p=0,1835$, estadísticamente no significativos. Por ello se consideró adecuado al modelo lineal para describir el crecimiento radial de las colonias de *S. rolfsii* a partir de las 24 horas post-siembra.

Con base en el modelo se estimó que realizando las tareas de repique sobre ambos aislamientos al mismo tiempo, la mayor cantidad de puas (trozos de periferia de la colonia) para inoculación se obtendría durante el tercer día post-siembra.

También se ajustó un modelo lineal para el crecimiento radial de las colonias de *S. sclerotiorum* y se determinó si existían diferentes tasas de crecimiento para cada aislamiento.

En base al test de pendientes se determinó que las pendientes de los aislamientos no diferían significativamente ($p=0,26$) entre sí.

El modelo lineal que describió el crecimiento radial de las colonias de *S. sclerotiorum* fue:

$$\text{milímetros de crecimiento radial} = -19,85 + 1,19 * \text{horas} \quad (R^2 = 0,97)$$

Al igual que con *S. rolfsii*, la ordenada al origen negativa sugirió la existencia de las dos fases antes mencionadas y que no fueron tenidas en cuenta por el modelo.

La prueba de bondad de ajuste para el modelo lineal fue no significativa ($p=0,3207$) indicando que el modelo lineal describió adecuadamente el crecimiento radial de las colonias de *S. sclerotiorum* a partir de las 24 horas post-siembra. Con base en el modelo se estimó que la mayor cantidad de púas (trozos de periferia de la colonia) para inoculación se obtendría durante el segundo día post-siembra.

Características morfológicas de los esclerocios:

Los 3 aislamientos de *S. rolfsii* utilizados pudieron distinguirse por sus características morfológicas. Al no participar SrM98-2 del ensayo de Velocidad de Crecimiento, no se evaluaron las variables relacionadas con la producción y las características de los esclerocios.

Se detectaron diferencias estadísticamente significativas para las variables relacionadas con la producción de esclerocios: “Gramos de esclerocios/caja” ($P=0.0001$) y “Peso promedio del esclerocio” ($P=0.0001$).

Pudo observarse que SrM98-3 produjo muy pocos esclerocios en comparación con SrM98-1, pero de mayor tamaño (Cuadro 3). Los esclerocios de ambos aislamientos también difirieron en color y coalescencia.

Cuadro 3 Producción de esclerocios y características de los mismos correspondientes a los aislamientos de <i>Sclerotium rolfsii</i>				
Aislamiento	Gramos de esclerocios/caja	Peso promedio del esclerocio (gr)	Color	Coalescencia
SrM98-1	0,10617 A	0,00016 B	Marrón oscuro	Sí
SrM98-3	0,00833 B	0,00074 A	Marrón claro	No
CV (%)	25,84	3,69		
DMS $\alpha=0,05$	0,019	2,14 ⁻⁵		

La mayor producción de esclerocios sobre Agar Papa Dextrosa del aislamiento SrM98-1 en comparación con SrM98-2 y SrM98-3 se repitió al multiplicar los aislamientos sobre rodajas de zanahoria (como ya se describió). Estos resultados y la mayor tasa de crecimiento de SrM98-1, determinaron que se utilizara este aislamiento para los ensayos de resistencia.

Entre los aislamientos de *S. sclerotiorum* no hubo diferencias morfológicas notorias a nivel de densidad de micelio. Las características relacionadas con la producción de esclerocios pueden observarse en el Cuadro 4.

Cuadro 4 Producción de esclerocios y características de los mismos correspondientes a los aislamientos de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>			
Aislamiento	Gramos de esclerocios/caja	Peso promedio del esclerocio (gr)	Número esclerocios/caja
SsM98-1	0,13080 ns	0,0032099 ns	41,333 ns
SsM98-2	0,13690	0,0029969	46,667
SsC98-3	0,14597	0,0035362	43,333
CV (%)	5,18	18,06	23,92

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre aislamientos en ninguna de las variables relacionadas con la producción de esclerocios (“Gramos de esclerocios/caja”, “Peso promedio del esclerocio” y “Número de esclerocios/caja”). La variable “Número de esclerocios/caja”, a pesar de ser discreta presentó una distribución aproximadamente normal, por lo que pudo realizarse su correspondiente ANOVA.

No hubo diferencias notorias en las características morfológicas de los esclerocios de los aislamientos.

Entre los aislamientos de *S. sclerotiorum* disponibles se utilizó a SsM98-1 para los distintos ensayos de resistencia. La elección se realizó al azar entre los aislamientos, ya que produjeron cantidades similares de esclerocios (tanto sobre Agar Papa Dextrosa como sobre zanahoria) y exhibieron igual tasa de crecimiento.

ENSAYOS SOBRE EL MATERIAL VEGETAL

Ensayos de determinación del comportamiento de diversos genotipos de maní frente a Sclerotinia sclerotiorum y Sclerotium rolfsii

La conducción de las parcelas a campo (destinadas a obtener estacas) fue adecuada. Las condiciones climáticas permitieron la expresión normal del fenotipo de cada material elegido.

La separación entre parcelas de 1,4 metros no alteró el fenotipo usual, mientras que permitió la extracción cómoda de estacas (particularmente bajo condiciones de suelo barroso) y menor daño a las parcelas al realizarse los tratamientos con agroquímicos.

El corte de las estacas se realizó en las primeras horas de la mañana, con lo cual las plantas se encontraban en buenas condiciones de balance hídrico. La colocación de las estacas en bolsas plásticas permitió que redujeran el estrés transpiratorio previo a ser deshojadas.

Ensayos preliminares

Ensayo preliminar n° 1: no se encontró asociación entre el “método de inoculación” y la variable “cantidad de nudos” ($P=1,000$). Tampoco entre “método” y “suculencia de la estaca” ($P=1,000$).

En las pruebas “t” no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos métodos para las variables “grosor de la estaca” ($P>|T| 0.7753$). De todo lo anterior pudo comprobarse que las estacas destinadas a ambos métodos no diferían significativamente en ninguna de las variables evaluadas.

Asimismo ambos métodos no difirieron significativamente en la variable “extensión de la lesión” ($P>|T| 0.3840$). Cuando no se excluyeron del análisis las 3 estacas que no exhibían lesión alguna (consideradas escapes), la probabilidad para la última variable fue de $P>|T| 0.0584$.

Ensayo preliminar n° 2: no se encontró asociación entre el “método de inoculación” y la variable “cantidad de nudos” en ninguno de los genotipos ($P=1,000$). Tampoco entre “método” y “suculencia de la estaca” ($P=1,000$).

En el ANOVA realizado para la variable “lessr” (eliminando los 3 datos correspondientes a estacas sin lesión), los factores “método” y “genotipo” y su interacción resultaron no significativos ($Pr>F= 0,6637, 0,8741$ y $0,5807$ respectivamente). La covariable “grosor de la estaca” resultó asimismo no significativa ($Pr>F= 0,4262$). Cuando se incluyeron los datos de estacas sin lesión aparente, los valores de probabilidad para los factores fueron $Pr>F= 0,1673, 0,5577$ y $0,43$. La covariable tampoco alcanzó significancia estadística ($Pr>F= 0,387$).

Ensayo preliminar n° 3: no se encontró asociación entre el “método de inoculación” y la variable “cantidad de nudos” en ninguno de los genotipos ($P=1,000$). Tampoco entre “método” y “suculencia de la estaca” ($P= 0,485$ y $1,000$ para ASEM 447 INTA y ASEM 485 INTA respectivamente).

En el ANOVA realizado para la variable “lesss” (eliminando los datos correspondientes a 2 estacas sin lesión), los factores “método” y “genotipo” y su interacción resultaron no significativos ($Pr>F= 0,9461$, $0,4608$ y $0,5452$ respectivamente). La covariable “grosor de la estaca” resultó asimismo no significativa ($Pr>F= 0,5958$). Cuando se incluyeron los datos de estacas sin lesión aparente, los valores de probabilidad para los factores fueron $Pr>F= 0,17$, $0,338$ y $0,3039$. La covariable tampoco alcanzó significancia estadística ($Pr>F= 0,6647$).

La capacidad operativa de los métodos empleados fue notoriamente distinta. Considerando todas las etapas (corte, deshojado e inoculación), por el método de Melouk *et al.* (1992) fue posible realizar 13 estacas/hora hombre. Para el método modificado fue de 15 estacas/hora hombre. Para la toma de resultados la capacidad operativa para cada método aumentó a 40 y 30 estacas/hora hombre respectivamente.

Se adicionó antibiótico (ampicilina) al Agar Papa Dextrosa de las “cajas de germinación” únicamente. La contaminación bacteriana solo fue notoria en estas cajas y no en las destinadas a obtener púas para inocular.

No se utilizaron estacas inoculadas con Agar Papa Dextrosa sin patógeno (controles). En los trabajos previos se observó que el Agar Papa Dextrosa solo no inducía efecto alguno sobre las estacas (datos no mostrados).

Las condiciones en las que fueron colocadas las estacas dentro de los tubos y en gradillas pueden observarse en las figuras 8 y 9. Algunas lesiones típicas causadas por ambos patógenos pueden observarse en las figuras 10 y 11.

ENSAYOS DE TAXONOMIA (Ensayos n°1 y 2)

En los ensayos de taxonomía se utilizaron poblaciones de 5 países (Argentina, Uruguay, Bolivia, Perú y Ecuador). Entre estas poblaciones estuvieron representadas diversas características morfológicas y zonas de origen (Tabla 2). En determinados casos, las poblaciones provinieron de zonas relativamente cercanas y con características agroclimáticas probablemente similares (REM 292, 293, 307, 314, 321; REM 4109, 4110; REM 1230, 1236).

Respecto de las características morfológicas de las poblaciones ensayadas, se observó gran variabilidad en todas las variables.

Las variables que caracterizaron a las estacas utilizadas mostraron los siguientes resultados:

Cantidad de nudos: las proporciones de cada categoría fueron muy distintas según la población que se considere (Tablas 4 y 5). Ello se debió básicamente a la pertenencia taxonómica de las poblaciones. En aquellas pertenecientes a las variedades botánicas “*fastigiata*” y “*vulgaris*” (incluidas en la subespecie “*fastigiata*”), hubo claro predominio de estacas con regular a gran cantidad de nudos. En las variedades botánicas “*hypogaea*” e “*hirsuta*” (pertenecientes a la subespecie “*hypogaea*”), predominaron las estacas con regular a pequeña cantidad de nudos.

Tabla nº 4: Frecuencias de las categorías de las variables evaluadas en el Ensayo nº 1

REM	var.bot.	denmisr			cantnusr			suculsr			groscastr			tipolesr		lessrc		
		laxo	interm.	denso	pocos	regular	muchos	poca	regular	mucha	finas	interm.	gruesas	2	3	pequeña	interm.	grande
1086	f	0	0,381	0,619	0	0,238	0,762	0,762	0,238	0	0	0,571	0,429	0,143	0,857	0,429	0,571	0
1170	f	0	0,048	0,952	0	0,333	0,667	0,762	0,238	0	0	0,095	0,905	0	1,000	0,048	0,666	0,286
1221	f	0,150	0,100	0,750	0	0,200	0,800	0,800	0,200	0	0	0,100	0,900	0,150	0,850	0,250	0,700	0,050
1230	f	0	0,143	0,857	0,095	0,333	0,571	0,762	0,238	0	0	0,381	0,619	0	1	0,048	0,619	0,333
1236	f	0,048	0,095	0,857	0	0,619	0,381	0,619	0,381	0	0	0,190	0,810	0	1	0,095	0,810	0,095
2536	f	0,143	0	0,857	0,333	0,667	0	0	0,286	0,714	0,571	0,429	0	0	1	0,095	0,762	0,143
3651	f	0	0,095	0,905	0	0,571	0,429	0,905	0,095	0	0	0	1	0	1	0,095	0,810	0,095
3687	f	0	0,286	0,714	0	0,381	0,619	0,857	0,143	0	0	0,048	0,952	0,143	0,857	0,238	0,714	0,048
291	v	0	0,300	0,700	0	0,350	0,650	0,750	0,250	0	0	0,900	0,100	0	1	0,200	0,800	0
292	v	0,048	0,095	0,857	0	0,238	0,762	0,762	0,238	0	0	1	0	0,048	0,952	0,095	0,800	0,095
293	v	0,048	0,333	0,619	0,238	0,762	0	0	0,714	0,286	0,190	0,810	0	0,048	0,952	0,286	0,714	0
307	v	0,048	0,095	0,857	0	0,714	0,286	0,762	0,238	0	0	0,333	0,667	0,095	0,905	0,095	0,905	0
314	v	0	0,048	0,952	0,238	0,762	0	0,619	0,333	0,048	0	0,714	0,286	0	1	0,048	0,714	0,238
321	v	0,048	0,142	0,810	0,286	0,714	0	0,762	0,238	0	0	0,476	0,524	0,095	0,905	0,190	0,810	0
4109	v	0,048	0,095	0,857	0	0,333	0,667	0,714	0,286	0	0	0,476	0,524	0,048	0,952	0,095	0,857	0,048
4110	v	0,048	0	0,952	0	0,381	0,619	0,238	0,762	0	0,048	0,905	0,047	0	1	0	0,476	0,524
535	h	0,142	0,048	0,810	0,238	0,762	0	0,048	0,857	0,095	0,333	0,667	0	0	1	0,095	0,810	0,095
564	h	0,048	0	0,952	0,714	0,286	0	0,048	0,666	0,286	0,238	0,762	0	0	1	0	0,571	0,429
664	h	0,048	0,048	0,904	0,333	0,667	0	0	0,714	0,286	0,619	0,381	0	0	1	0,048	0,714	0,238
692	h	0	0,095	0,905	0,619	0,381	0	0	0,714	0,286	0,048	0,952	0	0	1	0,095	0,905	0
694	h	0,048	0,095	0,857	0,762	0,238	0	0	0,238	0,762	0,524	0,476	0	0,095	0,905	0,143	0,667	0,190
704	h	0,095	0,048	0,857	0	0,429	0,571	0	0,762	0,238	0,381	0,619	0	0	1	0,048	0,857	0,095
2507	h	0,048	0	0,952	0	0,238	0,762	0,095	0,905	0	0	0,524	0,476	0,048	0,952	0,048	0,619	0,333
2512	h	0,048	0,048	0,904	0,286	0,714	0	0	0,714	0,286	0,429	0,571	0	0,048	0,952	0,048	0,571	0,381
2534	i	0,048	0,048	0,904	0,286	0,714	0	0	0,714	0,286	0,381	0,619	0	0,048	0,952	0,048	0,762	0,190
2535	i	0	0,190	0,810	0,381	0,619	0	0	0,667	0,333	0,619	0,381	0	0	1	0,143	0,714	0,143
3617	i	0,048	0,095	0,857	0,095	0,762	0,143	0,190	0,810	0	0	0,905	0,095	0,048	0,952	0,143	0,714	0,143
3618	i	0	0,050	0,950	0,500	0,500	0	0	0,350	0,650	0,350	0,650	0	0	1	0,100	0,700	0,200

Referencia: *fastigiata*; *vulgaris*; *hypogaea*; *hirsuta*

Tabla n° 5: Frecuencias de las categorías de las variables evaluadas en el Ensayo n° 2

REM	var.bot.	denmiss			grosccass			cantnuss			suculss			tipoless		lesssc			cambio	
		laxo	interm.	denso	fin	interm.	gruesa	pocos	regular	muchos	poca	regular	mucha	2	3	pequeñ	interm.	grande	si	no
1086	f	0,095	0,762	0,143	0,095	0,619	0,286	0	0,476	0,524	0,762	0,143	0,095	0,143	0,857	0,524	0,476	0	0,238	0,762
1170	f	0	0,619	0,381	0,048	0,333	0,619	0	0,524	0,476	0,762	0,190	0,048	0	1	0,571	0,333	0,095	0,190	0,810
1221	f	0	0,714	0,286	0,000	0,333	0,667	0	0,381	0,619	0,762	0,238	0	0,048	0,952	0,476	0,524	0	0,238	0,762
1230	f	0	0,476	0,524	0,048	0,476	0,476	0,095	0,429	0,476	0,619	0,333	0,048	0,048	0,952	0,238	0,762	0	0,190	0,810
1236	f	0	0,250	0,750	0,000	0,350	0,650	0,100	0,550	0,350	0,800	0,200	0	0,000	1	0,050	0,800	0,150	0	1
2536	f	0	0,524	0,476	0,762	0,238	0	0,429	0,571	0	0	0,238	0,762	0,048	0,952	0,190	0,810	0	0	1
3651	f	0,048	0,619	0,333	0	0,238	0,762	0	0,571	0,429	0,952	0,048	0	0,048	0,952	0,571	0,429	0	0,095	0,905
3687	f	0	0,238	0,762	0	0,524	0,476	0	0,571	0,429	0,714	0,286	0	0	1	0,095	0,857	0,048	0,048	0,952
291	v	0	0,667	0,333	0,333	0,619	0,048	0	0,476	0,524	0,714	0,286	0	0	1	0,476	0,476	0,048	0	1
292	v	0,050	0,350	0,600	0,200	0,800	0	0	0,450	0,550	0,750	0,250	0	0,050	0,950	0,300	0,500	0,200	0	1
293	v	0	0,429	0,571	0,333	0,667	0	0,333	0,667	0	0,190	0,667	0,143	0	1	0,143	0,857	0	0	1
307	v	0	0,524	0,476	0	0,381	0,619	0,048	0,714	0,238	0,762	0,238	0	0	1	0,190	0,714	0,095	0	1
314	v	0,095	0,333	0,571	0	0,857	0,143	0,300	0,700	0	0,650	0,350	0	0,048	0,952	0,190	0,810	0	0	1
321	v	0	0,286	0,714	0	0,857	0,143	0,238	0,762	0	0,714	0,238	0,048	0	1	0,143	0,857	0	0	1
4109	v	0,048	0,142	0,810	0	0,762	0,238	0	0,286	0,714	0,714	0,286	0	0	1	0,048	0,809	0,143	0	1
4110	v	0	0,143	0,857	0,238	0,762	0	0,048	0,476	0,476	0,143	0,714	0,143	0	1	0,048	0,524	0,428	0	1
535	h	0,048	0,142	0,810	0,381	0,619	0	0,333	0,667	0	0,238	0,619	0,143	0,048	0,952	0,048	0,714	0,238	0	1
564	h	0,048	0,095	0,857	0,333	0,667	0	0,619	0,381	0	0	0,667	0,333	0	1	0,048	0,428	0,524	0,095	0,905
664	h	0	0,050	0,950	0,476	0,524	0	0,333	0,667	0	0	0,714	0,286	0	1	0	0,667	0,333	0	1
692	h	0	0,238	0,762	0	1	0	0,524	0,476	0	0	0,762	0,238	0	1	0,095	0,905	0	0	1
694	h	0	0,048	0,952	0,381	0,619	0	0,619	0,381	0	0	0,238	0,762	0	1	0	0,619	0,381	0	1
704	h	0	0,095	0,905	0,190	0,810	0	0,048	0,333	0,619	0,190	0,762	0,048	0	1	0	0,857	0,143	0	1
2507	h	0,050	0,100	0,850	0	0,714	0,286	0	0,333	0,667	0,190	0,762	0,048	0	1	0	0,857	0,143	0	1
2512	h	0,048	0,048	0,904	0,524	0,476	0	0,429	0,571	0	0,095	0,619	0,286	0	1	0	0,619	0,381	0	1
2534	i	0,048	0,048	0,904	0,429	0,571	0	0,333	0,667	0	0	0,857	0,143	0,048	0,952	0,095	0,714	0,190	0	1
2535	i	0,048	0	0,952	0,524	0,476	0	0,381	0,619	0	0,048	0,762	0,190	0	1	0	0,714	0,286	0	1
3617	i	0,048	0,048	0,904	0	1	0	0	0,762	0,238	0,143	0,714	0,143	0,048	0,952	0,095	0,905	0	0,143	0,857
3618	i	0,048	0	0,952	0,286	0,714	0	0,667	0,333	0,000	0	0,238	0,762	0	1	0	0,286	0,714	0	1

Referencia: *fastigiata*; *vulgaris*, *hypogaea*, *hirsuta*

Suculencia de la estaca: se repitió un patrón similar al observado en la variable “cantidad de nudos de la estaca”. La influencia de la subespecie determinó que las poblaciones pertenecientes a la subespecie “*fastigiata*” presentaran estacas poco suculentas (salvo las poblaciones REM 293 y 2536); mientras que las poblaciones “*hypogaea*” mostraron estacas mayoritariamente de categoría “regular” (Tablas 4 y 5).

Grosor categórico de la estaca: en general se observaron tres grupos de poblaciones con grosores de estaca diferentes (Tablas 4 y 5). Las poblaciones “*fastigiata*” mostraron estacas gruesas (salvo la población 2536). Las poblaciones “*vulgaris*” mostraron estacas repartidas entre las categorías gruesas e intermedias. Las poblaciones “*hypogaea*” e “*hirsuta*” mostraron estacas de intermedias a finas.

Tipo de lesion: resultó notable el claro predominio de lesiones del tipo 3 (lesiones que rodean a las estacas) producidas por ambos patógenos. (Tablas 4 y 5).

En el caso de las lesiones producidas por *S. rolfsii*, ninguna población superó el 15% (3 estacas sobre 20 ensayadas) de estacas con lesión de tipo 2 (lesión restringida a un lado de la estaca). No se observaron lesiones de tipo 1 (lesiones superficiales menores a 2 mm).

Pudieron entonces observarse cuatro grupos de poblaciones, según el porcentaje de estacas con lesiones de tipo 2. Un primer grupo que presentó el 14,3 – 15% de estacas con lesiones tipo 2 (3 estacas sobre 20-21 ensayadas). Este primer grupo estuvo compuesto por tres poblaciones de la variedad “*fastigiata*” (2 de Bolivia y la restante de Perú). Un segundo grupo mostró un valor de 9,5% (2/21 estacas). Dos poblaciones “*vulgaris*” de Argentina y una “*hypogaea*” de Bolivia integraron este grupo. El tercer grupo mostró un valor de 4,8% (1 estaca sobre 21) y estuvo compuesto por tres poblaciones “*vulgaris*”, dos “*hirsuta*” y dos “*hypogaea*”. El cuarto grupo no presentó estacas con lesiones de tipo 2, sino solo tipo 3. En este grupo se encontraron poblaciones de las cuatro variedades botánicas y de todos los países ensayados.

En las lesiones producidas por *S. sclerotiorum*, solo se observaron tres grupos de poblaciones, según el porcentaje de estacas con lesiones de tipo 2. El primer grupo mostró 14,3% de estacas con lesión de tipo 2 (3/21). Estuvo integrado por una sola población (REM 1086) perteneciente a la variedad botánica “*fastigiata*”. Esta población mostró el mismo porcentaje de estacas con lesión de tipo 2 en el ensayo frente a *S. rolfsii* (Ensayo 1).

El segundo grupo mostró un 4,8-5% de estacas con lesión tipo 2 (1/21, 1/20). Estuvo integrado por cuatro poblaciones “*fastigiata*”, 2 “*vulgaris*”, 1 “*hypogaea*” y 2 “*hirsuta*”.

El tercer grupo, no mostró ninguna estaca con lesión de tipo 2. Todas ellas presentaron lesión que rodeaba la estaca (tipo 3). En este grupo estuvieron incluidas poblaciones de todas las variedades botánicas y países ensayados.

Extensión de la lesión producida por el patógeno expresada como variable categórica (lesc): pudo apreciarse claro predominio de las lesiones de tipo “intermedio” (Tablas 4 y 5).

En el ensayo N°1, hubo solo 2 poblaciones (una “*vulgaris*” y otra “*hypogaea*”) que no presentaron lesiones pequeñas y en ambos casos mostraron más del 40% de sus estacas con lesiones grandes. También pudo apreciarse un grupo de seis poblaciones (una “*fastigiata*”, cuatro “*vulgaris*” y una “*hypogaea*”) que no exhibieron lesiones grandes.

En el ensayo N°2, siete poblaciones (cinco “*hypogaea*” y dos “*hirsuta*”) no exhibieron lesiones pequeñas. De estas, 2 (REM 564 y 3618) superaron el 50% de estacas con lesiones grandes.

Por otra parte, diez poblaciones (cinco “*fastigiata*”, tres “*vulgaris*”, una “*hypogaea*” y una “*hirsuta*”) no presentaron lesiones grandes. Las poblaciones “*fastigiata*” de este grupo exhibieron lesiones pequeñas en mayor proporción que las de otras variedades botánicas.

Densidad del micelio formado por el patógeno (denmi): en el ensayo N°1, el tipo de micelio predominante fue el “denso” (Tablas 4 y 5). La mayoría de las poblaciones alcanzó porcentajes

superiores al 70% de formación de micelio denso sobre sus estacas. Sin embargo, siempre se registró al menos una estaca (4,8%) con micelio intermedio o laxo.

En el ensayo N°2, el micelio predominante fue del tipo denso, aunque la pertenencia taxonómica de las poblaciones influyó notoriamente (Tablas 4 y 5). Así, sobre las poblaciones "*fastigiata*" predominó el tipo de micelio intermedio y hubo solo dos (REM 1086 y 3651) que exhibieron micelio laxo.

Sobre las poblaciones pertenecientes a la subespecie "*hypogaea*" (variedades "*hypogaea*" e "*hirsuta*") el micelio predominante fue "denso". El tipo "intermedio" solo superó el 15% en una población (REM 692). Las poblaciones "*vulgaris*" exhibieron un patrón intermedio entre las "*fastigiata*" y las "*hypogaea*" e "*hirsuta*". Presentaron valores de micelio "intermedio" superiores al 28% (salvo en dos poblaciones que exhibieron 14,8% de estacas con micelio intermedio).

Porcentaje de plantas reemplazadas: resultó notoria la diferencia observada entre variedades (Tablas 4 y 5). Entre las poblaciones de la variedad "*fastigiata*", en cuatro de ellas debió cambiarse el 20% o más de las plantas entre ambos "ensayos de taxonomía". Ello se debió básicamente a que en ellas las ramas principales eran de mucho mayor grosor que las secundarias. Por ello, cada vez que se agotaban las ramas principales, se comenzaba a cortar estacas de las tres plantas sobrantes que se individualizaron antes de iniciar los cortes de estacas.

En el caso de las dos poblaciones que no pertenecían a la variedad "*fastigiata*" (REM 564 y 3617), se cambió de plantas por muerte de algunos ejemplares.

Para estudiar la relación existente entre las distintas variables registradas en ambos ensayos de taxonomía, se utilizó Análisis de Correspondencias Múltiples.

En una primera instancia se analizó como variable de implicancia taxonómica a “variedad botánica”. Posteriormente , se analizó la variable “subespecie”, la que reemplazó a “variedad botánica”.

Las distintas combinaciones de variables para las que se realizó Análisis de Correspondencias Múltiples y el correspondiente número de gráfico pueden apreciarse en la Tabla 6.

Tabla 6: Combinaciones de variables analizadas por Correspondencias Múltiples y sus correspondientes números de gráficos (para Ensayos de Taxonomía).				
<i>Variables analizadas</i>	Variables que tienen que ver con...	Gráficos Ensayo 1	Gráficos Ensayo 2	Gráficos ambos ensayos
<i>cantnu, succul, grosca</i>	estacas	no mostrado	no mostrado	1
<i>cantnu, succul, grosca, var</i>	estacas y <u>variedades</u>	no mostrado	no mostrado	2
<i>cantnu, succul, grosca, densmi</i>	estacas y micelio	3	4	5
<i>cantnu, succul, grosca, lesca</i>	estacas y lesión	6	7	8
<i>cantnu, succul, grosca, var, densmi</i>	estacas, <u>variedades</u> y micelio	9	10	11
<i>cantnu, succul, grosca, var, lesca</i>	estacas, <u>variedades</u> y lesión	12	13	14
<i>cantnu, succul, grosca, densmi, lesca</i>	estacas, micelio y lesión	15	16	17
<i>cantnu, succul, grosca, var, densmi, lesca</i>	estacas, <u>variedades</u> , micelio y lesión	18	19	20
<i>cantnu, succul, grosca, spp</i>	estacas y subespecie	no mostrado	no mostrado	21
<i>cantnu, succul, grosca, spp, densmi</i>	estacas, subespecie y micelio	22	23	24
<i>cantnu, succul, grosca, spp, lesca</i>	estacas, subespecie y lesión	25	26	27
<i>cantnu, succul, grosca, spp, densmi, lesca</i>	estacas, subespecie , micelio y lesión	28	29	30

Como primer paso para obtener un visión del conjunto de datos, se analizaron las variables relacionadas con el hospedante (grosor, cantidad de nudos y succulencia de las estacas).

Primeramente se analizó tomando en cuenta las variedades botánicas como variables taxonómicas. Posteriormente se las reemplazó por las subespecies. El patrón hallado entre las variables al analizar los datos de ambos ensayos separadamente (datos no mostrados), fue similar al hallado al analizar conjuntamente ambos, por lo que solo se informan de esta manera.

Pudo apreciarse la asociación de categorías entre todas las variables. (gráfico 1 Anexo). En general, las estacas se podrían reunir en tres grupos: estacas del tipo 1 (finas, de pocos nudos y alta succulencia), del tipo 3 (gruesas, con muchos nudos y poca succulencia) y del tipo 2 (intermedias en cuanto a grosor, cantidad de nudos y succulencia).

Al agregar al análisis la variable “variedad botánica” (gráfico 2 Anexo), también se repitió lo observado anteriormente. El patrón fue similar analizando ambos ensayos conjuntamente o no. Así pudo apreciarse que:

- 1- la variedad “*fastigiata*” se asoció a estacas del tipo 3.
- 2- la variedad “*vulgaris*” se asoció a estacas del tipo 2.
- 3- las restantes variedades no mostraron asociación notoria respecto de los grupos de estacas; aunque estuvieron equidistantes de los grupos de estacas 1 y 2.

En las variables relacionadas con la interacción hospedante-patógeno (“tipolesr”, “tipoleess”, “lescassr” y “lescass”), se observó gran desequilibrio de frecuencias entre categorías en las dos primeras variables. Consecuentemente se decidió no incluirlas en el análisis pues realizan una contribución muy alta en los resultados (Lebart *et al.*, 1984). Los gráficos 3 al 5 (Anexo) muestran la asociación entre características de las estacas y densidad del micelio.

En el ensayo 1 (gráfico 3) no se observó asociación notoria entre densidad del micelio y características de la estaca.

Al analizar el ensayo N°2 (gráfico 4), aparecen como asociadas las categorías de micelio denso y laxo de Ss con el tipo de estacas 2. El tipo de micelio intermedio se asocia a las estacas del grupo 3. Al analizar ambos ensayos conjuntamente (gráfico 5) pudo apreciarse que el micelio laxo de *S. sclerotiorum* se asoció a las estacas del tipo 2.

En el caso del ensayo 1, no se observó asociación notoria entre las características de las estacas y el tamaño de la lesión (gráfico 6 Anexo).

Cuando se analizó la asociación entre características de las estacas y la longitud de la lesión en el ensayo N°2 (gráfico 7 Anexo), pudo apreciarse que las lesiones pequeñas se asociaron a estacas del grupo 3, las lesiones intermedias a estacas del grupo 2 y las lesiones grandes a estacas del grupo 1. Ambos patrones pueden también apreciarse claramente al analizar ambos ensayos conjuntamente (gráfico 8 Anexo).

En los gráficos 9 al 11 (Anexo) se muestran los resultados al analizar al mismo tiempo las variables relacionadas con las características de las estacas, la densidad del micelio y las variedades botánicas. Cuando se analizaron por separado ambos ensayos se observó lo siguiente:

En el ensayo 1 volvieron a conformarse los 3 grupos de estacas (gráfico 9). La restante asociación notoria fue la del grupo de estacas 3 con la variedad “*fastigiata*”. Las variedades “*hypogaea*” e “*hirsuta*” se mostraron cercanas entre si y equidistantes de los grupos de estacas 1 y 2.

En el ensayo 2, el grupo de estacas 3 se asoció con la variedad “*fastigiata*” y con micelio intermedio (gráfico 10).

Al analizar ambos ensayos conjuntamente (gráfico 11) pudo apreciarse que los patrones fueron similares a los obtenidos al analizar las características de las estacas con ambas variables separadamente (gráficos 2 y 5). Esto es que “*fastigiata*” pareció asociarse a estacas del grupo 3 y en

menor medida a micelio intermedio de Ss y que “*hypogaea*” e “*hirsuta*” se mostraron cercanas entre si y equidistantes de los grupos 1 y 2.

En los gráficos 12 al 14 (Anexo) se muestran los resultados al analizar al mismo tiempo las variables relacionadas con las características de las estacas, variedad botánica y longitud de la lesión.

Cuando se analizó en ensayo 1 pudo apreciarse que la única asociación notoria (además de las que conforman los grupos de estacas) fue la de la variedad “*fastigiata*” con el grupo de estacas 3 (Gráfico 12). Adicionalmente, “*hypogaea*” e “*hirsuta*” se mostraron cercanas entre si y equidistantes de los grupos 1 y 2. “*vulgaris*” se posicionó cercana al grupo 2 de estacas.

En el ensayo 2 pudo apreciarse que (Gráfico 13):

- a- el grupo de estacas 3 se asoció a la variedad “*fastigiata*” y a lesiones pequeñas.
- b- el grupo de estacas 2 se asoció a la variedad “*vulgaris*” y a lesiones intermedias.
- c- las lesiones grandes estuvieron asociadas de manera débil al grupo 1 de estacas.
- d- las variedades “*hypogaea*” e “*hirsuta*” se mostraron equidistantes de las dos asociaciones anteriores (b- y c-)

Cuando se analizaron conjuntamente ambos ensayos para características de las estacas, variedad botánica y longitud de la lesión (gráfico 14) pudo apreciarse que hubo tres asociaciones notorias:

- a- entre las estacas del grupo 3, la variedad “*fastigiata*” y las lesiones pequeñas de Ss.
- b- entre las estacas del grupo 1 y lesiones grandes de Ss.
- c- entre estacas del grupo 2, la variedad “*vulgaris*” y lesiones intermedias de Ss.

En los gráficos 15 al 17 (Anexo) se muestran los resultados al analizar al mismo tiempo las variables relacionadas con las características de las estacas, densidad del micelio y longitud de la lesión.

Analizando el ensayo 1 (gráfico 15) pudo apreciarse que:

- a- los grupos de estacas no se asociaron notoriamente a ninguna característica de micelio o lesión.
- b- se asociaron lesión pequeña con micelio laxo e intermedio y lesión intermedia y grande con micelio denso.

En el ensayo 2 (gráfico 16) pudieron apreciarse las siguientes asociaciones:

- a- Las estacas del grupo 1 se asociaron débilmente a lesión grande.
- b- las estacas del grupo 3 con micelio intermedio. Más débilmente, ambas se asociaron a lesión pequeña.
- c- Las estacas del grupo 2 con lesión intermedia.

Cuando se analizaron ambos ensayos conjuntamente (gráfico 17), pudieron apreciarse las siguientes asociaciones:

- a- el grupo 3 de estacas con lesiones pequeñas y micelio intermedio de Ss.
- b- el grupo 1 de estacas con lesiones grandes de Ss.
- c- el grupo 2 de estacas con lesiones intermedias de Ss.
- d- aparecen asociados estrechamente micelio intermedio con lesión pequeña de Sr y por otro lado micelio denso y lesión intermedia de Sr.

En los gráficos 18 al 20 (Anexo) se muestran los resultados al analizar al mismo tiempo las variables relacionadas con las características de las estacas, variedad botánica, densidad del micelio y longitud de la lesión.

En el ensayo 1 (gráfico 18) pudieron apreciarse las siguientes asociaciones:

- a- estacas del grupo 3 con variedad "*fastigiata*".
- b- variedad "*hypogaea*" con "*hirsuta*" y equidistantes de los grupos 1 y 2.
- c- lesión pequeña con micelio intermedio.
- d- lesión intermedia con micelio denso.

En el ensayo 2 (gráfico 19) pudieron apreciarse las siguientes asociaciones:

- a- estacas del grupo 3 con variedad "*fastigiata*" y lesiones pequeñas.
- b- estacas del grupo 1 débilmente asociadas a lesiones grandes.

Cuando se consideraron ambos ensayos conjuntamente (gráfico 20) se apreciaron las siguientes asociaciones:

- a- el grupo de estacas 3 con variedad "*fastigiata*", con lesión pequeña y micelio intermedio de Ss.
- b- el grupo de estacas 2 con lesión intermedia de Ss.
- c- el grupo de estacas 1 de manera débil con lesión grande de Ss.

Al reemplazar la variable "variedad botánica" por "subespecie" como variable de implicancia taxonómica, pudo apreciarse que los patrones de asociación múltiples descritos anteriormente se mantuvieron prácticamente inamovibles.

La subespecie "*fastigiata*" se comportó de manera muy similar a la variedad botánica "*fastigiata*". De la misma manera, la subespecie "*hypogaea*" mostró un comportamiento similar al de las variedades "*hypogaea*" e "*hirsuta*" (gráficos 2, 9 al 14, 18 al 20, 21 al 30 Anexo).

Un resumen de lo hallado en los Análisis de Correspondencias Múltiples puede hallarse en la Tabla 7.

Algunos resultados notorios que pudieron percibirse a partir de los análisis de correspondencias múltiples fueron:

Los grupos de estacas se mantienen **siempre** y coinciden los del ensayo 1 y 2.

Las variedades botánicas muestran asociación respecto de los grupos de estacas y mantienen su posición **siempre** respecto de éstos. Este patrón se visualiza en ambos ensayos.

La densidad del micelio no exhibió patrón de asociación definido, salvo con lesión (particularmente en *S. rolfsii*).

el tamaño de la lesión se asocia fuertemente al tipo de estaca (en el caso de *S. sclerotiorum*)

Parecería que el tamaño de lesión en *S. sclerotiorum* está asociado al tipo de estacas y a través del tamaño de lesión se asociaría densidad de micelio y tipo de estaca.

El Análisis de Correspondencias Múltiples utilizando como variable taxonómica a “subespecie” en lugar de “variedad botánica” no modifica sustancialmente los patrones observados.

Los patrones observados al analizar primeramente las variables relacionadas con la morfología de las estacas se modifican poco al ir agregando nuevas variables

Tabla 7: Resumen de los resultados de los Análisis de Correspondencias realizados sobre los ensayos de taxonomía			
VARIABLES QUE TIENEN QUE VER CON...	Ensayo 1	Ensayo 2	Ambos Ensayos
Estacas	Asociación conformando tres tipos de estacas	Asociación conformando tres tipos de estacas	Asociación conformando tres tipos de estacas
estacas y variedades	<i>fastigiata</i> con tipo 3 <i>vulgaris</i> con tipo 2 <i>hypogaea</i> e <i>hirsuta</i> equidistantes de tipos 1 y 2	<i>fastigiata</i> con tipo 3 <i>vulgaris</i> con tipo 2 <i>hypogaea</i> e <i>hirsuta</i> equidistantes de tipos 1 y 2	<i>fastigiata</i> con tipo 3 <i>vulgaris</i> con tipo 2 <i>hypogaea</i> e <i>hirsuta</i> equidistantes de tipos 1 y 2
estacas y lesión	Sin asociación	lesiones pequeñas con tipo 3 lesiones intermedias con tipo 2 y lesiones grandes con tipo 1	lesiones pequeñas de S.scl. con tipo 3 lesiones intermedias de S.scl. con tipo 2 lesiones grandes de S.scl. con tipo 1
estacas y micelio	Sin asociación	micelio denso y laxo con tipo 2 micelio intermedio con tipo 3	micelio laxo de Ss con tipo 2
estacas, variedades y micelio	<i>fastigiata</i> con tipo 3 <i>hypogaea</i> e " <i>hirsuta</i> " cercanas y equidistantes de grupo 1 y 2	<i>fastigiata</i> con tipo 3 y micelio intermedio <i>hypogaea</i> e " <i>hirsuta</i> " cercanas y equidistantes de grupo 1 y 2	<i>fastigiata</i> con tipo 3 y micelio intermedio de Ss <i>hypogaea</i> e " <i>hirsuta</i> " cercanas y equidistantes de grupo 1 y 2
estacas, variedades y lesión	<i>fastigiata</i> con tipo 3 <i>hypogaea</i> e " <i>hirsuta</i> " cercanas y equidistantes de grupo 1 y 2 <i>vulgaris</i> cercana al grupo 2	<i>fastigiata</i> con tipo 3 y lesiones pequeñas <i>vulgaris</i> con tipo 2 y lesiones intermedias lesiones grandes débilmente con tipo 1 <i>hypogaea</i> e " <i>hirsuta</i> " cercanas y equidistantes de grupo 1 y 2	<i>fastigiata</i> con tipo 3 y lesiones pequeñas de Ss <i>vulgaris</i> con tipo 2 y lesiones intermedias de Ss lesiones grandes de Ss con tipo 1 <i>hypogaea</i> e " <i>hirsuta</i> " equidistantes de las dos asociaciones anteriores

Tabla 7: Continuación			
estacas, micelio y lesión	lesión pequeña con micelio laxo e intermedio lesión intermedia con micelio denso	tipo 1 (débilmente) con lesión grande tipo 3 con micelio intermedio y (más débilmente) con lesión pequeña tipo 2 con lesión intermedia	tipo 3 con lesiones pequeñas y micelio intermedio de Ss tipo 2 con lesiones intermedias de Ss tipo 1 con lesiones grandes de Ss micelio intermedio con lesión pequeña de Sr micelio denso con lesión intermedia de Sr
estacas, variedades, micelio y lesión	<i>fastigiata</i> con tipo 3 <i>hypogaea</i> e " <i>hirsuta</i> " cercanas y equidistantes de grupo 1 y 2 lesión pequeña con micelio intermedio lesión intermedia con micelio denso	<i>fastigiata</i> con tipo 3 y lesión pequeña tipo 1 (débilmente) con lesión grande	<i>fastigiata</i> con tipo 3, lesión pequeña y micelio intermedio de Ss tipo 2 con lesión intermedia de Ss tipo 1 (débilmente) con lesión grande de Ss

Cuando sobre ambos ensayos se realizaron análisis de agrupamiento, pudo observarse que:

1- Cuando se analizó por la variable *lessr*: Siete poblaciones de la subespecie “*fastigiata*” (4 “*vulgaris*” y 3 “*fastigiata*”) mostraron un comportamiento bien diferenciado del resto de las poblaciones, conformando una rama separada del resto a 1,42 de distancia (Figura 12). Dentro de esta rama no se ubicaron las poblaciones “*vulgaris*” uruguayas (REM 4109 y 4110) así como tampoco dos poblaciones “*vulgaris*” de Corrientes (Argentina). Tres de las cuatro poblaciones “*hirsuta*” aparecen agrupadas más o menos estrechamente. No se observó relación alguna entre caracteres morfológicos (evaluados por el BAGMM) y agrupamiento en base a lesión producida por ambos patógenos.

2- Cuando se analizó por la variable *lesss*: cinco poblaciones “*hypogaea*” más 2 “*hirsuta*” y una “*vulgaris*” conformaron una rama diferenciada del resto a 1,33 de distancia (Figura 13). Sobre la otra rama, al disminuir la distancia euclídea, las poblaciones de la subespecie “*fastigiata*” tienden a separarse de las “*hypogaea*” remanentes (REM 535, 692, 2507, 2534 y 3617). Así, a 0,44 de distancia se encuentran agrupadas las poblaciones “*hypogaea*” junto con solamente una población “*fastigiata*”. La restante población “*hypogaea*” está aún junto a las “*fastigiata*”.

Entre ambos árboles no hay similitudes notorias.

La cercanía de los lugares de origen no implicó parecido morfológico o de comportamiento frente a los patógenos. Así, poblaciones que provenían de lugares geográficamente muy cercanos (4109 y 4110; 1230 y 1236; 2534 y 2535) mostraron diferencias a nivel morfológico (cf. Tabla 2) y de comportamiento. El parecido morfológico externo no mostró relación alguna con el comportamiento frente a los patógenos ensayados.

Los distintos niveles taxonómicos mostraron valores medios y variabilidades diferentes para las variables “lessr” y “lesss” (Cuadro 5).

Cuadro 5: Estadísticos descriptivos para las lesiones producidas por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Sclerotium rolfsii</i> en los “ensayos de taxonomía”						
Nivel	valor medio de “lessr” (mm.)	desv. estándar de “lessr” (mm.)	CV de “lessr”	valor medio de “lesss” (mm.)	desv. estándar de “lesss” (mm.)	CV de “lesss”
<i>subespecie</i>						
<i>fastigiata</i>	55,05	12,23	22,21%	43,18	8,95	20,73%
<i>hypogaea</i>	59,52	11,88	19,96%	53,04	8,96	16,89%
<i>variedad</i>						
<i>fastigiata</i>	55,08	12,22	22,18%	41,26	8,08	19,59%
<i>vulgaris</i>	55,02	12,28	22,32%	45,11	9,38	20,79%
<i>hypogaea</i>	59,51	11,76	19,76%	52,71	8,55	16,22%
<i>hirsuta</i>	59,53	12,20	20,49%	53,69	9,75	18,15%

Las subespecies exhibieron valores de resistencia marcadamente diferentes, particularmente frente a *S. sclerotiorum*.

Los coeficientes de variación observados en ambas variables fueron ligeramente inferiores en la subespecie “*hypogaea*”.

Pudo apreciarse fácilmente la similitud en los valores de ambas variables, mostrados por variedades pertenecientes a la misma subespecie (salvo tal vez en el caso de la media de “lesss” de la variedad “*fastigiata*”).

A nivel de poblaciones, los coeficientes de variación extremos fueron 14,51% y 31,01% para “lessr”. Para “lesss” los valores extremos fueron 10,20% y 25,34%.

El coeficiente de variación general bajo el modelo utilizado fue de 19,46% y 17,01% para lessr y lesss respectivamente.

En los Análisis de la varianza de los Ensayos de Taxonomía (ensayos n° 1 y n°2), el grosor de la estaca fue incluida como covariable, resultando no significativa (datos no mostrados).

Consecuentemente se utilizó un modelo sin incluir esta variable.

En el ensayo de comportamiento frente a *S. rolfsii* (ensayo n° 1), bajo el modelo propuesto (contemplando ambas subespecies juntas), solo el factor “población” aporta de manera estadísticamente significativa a la varianza del carácter (Cuadro 6).

Cuadro 6: Análisis de la Varianza de la Longitud de la lesión por *Sclerotium rolfsii* (ensayo n°1)

Fuente de Variación	Grados de libertad	SC Tipo III	CM	F	Pr > F
Subespecie	1	2588,92	2588,92	4,13	0,0534
Var. Bot.(Subespecie)	2	2,70	1,35	0	0,9979
Población(Var.Bot.)	24	15047,11	626,96	6,36	0,0001
Planta(Población)	168	16557,06	98,55	0,80	0,9498
Bloque	2	5742,06	2871,03	23,37	0,0001
Error	387	47545,44	122,86		
Total	584	87951,32			

También se observó muy cercano a la significancia estadística al factor “subespecie”. La diferencia entre ambas subespecies ya fue remarcada con anterioridad (Cuadro 5). También resultó importante el valor de “Pr>F” del factor “bloque”, lo que resalta la importancia del momento de corte-inoculación.

Las fuentes de variación “variedad botánica” y “planta” presentaron valores de “Pr>F” elevados.

En el ensayo de comportamiento frente a *S. sclerotiorum* (ensayo n° 2) la significancia estadística de los factores resultó similar a la del ensayo n° 1. Así, el efecto del factor “subespecie” sobre el carácter “extensión de la lesión por *S. sclerotiorum*” es significativamente distinto de cero. De la misma manera, el factor “población” aporta de manera estadísticamente significativa a la varianza del carácter (Cuadro 7).

Cuadro 7: Análisis de la Varianza de la Longitud de la lesión por *Sclerotinia sclerotiorum* (ensayo n°2)

Fuente de Variación	Grados de libertad	SC Tipo III	CM	F	Pr > F
Subespecie	1	13513,43	13513,43	34,33	0,0001
Var. Bot.(Subespecie)	2	1323,45	661,72	1,68	0,2074
Población(Var.Bot.)	24	9446,88	393,62	6,41	0,0001
Planta(Población)	168	10310,91	61,37	0,94	0,6652
Bloque	2	481,33	240,67	3,70	0,0256
Error	388	25241,70	65,06		
Total	585	60764,73			

También resultó elevado el valor de “Pr>F” del factor “bloque”, al igual que lo ocurrido en el ensayo n° 1.

Las fuentes de variación “variedad botánica” y “planta” presentaron valores de “Pr>F” estadísticamente no significativos, aunque ligeramente inferiores al ensayo frente a *S. rolfsii*.

ENSAYOS DE ANTIGÜEDAD (Ensayos nº 3 y 4).

Sobre ambos ensayos de antigüedad se realizaron Análisis de Correspondencias Múltiples. Del análisis se excluyeron las variables “densidad del micelio” (densmi) y “tipo de lesión” (tipole) por presentar gran desequilibrio de frecuencias entre categorías (Lebart *et al.*, 1984).

Las distintas combinaciones de variables para las que se realizaron estos análisis y el correspondiente número de gráfico pueden apreciarse en la tabla 8.

Tabla 8: Combinaciones de variables analizadas por Correspondencias Múltiples y sus correspondientes números de gráficos (para Ensayos de Antigüedad).				
<i>Variables analizadas</i>	Variables que tienen que ver con...	Gráficos Ensayo 3	Gráficos Ensayo 4	Gráficos ambos ensayos
<i>cantnu, sucul, grosca</i>	estacas	no mostrado	no mostrado	31
<i>cantnu, sucul, grosca, cv</i>	estacas y cultivares	no mostrado	no mostrado	32
<i>cantnu, sucul, grosca, lesca</i>	estacas y lesión	33	34	35
<i>cantnu, sucul, grosca, cv, lesca</i>	estacas, cultivares y lesión	36	37	38

Primeramente se analizaron las variables relacionadas con el hospedante (grosor, cantidad de nudos y succulencia de las estacas). El patrón hallado en ambos ensayos separadamente (datos no mostrados), fue similar al hallado al analizar conjuntamente ambos, por lo que solo se informan de esta manera.

Al igual que lo observado en los ensayos de taxonomía, las estacas se podrían reunir en tres grupos (Gráfico 31): estacas del tipo 1 (finas, de pocos nudos y alta succulencia), del tipo 3 (gruesas, con muchos nudos y poca succulencia) y del tipo 2 (intermedias en cuanto a grosor, cantidad de nudos y

suculencia). La asociación correspondiente al tipo 3 es menos notoria que en los de taxonomía por la frecuencia poco importante de la categoría “gruesas” de la variable “grosca”.

Al agregar al análisis la variable “cultivar” (gráfico 32), pudo apreciarse que:

- a- Las estacas tipo 3 se asociaron a los cultivares Blanco Santa Fe, Starr, Mf478 y Mf480.
- b- el resto de los cultivares se ubicó más cercano al tipo de estacas intermedio, con la excepción de Manfredi Virginia 7 (MfVg7), NC9 y Tamrun88 (Tam88). Estos tres últimos se ubicaron equidistantes de los tipos de estacas 1 y 2.

En cuanto a la asociación entre características de la estacas y el tamaño de la lesión, en el ensayo 1 solo se observó asociación notoria entre las lesión grande y estacas tipo 1 (gráfico 33).

Cuando se analizó la asociación entre características de las estacas y la longitud de la lesión en el ensayo 2 (gráfico 34), no pudieron apreciarse asociaciones claras.

Al analizar ambos ensayos conjuntamente (gráfico 35), dejó de ser notoria la única asociación clara que se había observado al analizarlos separadamente (lesión grande de *S. rolfsii* con estacas tipo 1).

En los gráficos 36 al 38 se muestran los resultados al analizar al mismo tiempo las variables relacionadas con las características de las estacas, cultivares y longitud de la lesión.

Cuando se analizó en ensayo 1 pudo apreciarse que hubo dos asociaciones notorias (gráfico 37). La primera fue la de lesión grande con estacas tipo 1. Entre los cultivares aparece MfVg7 de manera cercana a esta asociación.

La segunda asociación notoria (ya descrita en el gráfico 32) de estacas tipo 3 con los cultivares Blanco Santa Fe, Starr, Mf478 y Mf480.

Al analizar el ensayo n°4 (gráfico 38), no se observaron asociaciones notorias a excepción de la ya descrita entre estacas tipo 3 y los 4 cultivares mencionados más arriba. Al analizar ambos ensayos conjuntamente (gráfico 36) solo resultó notoria la asociación entre estacas tipo 3 y los 4 cultivares ya mencionados.

Un resumen de lo hallado en los Análisis de Correspondencias Múltiples puede hallarse en la Tabla 9.

Algunos resultados notorios que pudieron percibirse a partir de los análisis de correspondencias múltiples fueron:

al igual que lo observado en los ensayos de taxonomía, los grupos de estacas se mantienen siempre y coinciden en los ensayos de ambos patógenos.

La asociación entre el tipo de estacas 3 y los cultivares Blanco Santa Fe, Starr, Mf478 y Mf480 se mantiene de manera fuerte en todos los análisis.

Tabla 9: Resumen de los resultados de los Análisis de Correspondencias realizados sobre los ensayos de antigüedad

Variables que tienen que ver con...	Ensayo 3	Ensayo 4	Ambos Ensayos
estacas	Asociación conformando tres tipos de estacas	Asociación conformando tres tipos de estacas	Asociación conformando tres tipos de estacas
estacas y cultivares	idem gráfico 2	Idem gráfico 2	estacas tipo 3 con 4 cultivares 3 cultivares equidistantes de estacas tipo 1 y 2 El resto de los cultivares asociados a estacas tipo 2
estacas y lesión	lesión grande y estacas tipo 1	sin asociación	sin asociación
estacas, cultivares y lesión	lesión grande y estacas tipo 1, débilmente asociado aparece MfVg7 estacas tipo 3 con 4 cultivares	Estacas tipo 3 con 4 cultivares	estacas tipo 3 con 4 cultivares

En los ensayos de antigüedad ambos grupos de cultivares (antiguos y actuales) mostraron valores medios, desviaciones estándar y coeficientes de variación muy similares (Cuadro 8). Al calcular los mismos estadísticos tomando en cuenta los cultivares, pudieron observarse valores extremos no demasiado alejados de los mostrados en el citado cuadro. Así para “lessr”, los valores de CV extremos fueron 7,25% y 18,70%; mientras que para “lesss” fueron de 6,32% y 13,28%.

Cuadro 8: Estadísticos descriptivos para las variables “lessr” y “lesss” en los “ensayos de antigüedad”						
Nivel	valor medio de “lessr” (en mm.)	desv. estándar de “lessr” (en mm.)	CV de “lessr”	valor medio de “lesss” (en mm.)	desv. estándar de “lesss” (en mm.)	CV de “lesss”
<i>grupo</i>						
viejos	53,78	6,96	12,94%	52,62	6,72	12,76%
nuevos	53,52	5,89	11,01%	53,47	6,63	11,90%

El coeficiente de variación general bajo los modelos utilizados fue de 10,62 % y 9,61% para lessr y lesss respectivamente.

Cuando sobre ambos ensayos de antigüedad se realizaron ANOVAS tomando en cuenta los factores “antigüedad”, “cultivar”, “planta” y “bloque”, pudo observarse lo siguiente:

El grosor de la estaca fue incluida como covariable, resultando significativa ($P = 0,0129$) en el ensayo n°4. Por ello, solo el modelo utilizado en este ensayo la incluye.

En el ensayo de comportamiento de los distintos cultivares frente a *S. rolfsii* (ensayo n° 3), los factores “cultivar” y “planta” aportaron de manera estadísticamente significativa a la varianza del carácter “extensión de la lesión por *S. rolfsii*”. (Cuadro 9).

El factor “bloque” mostró un valor “Pr>F” muy elevado.

Cuadro 9: Análisis de la Varianza de la Longitud de la lesión por <i>Sclerotium rolfsii</i> (ensayo n°3)					
Fuente de Variación	Grados de libertad	SC Tipo III	CM	F	Pr > F
Grupo	1	6,88	6,88	0,04	0,8414
Cultivar(Grupo)	18	3006,98	167,05	3,77	0,0001
Planta(Cultivar)	120	5311,63	44,26	1,36	0,0199
Bloque	2	0,16	0,08	0	0,9976
Error	276	8965,51	32,48		
Total	417	17300,70			

En el ensayo de comportamiento de los distintos cultivares frente a *S. sclerotiorum* (ensayo n° 4), solo resultó estadísticamente significativo el factor “cultivar” (Cuadro 10).

Cuadro 10: Análisis de la Varianza de la Longitud de la lesión por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (ensayo n°4)					
Fuente de Variación	Grados de libertad	SC Tipo III	CM	F	Pr > F
Grupo	1	31,25	31,25	0,11	0,7442
Cultivar(Grupo)	18	5123	284,61	11,72	0,0001
Planta(Cultivar)	120	2913,23	24,28	0,93	0,6648
Grosor	1	162,95	162,95	6,26	0,0129
Bloque	2	69,19	34,59	1,33	0,2663
Error	276	7181,75	26,02		
Total	418	17884,71			

También resultó significativa la covariable “grosor de la estaca”. A diferencia de lo ocurrido en el ensayo n° 3, el factor “planta” no aportó de manera estadísticamente significativa a la varianza del carácter “extensión de la lesión por *S. sclerotiorum*”. Asimismo, el valor de “Pr>F” del factor “bloque” fue inferior al observado en el ensayo n° 3.

Cuando se analizaron ambos ensayos por cluster, pudo apreciarse la inconsistencia del parentesco para explicar el comportamiento de los cultivares en los ensayos de antigüedad. En la línea genealógica en que más integrantes se evaluaron: abuelo, hijo y nietos (Early Runner, Florman, Mf

484 y Mf 485) pudo observarse que frente a *S. sclerotiorum* los comportamientos más parecidos se observaron entre abuelo (Early Runner) y nieto (Mf 485) (Figura 14). Frente a *S. rolfsii*, los comportamientos más parecidos fueron exhibidos por padre (Florman) e hijo (Mf 485) (Figura 15).

En otra genealogía estuvo formada por Florigiant (padre), NC9 (hija) y Manfredi Virginia 4 (selección individual sobre Florigiant). En ella, los cultivares Florigiant y NC9 exhibieron comportamientos similares frente a *S. sclerotiorum*, mientras que Manfredi Virginia 4 se comportó ligeramente distinto, aunque integrando un agrupamiento estrecho (Figura 14).

Frente a *S. rolfsii*, estos tres cultivares exhibieron comportamientos bastante disímiles (Figura 15), conformando agrupamientos muy alejados.

En la genealogía formada por Early Runner (abuelo) y Tamrun 88 (nieto), ambos cultivares exhibieron comportamientos muy diferentes. Frente a ambos patógenos se comportó mejor Early Runner.

Florman es un cultivar obtenido por selección individual sobre el cultivar Florunner (Giandana, com. pers.) y está estrechamente relacionado con Tamrun 88, SunOleic 95R y Georgia Green (Figura 16). Sin embargo, la genealogía parece no haber influido demasiado sobre el comportamiento frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*, pues los agrupamientos no reflejan tendencia relacionada con el pedigree (Figuras 14 y 15). Florman se comportó como más resistente frente a *S. rolfsii* y fue el segundo más susceptible frente a *S. sclerotiorum*.

Resumiendo podríamos decir que los dendrogramas no sugieren patrón alguno relacionado con el pedigree. El agrupamiento en función de la extensión de la lesión causada por ambos patógenos no reflejó incidencia del parentesco o de la antigüedad de los cultivares evaluados.

HEREDABILIDAD DE Y CORRELACIONES ENTRE LAS RESISTENCIAS A *S. rolfsii*

Y S. sclerotiorum

CALCULO A PARTIR DE LOS ENSAYOS DE TAXONOMIA

Habida cuenta de la significancia de cada factor en los ANOVA realizados sobre los ensayos de comportamiento frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*, se decidió calcular las heredabilidades y correlaciones a partir de un modelo que contempló solamente bloques y poblaciones o cultivares (en función del tipo de ensayo).

Los valores encontrados para las heredabilidades de ambos caracteres fueron altos (Tabla 10). La heredabilidad más baja correspondió a la subespecie "*hypogaea*" en el carácter "lessr". Este valor fue notoriamente menor que el resto de las heredabilidades calculadas. Los errores estándares fueron muy pequeños en relación a las heredabilidades. Fue notorio el parecido en los valores entre ambos caracteres (salvo para la subespecie "*hypogaea*").

En el caso de las correlaciones (Tabla 11), los valores observados a nivel de correlación ambiental fueron exigüos (alcanzando incluso valor 0).

En la correlación fenotípica, el valor de la subespecie "*hypogaea*" fue sustancialmente menor al de "*fastigiata*". El valor al calcular sin discriminar por subespecie fue superior a los calculados para cada subespecie.

Los valores de correlación genotípica fueron superiores a los de la correlación fenotípica. Aquí también "*hypogaea*" mostró el menor valor y la correlación calculada sin discriminar subespecie arrojó valores superiores a los obtenidos tomando las subespecies separadamente.

El error estándar de la correlación genotípica fue pequeño en comparación con los valores de la propia correlación. La subespecie "*hypogaea*" mostró un error estándar muy superior a "*fastigiata*" o al calculado sin subespecie.

Tabla 10: Heredabilidades de las variables “lessr” y “lesss” en los “ensayos de taxonomía”						
<i>Parámetro</i>	<i>lessr</i>			<i>lesss</i>		
	<i>fastigiata</i>	<i>hypogaea</i>	ambos	<i>fastigiata</i>	<i>hypogaea</i>	ambos
Heredabilidad en sentido amplio (H)	0,86	0,51	0,82	0,85	0,82	0,92
Error estándar de H	0,04	0,05	0,03	0,04	0,05	0,02

Tabla 11: Correlaciones entre las variables “lessr” y “lesss” en los “ensayos de taxonomía”			
<i>Parámetro</i>	<i>fastigiata</i>	<i>hypogaea</i>	ambos
Correlación fenotípica	0,53	0,38	0,58
Correlación ambiental	0,02	0,01	0
Correlación genotípica	0,61	0,58	0,66
Error estándar de la Correlación genotípica	0,02	0,04	0,01

CALCULO A PARTIR DE LOS ENSAYOS DE ANTIGUEDAD

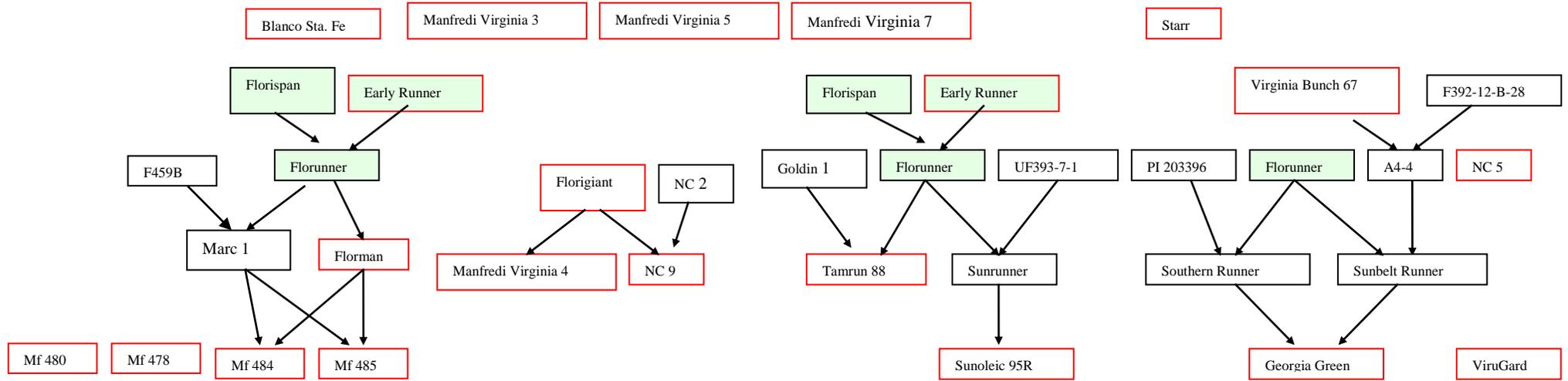
Los valores de heredabilidad obtenidos y sus errores estándares (Tabla 12) fueron altos y similares a obtenidos en los ensayos de taxonomía; siendo la heredabilidad de “lesss” superior a la de “lessr”.

En el caso de las correlaciones (Tabla 12), los valores fueron similares a los obtenidos en los ensayos de taxonomía.

El error estándar de la correlación genotípica fue pequeño y similar en magnitud al obtenido al tomar (en el ensayo de taxonomía) ambas subespecies conjuntamente.

Tabla 12: Heredabilidad y correlaciones de las variables “lessr” y “lesss” en los “ensayos de antigüedad”		
<i>Parámetro</i>	<i>lessr</i>	<i>lesss</i>
Heredabilidad en sentido amplio (H)	0,77	0,93
Error estándar de H	0,04	0,02
Correlación fenotípica	0,60	
Correlación ambiental	0,03	
Correlación genotípica	0,71	
Error estándar de la Correlación genotípica	0,01	

FIGURA 16: PARENTESCO ENTRE LOS PARTICIPANTES DEL ENSAYO DE CULTIVARES



NOTA: Los genotipos utilizados en los ensayos de cultivares se encuentran en las cajas de borde rojo. Las cajas de fondo amarillo corresponden a cultivares que se repiten

DISCUSION:

Entre los aislamientos de *S. sclerotiorum* ensayados, no hubo diferencias a nivel de esclerocios (forma, gramos/caja, peso promedio, número/caja) ni a nivel de tasa de crecimiento. Solo el ensayo de compatibilidad mostró como distinto a SsC98-3 respecto de los dos restantes. Esta reducida variabilidad en los distintos caracteres es poco usual aún en aislamientos del mismo lote, debido a la fase de reproducción sexual de este patógeno (Kohn *et al.*, 1991).

En el caso de *S. rolfsii*, los aislamientos compatibles provinieron de cultivos similares y zonas cercanas. La importancia en la naturaleza de la fase sexual de esta especie aún no ha sido establecida, aunque se estima muy baja (Harlton *et al.*, 1995). Por ello es usual encontrar que aislamientos de la misma zona geográfica pertenezcan a un mismo grupo de compatibilidad, básicamente debido a reproducción clonal (Harlton *et al.*, 1995). Si bien Kohn *et al.* (1991) consideran que cada grupo de compatibilidad micelial es una “identidad genética”, no parece esta una explicación adecuada a la compatibilidad entre SrM98-2 y SrM98-3. Esto atento a que ambos aislamientos difieren en su capacidad de producir esclerocios (casi nula en el caso de SrM98-2). Por lo tanto puede afirmarse que no estamos en presencia de aislamientos idénticos.

En algunos trabajos se ha evaluado gran número de aislamientos de *S. rolfsii* respecto de caracteres relacionados con la reproducción (“Gramos de esclerocios/caja”, “Peso promedio del esclerocio” y “Número de esclerocios/caja”, color y coalescencia de los esclerocios) (Punja & Damiani, 1996; Hernandez Medina y Herrera Ysla, 1997), encontrándose notable variabilidad entre aislamientos. En el presente trabajo, a pesar de ensayarse solo dos aislamientos, éstos difirieron notablemente.

Comparando el número de esclerocios/caja, los valores obtenidos por Hernandez Medina y Herrera Ysla (1997) fueron intermedios entre los exhibidos por los dos aislamientos ensayados aquí. Los

valores de SrM98-1 fueron similares a los registrados por Punja & Damiani (1996) para sus aislamientos más productivos. Sin embargo, estos autores citan una producción total de esclerocios promedio por caja ligeramente superior a la exhibida por SrM98-1.

No se cita en la bibliografía un aislamiento (obtenido a campo) con tan baja producción de esclerocios como SrM98-2 o SrM98-3. Tal característica suele observarse como resultado de mutaciones en un aislamiento que se ha repicado en numerosas ocasiones en un medio rico como Agar Papa Dextrosa (Punja & Rahe, 1992). Sin embargo, ambos aislamientos mostraron esta característica tan pronto como los esclerocios de campo fueron multiplicados sobre rodajas de zanahoria, por lo que esta explicación resulta poco probable.

La tasa de crecimiento registrada por ambos patógenos se ajustó a un modelo lineal, tal como lo informado para otros hongos (Koch, 1975; Phillips & Weste, 1985; Fariña *et al.*, 1997). De la misma manera se ha citado la existencia de dos fases previas a la de crecimiento lineal (Koch, 1975; Fariña *et al.*, 1997). Tanto la fase “lag” (o de demora) como la fase exponencial deben haber tenido lugar a juzgar por la ordenada al origen negativa de los modelos lineales ajustados. Tomando en cuenta las pruebas de ajuste de los modelos, la explicación más razonable sería que el tipo de crecimiento de las colonias no fue lineal en las primeras 24 horas post-siembra. (Koch, 1975).

La influencia de la temperatura sobre la tasa de crecimiento es muy dependiente del aislamiento (Punja & Damiani, 1996; Fariña *et al.*, 1997). Al comparar con otros trabajos que informan tasas de crecimiento a 30°C, pudo observarse que los valores aquí obtenidos para *S. rolfsii* son similares a los de algunos trabajos (Punja & Damiani, 1996; Hernandez Medina y Herrera Ysla, 1997), pero claramente inferiores a los de otros (Punja *et al.*, 1985; Fariña *et al.*, 1997). Punja *et al.* (1985) informaron que los aislamientos con mayor crecimiento produjeron grandes cantidades de ácido oxálico y enzimas degradadoras y fueron por tanto más virulentos. En función de ello, se decidió utilizar a SrM98-1 como aislamiento de *S. rolfsii* en los “ensayos de taxonomía” y “de antigüedad”.

Al no haber diferencias significativas respecto de las variables analizadas, de entre los aislamientos de *S. sclerotiorum* se eligió al azar a SsM98-1.

Se comprobó la factibilidad de utilizar la cámara de condiciones controladas para realizar las tareas de repique de ambos patógenos bajo condiciones similares a las utilizadas durante los ensayos de resistencia. El haber ajustado ecuaciones de regresión lineal permitió conocer con buena aproximación el momento de aprovechamiento óptimo de las colonias (antes de llegar al borde de la caja). De esta manera se obtuvo la mayor cantidad de púas con destino a los ensayos de resistencia.

A pesar del reducido número de aislamientos ensayados de cada patógeno, se detectaron diferencias claras respecto de su variabilidad y comportamiento. Consecuentemente pudieron elegirse los aislamientos más convenientes (en función de su tasa de crecimiento y producción de esclerocios) para ser utilizados en los “ensayos de taxonomía” y “de antigüedad”. En ambos patógenos fue posible repicar el patógeno en la cámara de ambiente controlado al mismo tiempo en que se realizaban los ensayos de resistencia. De esta manera no fueron necesarias instalaciones complementarias (incubador) y se pudo planificar y realizar distintas tareas que este método de evaluación requiere (siembra de esclerocios, repique, inoculación, lectura de estacas) sin mayores complicaciones.

Ensayos Preliminares

Tomando en cuenta los resultados de los ensayos preliminares, ambos métodos contaron con similares condiciones experimentales a juzgar por la falta de asociación entre éstos y las características de las estacas (cantidad de nudos, succulencia).

En los ensayos 2 y 3 no se observó interacción de métodos con los genotipos, por lo que la decisión de utilizar uno u otro método puede tomarse con prescindencia del genotipo a evaluar.

Ambos métodos proveyeron condiciones similares para la infección, a juzgar por la falta de significancia estadística de la diferencia en la extensión de las lesiones obtenidas por ambos métodos. Inclusive al comparar ambos métodos con las estacas sin lesión aparente (siempre asociadas al método de Melouk et al. (1992), ambos métodos exhibieron lesiones de extensión similar.

Estas estacas sin lesión aparente se consideraron escapes, ya que no se ha encontrado resistencia completa en ningún cultivo (Hunter et al., 1981; Porter, 1990; Backman, 1990; Wynne et al., 1991) frente a los patógenos utilizados. El método modificado propuesto aquí excluye casi totalmente los escapes, que usualmente reducen la validez de los datos de ensayos de resistencia frente a patógenos (Boland & Hall, 1986, Chun et al., 1987; Melouk et al., 1992). Al mismo tiempo y para el mismo tamaño muestral aumenta el número muestral efectivo (estacas atacadas por el patógeno) permitiendo una mejor estimación de la media para ese genotipo (Montgomery, 1991).

Los escapes posiblemente se hayan debido a que la púa no quedó bien apretada en la axila. Por consiguiente no se habría permitido el estrecho contacto (entre patógeno y hospedante) necesario para la infección (Lumsden, 1979; Smith et al., 1986). El porcentaje de estacas infectadas obtenido por Melouk et al. (1992) fue de 50-90% dependiendo del genotipo y del ensayo. Los porcentajes obtenidos en los ensayos preliminares para este método concuerdan con los informados por los autores. La ausencia de escapes observada en el método modificado podría deberse al menor manipuleo y mayor facilidad para colocar la estaca dentro del tubo luego de ser inoculada con la púa. Ello redundó en un mejor contacto entre estaca y púa. De esta manera se aseguró el ataque por el patógeno mientras se estandarizó la zona atacada en la estaca. Por otra parte, pudo seguirse el

desarrollo de las lesiones en los tubos sin modificar el microambiente, cosa que no era posible en el método original.

Las modificaciones aplicadas al método de Melouk *et al.* (1992) simplificaron sustancialmente el trabajo. La espuma de poliuretano solo sirvió para dificultar el manipuleo de las estacas ya inoculadas. La utilización de agua destilada en lugar de solución Hoagland para nutrir y mantener hidratada a la estaca se fundó en la siguiente razón. Habida cuenta de la remoción de hojas y la poca intensidad lumínica de la cámara donde se realizaba la experiencia, la fotosíntesis neta de las estacas se estimó despreciable. El cambio de Hoagland por agua no ocasionó diferencias en el aspecto externo de estacas mantenidas en la cámara durante 5 días, como tampoco diferencias en la longitud de las lesiones exhibidas por ambos métodos. Consecuentemente se consideró innecesaria la solución nutritiva pero sí se colocó agua para el mantenimiento de las funciones vitales de la estaca y la formación de microclima conducente al ataque del patógeno (Porter, 1990; Pratt, 1992).

La utilización de plástico termocontráctil aumentó la facilidad de manipuleo, disminuyó el riesgo de desecación de los tubos y facilitó el seguimiento visual de lo ocurrido. Con ello el método ganó en confiabilidad, aunque se tornó más lento al tapar y destapar cada tubo individualmente y se aumentó ligeramente el costo (por el plástico termocontráctil).

La utilización de antibiótico en las cajas de germinación únicamente, simplificó las tareas de obtención de colonias para inocular al tiempo que abarató el medio de cultivo.

La utilización de estacas provenientes de plantas de campo en lugar de provenientes de invernáculo se considera muy conveniente, ya que las plantas de invernáculo presentan alteraciones respecto del fenotipo usual a campo. Entre las alteraciones más comunes se hallan el ahilamiento y el aumento de succulencia (Dickson *et al.*, 1982, Nelson *et al.*, 1991^a, Nelson *et al.*, 1991^b). Habida cuenta de que las características morfo-fisiológicas del vegetal tienen incidencia sobre el comportamiento del mismo frente a los patógenos (Cooper, 1961; Blanchette & Auld, 1978; Brenneman *et al.*, 1988;

Veiga *et al.*, 1992), es coherente utilizar estacas de plantas provenientes de campo. Además, las estacas de campo fueron obtenidas con mínimo esfuerzo y cuidado, a diferencia de lo que suele ocurrir en invernáculo.

La extensión de la lesión (ocasionada por *S. sclerotiorum*) obtenida por el método utilizado se aproximó mucho a lo obtenido por Melouk *et al.* (1992). Los valores obtenidos por ambos métodos fueron ligeramente inferiores a los obtenidos por Brenneman *et al.* (1988), probablemente debido a que este último método utilizó punción para inducir mayor uniformidad en la infección. Con esto se estarían superando barreras morfológicas que son parte del arsenal con que cuenta la planta para su defensa frente al patógeno (Melouk *et al.*, 1992).

La variabilidad de los datos es aceptable para un método “in-vitro” (Brenneman *et al.*, 1988; Melouk *et al.*, 1992). Por ello, puede considerarse que este método permitió estimar la resistencia de genotipos de maní frente a *S. rolfsii* y *S. sclerotiorum* con un buen grado de confianza. Sin embargo, por la laboriosidad que implica, debería aplicarse en tareas de selección de materiales avanzados. El reducido número de tales materiales permitiría contar con el dato de resistencia de cada material a ambos patógenos, agregando tales caracteres como criterio selectivo.

Ensayos de determinación del comportamiento de diversos genotipos de maní frente a Sclerotinia sclerotiorum y Sclerotium rolfsii

Taxonómicamente, el maní se divide en función de caracteres tales como presencia de inflorescencias en eje central, porte, patrón de ramificación y dormición de semilla (Krapovickas, 1973).

En el área taxonómica, sin embargo, no hay muchos estudios en el género *Arachis* que relacionen taxas con características morfológicas (tales como grosor, abundancia de nudos y succulencia de ramas).

Tampoco se han realizado trabajos de morfología comparativa descriptiva o cuantitativa (midiendo dimensiones de los distintos tejidos) entre subespecies dentro del género.

Partiendo desde los trabajos de Waldron (1919), Reed (1924) y Yarbrough(1957), solo se ha descrito la morfología del tallo en pocos genotipos y sin compararlos.

Ramanatha & Murty (1994), citando a Seshadri, afirman que los maníes tipo “bunch” tienen tallos más gruesos que los “postrados”. Esta afirmación presuntamente englobaría a la subespecie “*fastigiata*” y a los “*hypogaea*” conocidos como “virginias bunch”. Algo similar afirman Gregory *et al.* (1951). No obstante, debido a la hibridación natural estas características tienden a desdibujarse (Ramanatha & Murty, 1994).

En el presente trabajo, la asociación entre variables que describen a las estacas (tales como grosor, abundancia de nudos y succulencia de ramas) fue muy notoria a partir del Análisis de Correspondencias Múltiples y fue similar en ambos ensayos (debido a que las estacas se extrajeron en un corto lapso de tiempo). Se observaron 3 tipos de estacas. En menor medida se observó también la asociación de estos tipos de estacas con las variedades botánicas.

Hay una diferenciación notoria de la tipología de ramas correspondiente a la variedad “*fastigiata*”. Estas son gruesas, con muchos nudos y poco succulentas. Las variedades “*hypogaea*” e “*hirsuta*” presentan, en general, estacas con características opuestas a las de la variedad botánica “*fastigiata*”. Por su parte, la variedad “*vulgaris*” exhibe estacas de características intermedias a las descritas anteriormente.

Cuando en los análisis de asociación, la variable variedad botánica se reemplazó con subespecie, pudo verse la notable influencia de la variedad botánica “*fastigiata*”. Parecería que la fuerte

asociación entre esta variedad y estacas del tipo 3 enmascararan la posible asociación que pueda existir entre los tipos de estacas y la variedad “*vulgaris*”.

Observando el patrón detectado al analizar en base a las subespecies, podríamos aseverar que éstas presentan asociación con la morfología externa de la estaca. Así la subespecie “*fastigiata*” presenta estacas más bien gruesas, con muchos nudos y poca succulencia. A su vez la subespecie “*hypogaea*” presenta estacas más finas, con menor cantidad de nudos y mayor succulencia. Algo similar pudo observarse al realizar en los ensayos de antigüedad los análisis de correspondencias múltiples. Allí pudieron percibirse (al igual que en los ensayos de taxonomía) los tres tipos de estacas. La mayoría de los cultivares exhibieron estacas tipo 1 (pocos nudos y grosor y mucha succulencia) o tipo 2 (grosor, succulencia y cantidad de nudos intermedia). Sin embargo, Blanco Santa Fe, Starr, Mf478 y Mf480 presentaron estacas del tipo 3 (gruesas, con muchos nudos y poca succulencia). En los ensayos de taxonomía estos tipos de estacas se asociaban a la subespecie “*hypogaea*” (tipo 1 y 2) y “*fastigiata*” (tipo 3) respectivamente. Los resultados obtenidos en los ensayos de antigüedad concuerdan con la caracterización comercial y el pedigree de los cultivares ensayados (Knauff & Gorbet, 1989; ICRISAT, 1993; USDA-ARS-GRIN, 1999; E. Giandana, com. pers.)

Esto estaría en parcial acuerdo con lo informado por Ramanatha & Murty (1994). Sin embargo, las implicancias de las diferencias de morfología externa de las estacas sobre los tejidos de las estacas de ambas subespecies no ha sido determinada. Es probable que estas diferencias tengan efecto sobre la composición tisular. Ello en función de lo notablemente distintas que fueron las estacas de los genotipos en cuanto a succulencia y proporción ocupada por nudos y entrenudos.

Cuando se compara la significancia de los factores del modelo aplicado en ambos ensayos de taxonomía, resulta evidente el parecido entre ambos. La única diferencia notoria se observó a nivel de subespecie entre ambos ensayos. Así, el factor subespecie no alcanzó la significancia en el

ensayo n°1, pero estuvo muy cerca de hacerlo. Si adicionalmente tomamos en consideración su significancia en el ensayo n°2, parecería que la pertenencia a una determinada subespecie es determinante en el comportamiento frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*. Así, la subespecie “*fastigiata*” exhibió menores lesiones que la “*hypogaea*”. Esta diferencia a nivel de subespecie pudo apreciarse también a través de los análisis de correspondencias múltiples de estos ensayos, aunque con las limitantes de potencia propias de este análisis (Lebart *et al.*, 1984).

El factor “variedad botánica” no contribuyó significativamente en el modelo propuesto en los ensayos de taxonomía. En algunos trabajos se han citado diferencias entre cultivares de pedigree “*vulgaris*” y “*fastigiata*” frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* (Garren, 1964; Branch & Csinos, 1987). Sin embargo, esta diferencia de resistencia entre las dos variedades pertenecientes a la subespecie “*fastigiata*” no se observó en los ensayos de “taxonomía”.

También se ha citado que los cultivares de la subespecie “*fastigiata*” son más resistentes que aquellos de pedigree “*hypogaea*” (Coffelt & Porter, 1982; Smith *et al.*, 1989; Wells *et al.*, 1994; Goldman *et al.*, 1995; Besler *et al.*, 1997). Sin embargo, en otros trabajos se ha informado lo contrario (Chappell *et al.*, 1995).

Estas discrepancias podrían deberse al hecho de que en general se evalúa resistencia a campo. Usualmente el parámetro utilizado es el porcentaje de plantas afectadas. En los maníes de porte erecto-semierecto (particularmente en los de la variedad “*fastigiata*”) es muy fácil percibir las plantas afectadas aún sin que lo estén seriamente (Garren & Bailey, 1963). Por ello suelen recibir calificaciones de resistencia desfavorables. En otras ocasiones, por el contrario, las evaluaciones bajo condiciones de campo o invernáculo favorecen a los genotipos de porte erecto merced a la componente de escape (Branch & Csinos, 1987, Shew *et al.*, 1987). Por ello es sumamente importante un método de evaluación que separe escape de resistencia morfo-fisiológica.

En el presente trabajo se evaluó “in-vitro” la componente morfo-fisiológica de la resistencia. Así pudo percibirse la superioridad de la subespecie “*fastigiata*” y la existencia de variabilidad entre las poblaciones de las distintas variedades botánicas.

Sin lugar a dudas el factor “población” fue el más importante en la determinación de la extensión de la lesión producida por ambos patógenos en los ensayos de taxonomía. Esto implica que dentro de cada variedad botánica hay una importante variabilidad genética que puede explotarse a través del mejoramiento genético. Ello permite que al hibridar materiales de una misma variedad botánica, se mantengan las características comerciales que le son propias (Norden et al; 1982; Sands, 1982). La influencia de la variabilidad intergenotípica puede apreciarse también en los trabajos en que se evalúan gran cantidad de cultivares (Coffelt & Porter, 1982; Branch & Csinos, 1987; Wells *et al.*, 1994; Besler *et al.*, 1997).

En general, los ensayos de resistencia a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* evalúan gran cantidad de genotipos con características morfológicas disímiles. Entre estas características, el tipo de porte y canopia inciden de manera notoria sobre los niveles de incidencia y severidad de ambas enfermedades a través del escape a la enfermedad (Coffelt & Porter, 1982; Branch & Csinos, 1987). La componente de escape es nula en el método desarrollado (100% de estacas infectadas). De allí que pueda evaluarse correctamente la resistencia morfo-fisiológica de los genotipos a ensayar (Melouk *et al.*, 1992)

La importancia de los factores morfológicos (características) de los tejidos de los tallos sobre la resistencia a hongos ha sido mencionada repetidamente (Blanchette & Auld, 1978, Veiga *et al.*, 1994), aunque su incidencia no ha sido aún explicada convenientemente. Godoy (1981) solo logró correlacionar resistencia de genotipos de maní (a *Pythium miriocyllum* y *Rhizoctonia solanii*) con características morfológicas de tejidos foliares. Sin embargo, no halló correlación clara con los

tejidos de otras partes del vegetal. Una de las razones de esta falta de consistencia podría ser la existencia de diversos mecanismos de resistencia en función de la parte del vegetal atacado (Coffelt & Garren, 1982; Chun *et al.*, 1987). Otra podría ser la utilización de plantas cultivadas en invernáculo (Dickson *et al.*, 1982, Nelson *et al.*, 1991^b).

En numerosos de trabajos se remarca la importancia de utilizar en los ensayos de resistencia, material vegetal proveniente de campo o uno que se le parezca lo más posible (Hunter *et al.*, 1982; Chun *et al.*, 1987; Brenneman *et al.*, 1988), debido a la importancia de la morfología externa, la morfología tisular y el estado nutricional de la estaca. La morfología externa y tisular de la estaca determinan tanto el éxito en la penetración del patógeno (Melouk *et al.*, 1988) como su tasa de avance (Wegulo *et al.*, 1998, Punja, com.pers.). A su vez el estado nutricional de la estaca afecta la capacidad del patógeno para aprovechar el recurso alimenticio y avanzar sobre el vegetal (Koch, 1975; Chun *et al.*, 1987; Brenneman *et al.*, 1988). La influencia de la variabilidad en el estado nutricional de las estacas puede reducirse tomando estacas del mismo lugar de la planta y en la misma fase ontogénica, pero aun así continúa siendo importante (Brenneman *et al.*, 1988).

El tamaño de la lesión puede deberse a respuestas diferenciales entre genotipos para la velocidad de penetración del patógeno (Melouk *et al.*, 1988) o para la tasa de avance del patógeno una vez que penetró (Wegulo *et al.*, 1998).

La utilización en el presente trabajo de plantas cultivadas a campo y de estacas cortadas en época adecuada, permitió contar con ramas de morfología similar a las que usualmente confrontan con cada patógeno. Ello emularía de manera cercana lo que está ocurriendo en el patosistema real (Brenneman *et al.*, 1988).

Si las diferencias observadas en los ANOVAS son debidas a causas morfológicas, fisiológicas o una combinación de ambas no pudo determinarse. Sin embargo, la asociación entre tipos de estacas, tamaño de lesión y subespecie (y variedades botánicas en menor medida) sugieren que la

morfología afectó el comportamiento frente a ambos patógenos, particularmente frente a *S. sclerotiorum*.

Se sabe que entre los distintos tejidos, la proporción de lignina afecta fuertemente la resistencia frente a diversos hongos (Vance, 1980; Bell, 1981). Adicionalmente, se ha informado la existencia de diferencias a nivel de composición y morfología tisular entre cultivares de maní (Godoy R., 1981; Veiga e Corso, 1994). Sin embargo, no siempre se ha podido correlacionar estas diferencias con resistencia a hongos (Godoy, 1981). Considerando la forma en común que tienen *S. rolfsii* y *S. sclerotiorum* en degradar los tejidos (Bateman & Beer, 1965; Lumsden, 1979; Marciano *et al.*, 1983; Punja *et al.*, 1985), tal vez la resistencia de los genotipos de maní se correlacione mejor con grosor y composición (pectina, calcio) de la laminilla media de los tejidos del hospedante (Smith *et al.*, 1986; Punja, com. pers.). Si bien estas diferencias a nivel tisular no son perceptibles en la morfología externa de la estaca, los resultados aquí obtenidos sugieren una posible relación.

El valor del grosor de las estacas per-se como estimador adecuado del nivel de resistencia a *S. sclerotiorum* ha sido motivo de informes contradictorios (Miklas *et al.*, 1992^b; Wegulo *et al.*, 1998). De igual modo, la importancia del grosor de la estaca en los ensayos aquí realizados fue errática (a juzgar por su significancia como covariable).

La relación entre origen geográfico, morfología del vegetal y diversos caracteres de resistencia a estrés bióticos y abióticos ha sido informada en numerosos cultivos (Palta & Li, 1979; Becerra Velazquez & Gepts, 1994; González *et al.*, 1995). La explicación de tales relaciones se encuentra generalmente en la presencia de presiones selectivas sobre las comunidades. Se produce entonces sobre estas la selección de los genotipos más adaptados, los que generalmente se parecen morfológicamente (Prout, 1962; Crow & Kimura, 1970).

Sin embargo, en los ensayos de taxonomía aquí realizados no se halló una relación fuerte entre comportamiento frente a los patógenos y origen geográfico. La excepción a esta afirmación podrían ser cuatro de las poblaciones “*vulgaris*” de Corrientes (REM 291, 293, 307, 321) en su comportamiento frente a *S. rolfsii*, aunque este comportamiento no puede atribuirse a la morfología de sus estacas (que es variable).

Es difícil imaginar que presiones selectivas han llevado a comportamientos tan disímiles frente a ambos patógenos en poblaciones provenientes de ambientes similares. La presión selectiva de estos patógenos parece no haber influido en la generación de patrones geográficos de resistencia. Los ambientes más frescos (litoral argentino, Uruguay, zonas montañosas) son propicios para *S. sclerotiorum* (Pratt, 1992) en tanto que los más cálidos (zonas de poca altitud, zonas de bajas latitudes) lo son para *S. rolfsii* (Punja & Rahe, 1992). Esto, sin embargo, parece no haber determinado patrón geográfico en la resistencia de las poblaciones. Tal vez la importancia del intercambio de genotipos de maní y la omnipresencia de ambos patógenos (Fernandez Valiela, 1978; Barreto, 1997; Pavan e Kurozawa, 1997; Gorbet *et al.*, 1997^b) hayan determinado la ausencia de aquél patrón.

Otra posible explicación a la ausencia de patrón geográfico sería el que ambas resistencias sean causadas por mecanismos similares. Si este fuera el caso, bastaría que haya presión selectiva por parte de uno de los patógenos para que se produzca la selección de genotipos resistentes a ambos patógenos (Falconer, 1990; Mitchell-Olds *et al.*, 1995).

Es sorprendente la poca variabilidad encontrada dentro de poblaciones evaluadas. Particularmente debido a que se eligieron entradas del BAGMM que aseguraran su condición de material sin mejora previa (landraces). Usualmente, las poblaciones (landraces) de plantas autógamias son

genéticamente poblaciones heterogéneas homocigotas (mezcla de líneas puras) (Fehr, 1987). De allí que fuera esperable mayor variabilidad dentro de cada población.

Algunas razones que podrían explicar la reducida variabilidad observada son :

- a- reducido tamaño de la muestra coleccionada: para especies autógamas se recomienda muestrear 500-2500 semillas como mínimo, procedentes de al menos 100 plantas (Hawkes, 1980; Vieira, 1994). En el BAGMM rara vez ingresó una muestra de tal tamaño (R. Sanchez, com. pers.)
- b- colección poco representativa de la variabilidad local: al coleccionar material de huertas familiares es recomendable muestrear sobre la mayoría de ellas, pues generalmente hay diferencias en los materiales que cada familia prefiere sembrar (Querol, 1988). En general las poblaciones utilizadas en los ensayos de taxonomía fueron obtenidas en huertas de fácil acceso en automóvil (A. Krapovickas, com. pers.).
- c- reducción en la variabilidad de la muestra original por submuestreo: debido a reparto entre coleccionistas y posterior división de las muestras (en etapa de caracterización). Se dividieron las muestras originales en submuestras de mayor homogeneidad a nivel de porte y color de semilla fundamentalmente (R. Sanchez, com. pers.).
- d- reducción en la variabilidad de la muestra original por efecto fundacional: debido al mantenimiento periódico de las poblaciones a partir de un número pequeño de individuos (Dean *et al.*, 1999; R. Sanchez, com. pers.).

A diferencia de lo observado en los ensayos de taxonomía (en donde no hubo variabilidad dentro de las poblaciones para ninguna de la resistencias), en los ensayos de antigüedad se detectó

variabilidad dentro de los cultivares para la resistencia frente a *S. sclerotiorum*. Esta probablemente se deba a la contribución realizada por los cultivares multilíneas que contienen aún buena variabilidad genética (Pietrarelli, 1972; Knauff & Gorbet, 1989; USDA-ARS-GRIN, 1999; Giandana, com. pers.). Se ha informado que existe variabilidad para la resistencia a patógenos de suelo dentro de líneas hermanas (Smith *et al.*, 1989) y cultivares multilíneas (Wynne *et al.*, 1991) de maní. También se ha citado la existencia dentro del mismo material vegetal de variabilidad en la resistencia a un patógeno y la inexistencia de variabilidad para otro patógeno (Coffelt & Garren, 1982). Este parecería ser el caso de los ensayos de antigüedad. La posibilidad de que esto se deba a la existencia de mezcla varietal parece improbable en virtud de la homogeneidad fenotípica del material utilizado.

El factor “bloque” mostró significancia muy distinta según el tipo de ensayo analizado. Así, en los ensayos de taxonomía exhibió valores de $Pr > F$ muy pequeños, lo que implica que el momento de corte-inoculación es sumamente importante y los ensayos deben tener en cuenta este factor en el diseño.

A diferencia de lo ocurrido en los ensayos de taxonomía, en los ensayos de antigüedad el factor bloque presentó altos valores de $Pr > F$. Esta diferencia notable entre ambos tipos de ensayos no puede atribuirse a ninguna causa evidente. Tomando en cuenta la homogeneidad de las condiciones experimentales utilizadas durante los ensayos de comportamiento frente a ambos patógenos, solo puede afirmarse que los materiales mejorados respondieron de manera similar durante el tiempo que tomó el desarrollo de los ensayos. Por su parte las poblaciones sin mejora variaron su comportamiento en el corto lapso en que fueron evaluadas.

Esta diferencia en la significancia del factor bloque entre ambos tipos de ensayos implica que la importancia del momento de corte-inoculación depende del material evaluado. En función de ello,

parece conveniente evaluar los genotipos (cualquiera sea su estado de mejora) en la misma fecha, para asegurar condiciones de evaluación similares para todos.

Respecto de los efectos que una selección inadvertida podría haber causado sobre los cultivares que se han ido liberando al mercado a través de los años, tendría que evaluarse cultivares pertenecientes a varias líneas de parentesco. De haberse producido avance genético de alguna de ambas resistencias, los cultivares nuevos deberían presentar una lesión promedio significativamente menor a sus antecesores (Falconer, 1990). El efecto general debiera ser un mejor comportamiento de los cultivares más nuevos en cada línea de parentesco.

En el presente trabajo se evaluaron líneas de parentesco compuestas por distinto número de generaciones. En ninguna de ellas se observó patrón alguno que relacionara la resistencia a ambos patógenos con la antigüedad de los cultivares.

La poca determinación del pedigree sobre el comportamiento frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* queda en evidencia al tomar en consideración a las líneas Mf 484 y Mf 485. Ambas son líneas hermanas que se separaron en F3 y dejaron de seleccionarse en F4. Su pedigree es más bien estrecho y a pesar de ello mostraron comportamientos disímiles frente a ambos patógenos. Algo similar fue informado por (Smith *et al.*, 1989) en una situación similar.

La causa de la inexistencia de diferencias entre cultivares antiguos y actuales podría ser falta de avance genético en ambas resistencias. Su baja heredabilidad (Wynne *et al.*, 1991; Wildman *et al.*, 1992) así como la incorrecta valoración (fruto de la ineficacia de los métodos tradicionales) podrían haber llevado a la ausencia de mejora real en ambos caracteres (Falconer, 1990; Wynne *et al.*, 1991).

Pudo observarse la mayor resistencia a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* de los cultivares de pedigree “*vulgaris*”. Esto se encuentra en consonancia con lo observado en los “ensayos de taxonomía” y en numerosos trabajos (Branch & Csinos, 1987; Wells *et al.*, 1994; Goldman *et al.*, 1995; Besler *et al.*, 1997). Con base en estos hallazgos, parece conveniente utilizar germoplasma “*vulgaris*” en los procesos de mejora para resistencia a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*. Sin embargo, los caracteres indeseables asociados a estos materiales los vuelven poco atractivos para el mejorador (Coffelt & Porter, 1982, Wildman *et al.*, 1992), aunque este inconveniente puede morigerarse en parte por retrocruza (Goldman *et al.*, 1995).

En los procesos de mejora para resistencia a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* es conveniente utilizar aquellos materiales que posean buenas características agronómicas y adecuado nivel de resistencia. Para ello es fundamental evaluar correctamente el nivel de resistencia morfo-fisiológica de los materiales elite a utilizar en hibridaciones. Tal evaluación es posible gracias a un método de evaluación sensible como el desarrollado en el presente trabajo. La detección de estos materiales permitirá obtener buenos resultados en los procesos de mejora sin su contraparte de incorporación en el germoplasma elite de características indeseables (Wynne *et al.*, 1991).

La utilización de la heredabilidad en sentido amplio es usual en cultivos autógamos (Fehr, 1987; Singh *et al.*, 1993; Ramalho *et al.*, 1993). Considerando que cada genotipo es una línea pura, no existen efecto de dominancia. Adicionalmente, los efectos epistáticos son generalmente despreciables (Ramalho *et al.*, 1993), por lo que la heredabilidad en sentido amplio es un buen indicador de la aditividad del carácter. Queda el interrogante respecto de la importancia de la componente materna que podría incluir este estimador (Mariotti, 1986). Esto es particularmente importante en el carácter resistencia a *S. sclerotiorum*, habida cuenta de la posibilidad de herencia citoplasmática (Coffelt & Porter, 1982). A pesar de ello puede argumentarse respecto de la

utilización de la heredabilidad en sentido amplio que ...”conocer algo de la heredabilidad del carácter es mejor que no conocer nada” (Falconer, 1990).

Los altos valores de heredabilidad obtenidos sorprenden un virtud de lo observado en la bibliografía. Así, Wildman *et al.* (1992) informaron una heredabilidad en sentido amplio de 14-23% para el carácter resistencia a *S. minor* en maní. En general se considera que la resistencia a hongos de suelo en maní es poligénica y de baja heredabilidad (Wynne *et al.*, 1991). Este parece ser el caso en otros cultivos (Gulyás & Mesterházy, 1992, Pratt, 1996). También se ha informado de posible herencia citoplasmática (Coffelt & Porter, 1982) de la resistencia a *S. minor* en maní. No obstante, en el género *Phaseolus* se ha informado que la aditividad del carácter “resistencia a *S. sclerotiorum*” es importante, lo que permite el avance genético por mejora (Fuller *et al.*, 1984b). Desafortunadamente en el presente trabajo no se conocen que tipo de componentes (aditivas, epistáticas) determinan las heredabilidades observadas. Sin embargo, sus altos valores brindan cierta seguridad en el éxito de las tareas de mejora (Ramalho *et al.*, 1993).

Las altas estimaciones de heredabilidad obtenidas podrían deberse a una reducción de la varianza ambiental, habida cuenta del reducido CV observado en los ensayos. Esta explicación se ve reforzada por el pequeño error estándar de ambas heredabilidades. Sin lugar a dudas, el objetivo del método a desarrollar en esta tesis era obtener una forma de evaluar genotipos con la mayor uniformidad ambiental. Tal reducción habría permitido las altas estimaciones de heredabilidad (Fehr, 1987).

Kacser & Burns (1981) sostienen que la dominancia y la epistasis que tienen lugar en los caracteres de resistencia se deben a que las enzimas responsables de la resistencia son codificadas por loci inmersos en rutas metabólicas que amortiguan los efectos de loci con efecto menores o aún medianamente importantes. Por ello sería impensable un gran avance por mejora fenotípica en estos caracteres a menos que se reduzca el efecto amortiguador de estas rutas por un ambiente de

expresión más uniforme (Cox, 1995) como el desarrollado en el presente trabajo. Tomando en cuenta las estimaciones de heredabilidad obtenidas, el método de evaluación propuesto permitiría la valoración adecuada de la componente genética (mayoritariamente aditiva) de las resistencias a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*, facilitando así la mejora genética para estos caracteres (Falconer, 1990).

Son numerosos los informes respecto de que las barreras preformadas son el principal mecanismo de defensa de muchas especies vegetales frente a estos dos patógenos (Porter *et al.*, 1975^a; Lumsden, 1979; Pettit *et al.*, 1979; Punja *et al.*, 1985; Vear, F. & D. Tourvielle de Labrouhe, 1985; Sedun & Brown, 1989). Adicionalmente se conoce la similitud de mecanismos de patogénesis entre *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* (Bateman & Beer, 1965; Lumsden, 1979; Marciano *et al.*, 1983, Punja *et al.*, 1985; Smith *et al.*, 1986). Si bien hasta el presente no se ha citado cual es la magnitud de la correlación entre los caracteres “resistencia a *S. sclerotiorum*” y “resistencia a *S. rolfsii*”. La magnitud de la correlación genética obtenida en el presente trabajo, sumada a las evidencias citadas más arriba sustentan la presunción de mecanismos de resistencia comunes en maní.

La exigua correlación ambiental registrada sugiere que ambas resistencias están influenciadas por diferentes condiciones ambientales (Falconer, 1990). Por el contrario, por el valor encontrado de correlación genética, parecería que hay rutas biosintéticas comunes involucradas en ambas resistencias (Kacser & Burns, 1981).

Los efectos de corto plazo que ocasionaría esta correlación sobre las tareas de mejora por ambas resistencias serían un rápido avance conducente a la fijación de alelos causantes de correlación positiva. Luego sería esperable una declinación de la correlación entre ambas resistencias (Falconer, 1990).

Desde el punto de vista del mejoramiento para resistencia a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*, las pequeñas diferencias en las heredabilidades de ambas resistencias tornan conveniente la selección directa sobre cada carácter (Falconer, 1990).

El método aquí desarrollado permite una correcta evaluación de la resistencia morfo-fisiológica de genotipos de maní. Esta, combinada con la componente de escape determinan la resistencia a campo de un determinado genotipo. Puede afirmarse entonces que la utilización de este método, sumado a las altas heredabilidades de las resistencias a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* y la alta correlación genética entre ambas permitirán un significativo avance en la mejora genética del maní para ambas resistencias.

CONCLUSIONES

La tasa de crecimiento registrada por ambos patógenos (a partir de las 24 hs. post-siembra) se ajustó a un modelo lineal, tal como lo informado para otros hongos.

Los aislamientos ensayados de *S. sclerotiorum* exhibieron una inusual uniformidad en caracteres de morfología y producción de esclerocios y tasa de crecimiento. Solo difirieron en el grupo de compatibilidad micelial.

Respecto de *S. rolfsii*, pudieron observarse diferencias en la morfología y producción de esclerocios, así como en los grupos de compatibilidad micelial. Dos de los aislamientos produjeron cantidades muy bajas de esclerotos, no informadas en la literatura.

Se comprobó la factibilidad de utilizar la cámara de condiciones controladas para realizar las tareas de repique de ambos patógenos bajo condiciones similares a las utilizadas durante los ensayos de comportamiento

En ambos patógenos fue posible repicar el patógeno en la cámara de ambiente controlado al mismo tiempo en que se realizaban los ensayos de resistencia. De esta manera no fueron necesarias instalaciones complementarias y se pudo planificar y realizar distintas tareas que este método de evaluación requiere (siembra de esclerocios, repique, inoculación, lectura de estacas) sin mayores complicaciones.

Las modificaciones aplicadas al método de Melouk *et al.* (1992) simplificaron la metodología sustancialmente, a la vez que se ganó en confiabilidad en virtud del 100% de infección obtenida.

La asociación entre variables que describen a las estacas (tales como grosor, abundancia de nudos y succulencia de ramas) resultó notoria a partir del Análisis de Correspondencias Múltiples. Asimismo,

esta asociación fue similar en los ensayos de ambos patógenos (debido a que las estacas se extrajeron en un corto lapso de tiempo). Se observaron 3 tipos de estacas. En menor medida se observó también la asociación de estos tipos de estacas con las variedades botánicas y con subespecies en los “Ensayos de Taxonomía”. Algo similar pudo observarse en los “Ensayos de Antigüedad”.

Parecería que la pertenencia a una subespecie fue determinante en el comportamiento frente a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*. Así pudo percibirse la superioridad de la subespecie “*fastigiata*” respecto de la “*hypogaea*”. La “variedad botánica” no influyó significativamente en el comportamiento frente a ambos patógenos.

Pudo observarse la existencia de variabilidad entre las poblaciones de las distintas variedades botánicas. Sin lugar a dudas el factor “población” fue el más importante en la determinación de la extensión de la lesión producida por ambos patógenos en los ensayos de taxonomía.

Fue sorprendente la poca variabilidad encontrada dentro de poblaciones evaluadas, a pesar de tratarse de material sin mejora.

Si las diferencias observadas en las distintas poblaciones son debidas a causas morfológicas, fisiológicas o una combinación de ambas no pudo determinarse. Sin embargo, la asociación entre tipos de estacas, tamaño de lesión y subespecie (y variedades botánicas en menor medida) sugieren que la morfología afectó el comportamiento frente a ambos patógenos, particularmente frente a *S. sclerotiorum*.

Si bien estas diferencias a nivel tisular no son perceptibles en la morfología externa de la estaca, los resultados aquí obtenidos sugieren una posible relación.

En los Ensayos de antigüedad se detectó variabilidad dentro de los cultivares para la resistencia frente a *S. sclerotiorum*, pero no para *S. rolfsii*. Algo similar ya ha sido informado en la bibliografía, aunque la causa aún se desconoce. Por la similitud en el fenotipo de las plantas dentro de cada cultivar, la falta de pureza de los cultivares utilizados no parece explicación pausable.

La antigüedad de los cultivares no tuvo influencia sobre el comportamiento frente a los patógenos utilizados.

Se evaluaron líneas de parentesco (de cultivares) compuestas por distinto número de generaciones sin que se observara relación entre resistencia a ambos patógenos y antigüedad de los cultivares.

Pudo observarse la mayor resistencia a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* de los cultivares de pedigree “*vulgaris*”, en consonancia con lo observado en los “ensayos de taxonomía” y en numerosa bibliografía. Con base en estos hallazgos, podría sugerirse la conveniencia de utilizar germoplasma “*vulgaris*” en los procesos de mejora para resistencia a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*

Respecto del método desarrollado, la diferencia en la significancia del factor bloque entre ambos tipos de ensayos implica que la importancia del momento de corte-inoculación depende del material evaluado. En función de ello, parece conveniente evaluar los genotipos (cualquiera sea su estado de mejora) en la misma fecha, para asegurar condiciones de evaluación similares para todos.

Los altos valores de heredabilidad obtenidos sorprenden un virtud de lo observado en la bibliografía. Las altas estimaciones de heredabilidad obtenidas podrían deberse a una reducción de la varianza ambiental, habida cuenta del reducido CV observado en los ensayos. Esta explicación se ve reforzada por el pequeño error estándar de ambas heredabilidades. Esta reducción podría deberse al método de evaluación empleado.

La magnitud de la correlación genética obtenida en el presente trabajo, sumada a las evidencias bibliográficas sustentan la presunción de que los mecanismos de resistencia a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii* en maní involucran rutas biosintéticas comunes.

BIBLIOGRAFIA

- Akem, C. N. & H. A. Melouk. 1987. Colonization of *Sclerotinia minor* by a potential biocontrol agent, *Penicillium citrinum*. *Peanut Sci.* 14:66-70.
- Akem, C.N. & K.E. Dashiell. 1991. Detached shoot technique to evaluate the reaction of soybean cultivars to *Sclerotium rolfsii*. *Crop Prot.* 10 (4):325-327.
- Allard, R.W. 1960. Principles of plant breeding. Wiley Toppan Ed. Tokyo, Japan. 485 pp.
- Backman, P. A. 1990. Stem Rot. In: Compendium of peanut diseases. Porter, D. M.; Smith, D. H. & R. Rodríguez-Kabana (Ed.). APS Press.
- Barreto, M. 1997. En: Manual de Fitopatologia. Vol. 2: Doenças das plantas cultivadas. Cap. 8. Kimati, H.; Amorim, L., Bergamin Fo., A.; Camargo, L.E.A. e J.A.M. Rezende (Ed.). Editora Agronômica Ceres. Sao Paulo, Brasil. 774 pg.
- Bateman, D.F: & S.V. Beer. 1965. Simultaneous production and synergistic action of oxalic acid and polygalacturonase during pathogenesis by *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 55:204-211
- Becerra-Velasquez, V.L. & P. Gepts. 1994. RFLP diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris*) in its centres of origin. *Genome.* 37(2):256-263.
- Bell, A.A. 1981. Biochemical mechanisms of disease resistance. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 32:21-81
- Besler, B.A.; Grichar, W.J. & O.D. Smith. 1997. Reaction of selected peanut varieties and breeding lines to southern stem rot. *Peanut Sci.* 24:6-9
- Beute, M.K. & R. Rodriguez-Kábana. 1979^a. Effect of wetting and the presence of peanut tissues on germination of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* produced in soil. *Phytopathology* 69:869-872
- Beute, M.K. & R. Rodriguez-Kábana. 1979^b. Effect of volatile compounds from remoistened plants tissues on growth and germination of sclerotia of *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 69:802-805
- Blanchette, B.L. & D.L. Auld. 1978. Screening field peas for resistance to white mold. *Crop Sci.* 18(6):977-979.
- Boland, G.J. & R. Hall. 1986. Growthroom evaluation of soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Plant Sci.* 66(3):559-564.
- Branch, W. D. & A. S. Csinos. 1987. Evaluation of peanut cultivars for resistance to field infection by *Sclerotium rolfsii*. *Plant Dis.* 71:268-270.
- Branch, W.D.& T.B. Brenneman. 1996. Pod yield and stem rot evaluation of peanut cultivars treated with tebuconazole. *Agron. J.* 88(6):933-936.
- Brenneman, T. B.; Phipps, P. M. & R. J. Stipes. 1988. A rapid method for evaluating genotype resistance, fungicide activity, and isolate pathogenicity of *Sclerotinia minor* in peanut. *Peanut Sci.* 15:104-107.
- Brenneman, T.B. 1998. Effects of ten years of peanut monoculture under irrigated and nonirrigated conditions on peanut yields, diseases and fungicide performance. *Proc. of the Am. Peanut Res. and Ed. Soc.* 30:34
- Chappell, G.F. II; Shew, B.B.; Ferguson, J.M. & M.K. Beute. 1995. Mechanisms of resistance to *Sclerotinia minor* in selected peanut genotypes. *Crop Sci.* 35(3):692-696.
- Chun, D.; Kao, L.B.; Lockwood, J.L. & T.G. Isleib. 1987. Laboratory and field assessment of resistance in soybean to stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis.* 71(9):811-815.
- Clements, J.C.; Buirchell, B.J. & W.A. Cowling. 1996. Relationship between morphological variation and geographical origin or selection history in *Lupinus pilosus*. *Plant Breed.* 115(1):16-22.

- Coffelt, T. A. & D. M. Porter. 1982. Screening peanuts for resistance to *Sclerotinia* blight. *Plant Dis.* 66:385-387.
- Coffelt, T. A. & K. H. Garren. 1982. Screening for resistance to *Cylindrocladium* black rot in peanuts (*Arachis hypogaea* L.). *Peanut Sci.* 9:1-5.
- Comisión Nacional de Maní (CONAMA). 1999. Documento de Priorización de Actividades. Río IV, Córdoba, Argentina. 10 pg.
- Cooper, W. E. 1961. Strains of, resistance to, and antagonists of *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 51:113-116.
- Cox, T.S. 1995. Simultaneous selection for major and minor resistance genes. *Crop Sci.* 35(5):1337-1346.
- Coyne, D. P.; Steadman, J. R. & H. F. Schwartz. 1977. Reaction of Phaseolus dry bean germplasm to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis. Rep.* 61:226-230.
- Crow, J.F. & M. Kimura. 1970. An introduction to population genetics theory. Harper & Row. New York, USA. 419 pg.
- Cruz, C.D. e A.J. Regazzi. 1994. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético vegetal. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais, Brasil. 390 pg.
- Damicone, J.P. & K.E. Jackson. 1996. Disease and yield responses to fungicides among peanut cultivars differing in reaction to *Sclerotinia* blight. *Peanut Sci.* 23(2):81-85.
- Dean, R.E.; Dahlberg, J.A.; Hopkins, M.S.; Mitchell, S.E. & S. Kresovich. 1999. Genetic redundancy and diversity among "Orange" accessions in the U.S. National Sorghum Collection as assessed with Simple Sequence Repeat (SSR) markers. *Crop Sci.* 39(4):1215-1221.
- Dickson, M.H.; Hunter, J.E.; Boettger, M.A. & J.A. Cigna. 1982. Selection for resistance in *Phaseolus vulgaris* L. to white mold disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) De Bary. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 107(2):231-234.
- Dolan, D.J.; Stuthman, D.D.; Kolb, F.L. & A.D. Hewings. 1996. multiple trait selection in a recurrent population in oat (*Avena sativa* L.). *Crop Sci.* 36:1207-1211.
- Dow, R. L.; Powell, N. L. & D. M. Porter. 1988. Effects of modification of the plant canopy environment on *Sclerotinia* blight of peanut. *Peanut Sci.* 15:1-5.
- Falconer, D.S. 1990. Introducción a la genética cuantitativa. Cía. Editorial Continental. México D.F., México. 383 pp.
- Fariña, J.I.; Tonetti, G.R. & N.I. Perotti. 1997. A mathematical model applied to the fungal colony growth of *Sclerotium rolfsii*. *Biotechnol. Techniques* 11(4):217-219.
- Fehr, W.R. 1987. Principles of cultivar development. Theory and technique. Vol. 1. McMillan Publishing Co. NY.USA. 467 pg.
- Fernandez Valiela, M.V. 1978. Introducción a la fitopatología. Vol. III. 3° Edición. Edit. INTA. Bs. As., Argentina. 574 pg.
- Freire, V.; Ghida Daza, C.; Gonzalez, J.; Gonzalez, V.; Granda, J.; Issaly, C.; Moore, F.; Peretti, M.; Pizarro, L.; Salminis, J.; Urquiza, B. y M. Vigliocco. 1998. Monitoreo económico de los sistemas productivos predominantes del sector agropecuario de Córdoba. Editorial INTA. Río IV. Argentina. 94 pg.
- Fry, E. 1982. Principles of plant disease management. Chp. 10. Academic Press. New York. USA. 378 pp.
- Fuller, P.A.; Coyne, D.P. & J.R Steadman. 1984b. Inheritance of resistance to white mold disease in a diallel cross of dry beans. *Crop Sci.* 24(5):929-933.
- Fuller, P.A.; Coyne, D.P.; Steadman, J.R. & R.F. Mumm. 1984a. Inter- and intra-row inter-genotypic competition influences selection for avoidance of white mold disease in dry edible beans. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 109(4):567-572.

- Garren, K. H. & W. K. Bailey. 1963. Comparative responses of a virginia runner and a virginia bunch peanut to cultural control of stem rot. *Agron. J.* 55:290-293.
- Garren, K. H. 1964. Inoculum potential and differences among peanuts in susceptibility to *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 54: 279-287.
- Godoy, R. 1981. Structural, physiological and pathological comparisons of peanut genotypes differing in pod rot resistance. PhD. Thesis. Texas A&M University. College Station, Tx., USA.
- Goldman, J.J.; Smith, O.D.; Simpson, C.E. & H.A. Melouk. 1995. Progress in breeding *Sclerotinia* blight-resistant runner-type peanut. *Peanut Sci.* 22:109-113
- Gonzalez, A.; Lynch, J.; Tohme, J.M.; Beebe, S.E. & R.E. Macchiavelli. 1995. Characters related to leaf photosynthesis in wild populations and landraces of common bean. *Crop Sci.* 35(5):1468-1476.
- Gorbet, D.W.; Coffelt, T.A. & P.J.A. Van der Merwe. 1997^a. Management of peanut diseases: disease- and insect-resistant cultivars. In: Koskalis-Burelle, N.; Porter, D.M.; Rodriguez-Kabana, R.; Smith, D.H. & P. Subrahmanyam (ed.): *Compendium of Peanut Diseases*. 2nd ed. APS Press. St. Paul, Mn, USA. 94 pp.
- Gorbet, D.W.; Pittman, R.N.; Shokes, F.M.; Todd, J.W. & D.J. Zimet. 1997^b. Travel Report to Bolivia. Peanut CRSP Report UFL16P. USDA-ARS. Florida, USA. 8 pg.
- Grau, C.R.; Radke, V.L. & F.L. Gillespie. 1982. Resistance of soybean cultivars to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis.* 66(6):506-508.
- Greeson, C.V.; Lunsford, J.N.; Burnett, R. & S. Royal. 1998. Large plot grower trials with azoxystrobin vs. tebuconazole in peanuts. *Proc. of the Am. Peanut Res. and Educ. Soc.* 30:36
- Gregory, W.C.; Smith, B.W. & J.A. Yarbrough. 1951. In: *The Peanut. The unpredictable legume.* Arant *et al.* (Ed.). The National Fertilizer Association. Washington D.C. U.S.A. 333 pg.
- Grichar, W. J. & O. D. Smith. 1992. Variation in yield and resistance to southern stem rot among peanut lines selected for *Phytophthora* pod rot resistance. *Peanut Sci.* 19:55-58.
- Gullino, M.L. & L.A.M. Kuijpers. 1994. Social and political implications of managing plant diseases with restricted fungicides in Europe. *Ann. Rev. Phytopathol.* 32:559-579
- Gulyás, A. & Á. Mesterházy. 1992. Screening sunflower against *Sclerotinia* wilt. *Helia* 15(16):73-78
- Hagan, A.K.; Hartzog, D.L.; Weeks, J.R.; Adams, J. & B. Gamble. 1997. Impact of tillage and fungicides on diseases and yield of peanut in two cropping systems. *Proc. of the Am. Peanut Res. and Educ. Soc.* 29:19.
- Halimi, E.S.; Rowe, D.E. & M. Aung. 1994. Divergent selection in alfalfa for resistance to *Sclerotinia* crown and stem rot. *Crop Sci.* 34(6):1440-1442.
- Hallauer, A.R. & J.B. Miranda Fo. 1981. *Quantitative genetics in maize breeding.* The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 468 pg.
- Hannusch, D. J. & G. J. Boland. 1995. Influence of air temperature and relative humidity on biological control of white mold of bean (*Sclerotinia sclerotiorum*). *Phytopathology* 86:156-162.
- Harlton, C.E.; Levesque, C.A. & Z.K. Punja. 1995. Genetic diversity in *Sclerotium* (*Athelia*) *rolfsii* and related species. *Phytopathology* 85(10):1269-1281.
- Hawkes, J.G. 1980. *Crop Genetic Resources, field collection manual.* IBPGR & Eucarpia. Birmingham, UK. 37 pp.
- Hernandez Medina, C.A. y L. Herrera Ysla. 1997. Variabilidad entre aislados de *Sclerotium rolfsii* en diferentes caracteres culturales, morfológicos y patogénicos. *Fitopatología* 32(3):182-186

- Hooker, A.L. 1983. Breeding to control pests. In: Crop Breeding. American Society of Agronomy and Crop Science of America. Pg. 199-230.
- Hunter, J.E.; Dickson, M.H. & J.A. Cigna. 1981. Limited-term inoculation: a method to screen bean plants for partial resistance to white mold. *Plant Dis.* 65(5):414-417.
- Hunter, J.E.; Dickson, M.H.; Boettger, M.A. & J.A. Cigna. 1982. Evaluation of plant introductions of *Phaseolus* spp. for resistance to white mold. *Plant Dis.* 66(4):320-322.
- ICRISAT, 1993. Peanut Germplasm at ICRISAT. New Delhi, India. 40 pg.
- Isleib, T. G. & J. C. Wynne; 1992: Groundnut production and Research in North America. In: Groundnut, a global perspective. Nigam, S. N. (Ed.). Proceedings of an international workshop. ICRISAT Center. India.
- Kacser, H. & J.A. Burns. 1981. The molecular basis of dominance. *Genetics* 97:639-666
- Ketring, D.L.; Brown, R.H.; Sullivan, G.A. & B.B. Johnson. 1982. Growth physiology. In: Peanut Science and Technology. Chp. 11. Patee, H.E. & C.T. Young (Ed.). APRES. Yoakum, TX., USA. 825 pag.
- Knauff, D. A. & D. W. Gorbet. 1989. Genetic diversity among peanut cultivars. *Crop Sci.* 29:1412-1422.
- Koch, A.L. 1975. The kinetics of mycelial growth. *J. of Gen. Microb.* 89:209-216.
- Kohn, L.M.; Stasovski, E.; Carbone, I.; Royer, J.; Anderson, J.B. 1991 Mycelial incompatibility and molecular markers identify genetic variability in field populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 81(4):480-485.
- Krapovickas, A. 1973. Evolution of the Genus *Arachis*. In: Agricultural Genetics: selected topics. R. Moav (Ed.). National Council for Research and Development. Jerusalem, Israel. Pg. 35-157.
- Lebart, L.; Morineau, A. & K.M. Warwick. 1984. Multivariate Descriptive Statistical Analysis: correspondence analysis and related techniques for large matrices. John Wiley & Sons. New York, USA. 492 pg.
- Le Tourneau, D. 1979. Morphology, cytology, and physiology of *Sclerotinia* species in culture. *Phytopathology* 69:887-890.
- Linderman, R.G. & R.G. Gilbert. 1973^a. Influence of volatile compounds from alfalfa hay on microbial activity in soil in relation to growth of *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 63:359-362
- Linderman, R.G. & R.G. Gilbert. 1973^b. Behaviour of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* produced in soil or in culture regarding germination stimulation by volatiles, fungistasis and hypochlorite treatment. *Phytopathology* 63:500-504
- Lumsden, R.D. & W.P. Wergin. 1980. Scanning-electron microscopy of infection of bean by species of *Sclerotinia*. *Mycologia* 72(6):1200-1209.
- Lumsden, R.D. 1979. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology* 8:890-896.
- Madjid, A.; Honma, S. & M.L. Lacy. 1983. A greenhouse method for screening lettuce for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Scientia Horticulturae* 18(3):201-206.
- March, G. J. y A. Marinelli. 1995. Enfermedades del maní y sistema productivo. *Maní: Avances en investigación* 2:5-18.
- Marchionatto, J.B. 1922. Peanut wilt in Argentina. *Rev. Facult. Agron. La Plata* 3:65-67.
- Marciano, P.; Lenna, P.D. & P. Magro. 1983. Oxalic acid, cell-wall degrading enzymes and pH in pathogenesis and their significance in the virulence of two *Sclerotinia sclerotiorum* isolates on sunflower. *Physiol. Plant Pathol.* 22:339-345

- Marinelli, A. y G. J. March. 1996. Epidemias de "tizón" del maní (*Arachis hypogaea* L.) causado por *Sclerotinia sclerotiorum* y *S. minor* en Argentina. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas* 22(3):501-510.
- Mariotti, J.A. 1986. Fundamentos de genética biométrica. Aplicaciones al mejoramiento vegetal. OEA. Washington DC. USA. 149 pg
- Melouk, H. A.; Akem, C. N. & C. Bowen. 1992. A detached shoot technique to evaluate the reaction of peanut genotypes to *Sclerotinia minor*. *Peanut Sci.* 19:58-62.
- Melouk, H.A.; Aboshosha, S.S. & C.N. Akem. 1988. Early stages of infection of peanut by *Sclerotinia minor*. *Phytopathology* 78(5):629.
- Middleton, K.J.; Pande, S.; Sharma, S.B. & D.H. Smith. 1994. Diseases In: *The Groundnut Crop. A scientific basis for improvement.* Chp. 10. Smartt, J. (Ed.). Chapman & Hall, London, UK. 734 pg.
- Miklas, P.N. & K.F. Grafton. 1992. Inheritance of partial resistance to white mold in inbred populations of dry bean. *Crop Sci.* 32(4):943-948.
- Miklas, P.N.; Grafton, K.F. & B.D. Nelson. 1992^a. Screening for partial physiological resistance to white mold in dry bean using excised stems. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 117(2):321-327.
- Miklas, P.N.; Grafton, K.F.; Secor, G.A. & P.E. McClean. 1992^b. Use of pathogen filtrate to differentiate physiological resistance of dry bean to white mold disease. *Crop Sci.* 32(2):310-312.
- Mitchell-Olds, T.; James, R.V.; Palmer, M.J. & P.H. Williams. 1995. Genetics of *Brassica napus* (syn. *campestris*). 2. Multiple disease resistance to three fungal pathogens: *Peronospora parasitica*, *Albugo candida* and *Leptosphaeria maculans*. *Heredity.* 75(4):362-369.
- Montgomery, D.C. 1991. Design and analysis of experiments. 3rd edition. Ed. John Wiley & Sons. Singapore. 649 pg.
- Murthy, T.G.K. & P.S. Reddy. 1993. Cytogenetics and genetics of groundnut. Intercept Ed. Andover, England. 325 pp.
- Nelson, B.D.; Helms, T.C. & M.A. Olson. 1991^a. Comparison of laboratory and field evaluations of resistance in soybean to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis.* 75(7):662-665.
- Nelson, B.D.; Helms, T.C. & I. Kural. 1991^b. Effect of temperature and pathogen isolate on laboratory screening of soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Plant Sci.* 71(2):347-352.
- Norden, A.J.; Smith, O.D. & D.W. Gorbet. 1982. Breeding of the cultivated peanut. In: *Peanut Science and Technology.* Chp. 4 Patee, H.E. & C.T. Young (Ed.). APRES. Yoakum, TX., USA. 825 pg.
- Oku, H. 1992. Gene expression in susceptibility and resistance of fungal plant diseases. In: Verma, D.P.S. (ed.). *Molecular Signals in Plant-Microbe Communications.* CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. 521 pp.
- Palta, J.P. & P.H. Li. 1979. Frost-hardiness in relation to leaf anatomy and natural distribution of several *Solanum* species. *Crop Sci.* 19(5):665-671.
- Parlevliet, J.E. & J.C. Zadoks. 1977. The integrated concept of disease resistance: a new view including horizontal and vertical resistance in plants. *Euphytica* 26(1):5-21
- Pavan, M.A. e C. Kurozawa. 1997. Em: *Manual de Fitopatologia.* Vol. 2: Doenças das plantas cultivadas. Cap. 4. Kimati, H.; Amorim, L., Bergamin Fo., A.; Camargo, L.E.A. e J.A.M. Rezende (Ed.). Editora Agronômica Ceres. Sao Paulo, Brasil. 774 pg.
- Pettit, R.E.; Taber, R.A.; Smith, O.D. & T.E. Boswell. 1979. Pod rot resistance: structural differences among tolerant and susceptible genotypes. *Proc. of the Am. Peanut Res. And Ed. Soc.* 11:54

- Phillips, D. & G. Weste. 1985. Growth rates of four Australian isolates of *Phytophthora cinnamomi* in relation to temperature. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 84(1):183-185
- Pietrarelli, J.R. 1972. Cultivares de maní de la Estación Manfredi. *Boletín Informativo Manisero* 26:4-6.
- Porter, D. M. 1990. Sclerotinia blight. In: *Compendium of peanut diseases*. Porter, D. M.; Smith, D. H. & R. Rodríguez-Kabana (Ed.). APS Press. 2nd Edition.
- Porter, D. M.; Beute, M. K. & J. C. Wynne. 1975^b. Resistance of peanut germplasm to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Peanut Sci.* 2:78-80.
- Porter, D. M.; Coffelt, T. A.; Wright, F. S. & R. W. Mazingo. 1992. Resistance to *Sclerotinia* blight and early leafspot in chinese peanut germplasm. *Peanut Sci.* 19:41-43.
- Porter, D.M.; Garren, K.H. & P.H. van Schaik. 1975^a. Pod breakdown resistance in peanuts. *Peanut Sci.* 2:15-18
- Porter, D.M.; Smith, D.H. & R. Rodriguez-Kabana. 1982. Peanut Plant Diseases. In: *Peanut Science and Technology*. Chp. 11 Patee, H.E. & C.T. Young (Ed.). APRES. Yoakum, TX., USA. 825 pg.
- Pratt, R.G. 1991. Differential responses of alfalfa genotypes to stem inoculations with *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. trifoliorum*. *Plant Dis.* 75(2):188-191.
- Pratt, R.G. 1992. *Sclerotinia*. In: *Methods for research on phytopathogenic fungi*. L.L. Singleton, J.D. Mihail & C.M. Rush (Ed.). APS Press. St. Paul, Minnesota, U.S.A. pg. 74-78.
- Pratt, R.G. 1996. Screening for resistance to *Sclerotinia trifoliorum* in alfalfa by inoculation of excised leaf tissue. *Phytopathology* 86(9):923-928.
- Prout, T. 1962. The effects of stabilizing selection on the time of development in *Drosophila melanogaster*. *Genet. Res.* 3:364-382.
- Punja, Z.K. & A. Damiani. 1996. Comparative growth, morphology, and physiology of three *Sclerotium* species. *Mycologia* 88(5):694-706.
- Punja, Z.K. ; Huang, J.S. & S.F. Jenkins. 1985. Relationship of mycelial growth and production of oxalic acid and cell wall degrading enzymes to virulence in *Sclerotium rolfsii*. *Can. J. Plant Pathol.* 7(2):109-116.
- Punja, Z.K. & J.E. Rahe. 1992. *Sclerotium*. In: *Methods for research on phytopathogenic fungi*. L.L. Singleton, J.D. Mihail & C.M. Rush (Ed.). APS Press. St. Paul, Minnesota, U.S.A. pg. 166-170.
- Querol, D. 1988. Recursos genéticos, nuestro tesoro olvidado. Ed. Industrial gráfica. Lima, Perú. 216 pg.
- Ramalho, M.A.P.; Dos Santos, J.B. e M.J. De O. Zimmermann. 1993. Genética quantitativa em plantas autógamas. UFG Ed. Goiania, Goias, Brasil. 271 pgs.
- Ramanatha Rao, V. & U.R. Murty. 1994. Botany, morphology and anatomy In: *The Groundnut Crop. A scientific basis for improvement*. Chp. 3. Smartt, J. (Ed.). Chapman & Hall, London, UK. 734 pg.
- Rawlings, J.O. 1988. Applied regression analysis. A research tool. Wadsworth & Brooks/Cole Advanced Books & software. Pacific Grove, California, USA. 553 pg.
- Reed, E.L. 1924. Anatomy, embryology and ecology of *Arachis hypogaea*. *Botanical Gazette* 78:289-310.
- Rodriguez-Kabana, R.; Robertson, D.G. & L.W. Wells. 1997. Use of pesticides and cropping systems with cotton, peanut and velvetbean for the management of root-knot nematode and southern blight in "Florunner" peanut. *Proc. of the Am. Peanut Res. and Educ. Soc.* 29:53.
- Rowe, D.E. 1993. Oxalic acid effects in exudates of *Sclerotinia trifoliorum* and *S. sclerotiorum* and potential use in selection. *Crop Sci.* 33(6):1146-1149.

- Sands, D.W. 1982. Peanut Marketing. In: Peanut Science and Technology. Chp. 19 Patee, H.E. & C.T. Young (Ed.). APRES. Yoakum, TX., USA. 825 pg.
- Sedun, F.S. & J.F. Brown. 1989. Comparison of three methods to assess resistance in sunflower to basal stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor*. *Plant Dis.* 73(1):52-55.
- Sherwood, J.L.; Beute, M.K.; Dickson, D.W.; Elliott, V.J.; Nelson, R.S.; Opperman, C.H. & B.B. Shew. 1995. Biological and biotechnological control advances in *Arachis* diseases. In: *Advances in Peanut Science*. Chp. 5. Patee, H.E. & H.T. Stalker (Ed.). APRES. Stillwater, OK., USA. 614 pg.
- Shew, B. B.; Wynne, J. C. & M. K. Beute. 1987. Field, microplot, and greenhouse evaluations of resistance to *Sclerotium rolfsii* in peanut. *Plant Dis.* 71:188:191.
- Shokes, F.M. & M.C. Black. 1997. Management of peanut diseases. In: *Compendium of Peanut Diseases*. Part V. Kokalis-Burelle, N.; Porter, D. M.; Rodríguez-Kabana, R.; Smith, D. H. & P. Subrahmanyam (Ed.). 2nd ed. APS Press. St. Paul, Mn, USA. 94 pg.
- Shokes, F.M.; Rozalski, K.; Gorbet, D.W.; Breneman, T.B. & D.A. Berger. 1996. Techniques of inoculation of peanut with *Sclerotium rolfsii* in the greenhouse and field. *Peanut Sci.* 23(2):124-128.
- Shokes, F.M.; Weber, Z.; Gorbet, D.W.; Pudelko, H.A. & M. Taczanowski. 1998. Evaluation of peanut genotypes for resistance to southern stem rot using an agar disk technique *Peanut Sci.* 25:12-17.
- Simmonds, N.W. 1979. Principles of Crop Improvement. Chp. 5. Longman Sci. & Tech. NY, USA. 408 pg.
- Simpson, C.E. 1991. Recursos genéticos del maní en Suramérica. *Diversity* 7(1-2):65-66
- Singh, M.; Ceccarelli, S. & J. Hamblin. 1993. Estimation of heritability from varietal trials data. *Theor. Appl. Genet.* 86(3):437-441.
- Skinner, D.Z. & D.L. Stuteville. 1992. Geographical variation in alfalfa accessions for resistance to two isolates of *Peronospora trifoliorum*. *Crop Sci.* 32(6):1467-1470.
- Smith, F. D.; Phipps, P. M. & R. J. Stipes. 1992. Fluazinam: a new fungicide for control of *Sclerotinia* blight and other soilborne pathogens of peanut. *Peanut Sci.* 19:115-120. 15
- Smith, O. D.; Boswell, T. E.; Grichar, W. J. & C. E. Simpson. 1989. Reaction of selected peanut (*Arachis hypogaea* L.) lines to southern stem rot and phytium pod rot under varied disease pressure. *Peanut Sci.* 16:9-14.
- Smith, V.L.; Punja, Z.K. & S.F. Jenkins. 1986. A histological study of infection of host tissue by *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 76(8):755-759.
- Tahmasebi-Enferadi, S.; Gómez-Sánchez, D.; Baldini, M. & G. Vannozzi. 1998. Effect of *Sclerotinia sclerotiorum* culture filtrate on sunflower morphological characters, oxalic acid content and shikimate dehydrogenase activity. *Helia* 21(28):81-96
- Thompson, C.; Dunwell, J.M.; Johnstone, C.E.; Lay, V.; Ray, J.; Schmitt, M.; Watson, H. & G. Nisbet. 1995. Degradation of oxalic acid by transgenic oilseed rape plants expressing oxalate oxidase. *Euphytica.* 85(1-3):169-172.
- USDA-ARS-GRIN. 1999. <http://WWW.ars-grin.gov/cgi.bin/npgs/html/acchtml/>
- Vance, C.P. 1980. Lignification as a mechanism of disease resistance. *Ann. Rev. Phytopathol.* 28:259-288.
- Vear, F. & D. Tourvielle de Labrouhe. 1985. Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflowers. In: Proc. 11th. Int. Sunflower Conf. Pg. 357-362. Mar del Plata, Argentina
- Veiga, R.F. De A. e G.M Corso. 1994. Sistema vascular do caule e da folha do amendoim: tipo botânico valência. *Boletín científico IAC* n° 31. 10 pag.
- Veiga, R.F. De A., Corso, G.M. e P.R. Curi. 1994. Aspectos da organografia e anatomia foliar do amendoim: genótipos SO-53 e SO-909. *Bragantia* 53(1):1-17.

- Veiga, R.F. De A., Corso, G.M.; Curi, P.R. e J.P.F. Teixeira. 1992. Análise histoquímica foliar do amendoim: genótipos "Tatu" e SO-909. *Bragantia* 51(2):129-149.
- Vieira, R.F. 1994. Aspectos práticos da coleta de germoplasma. M.A.A.R.A.-EMBRAPA-CENARGEN. Brasília, Brasil. 17 pag.
- Waldron, R.A. 1919. The peanut *Arachis hypogaea*, its history, histology and utility. *Penn. University Botany Lab contributions* 4:301-338.
- Wegulo, S.N.; Yang, X.B. & C.A. Martinson. 1998. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environment studies. *Plant Dis.* 82(11):1264-1270.
- Wells, M.A.; Grichar, W.J.; Smith, O.D. & D.H. Smith. 1994. Response of selected peanut germplasm lines to leafspot and southern stem rot. *Oleagineux* 49(1):21-26.
- Wildman, L. G.; Smith, O. D.; Simpson, C. E. & R. A. Taber. 1992. Inheritance of resistance to *Sclerotinia minor* in selected spanish peanut crosses. *Peanut Sci.* 19:31-34.
- Wynne, J.C.; Beute, M.K. & S.N. Nigam. 1991. Breeding for resistance in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Annu. Rev. Phytopathol.* 29:279-303.
- Yarbrough, S.J. 1957. *Arachis hypogaea*. The form and structure of the stem. *American Journal of Botany* 44:31-36.

ANEXO



////////////////////////////////////

DIFERENCIAS RESPECTO AL RECONOCIMIENTO QUE INDUCIRIA O NO EN EL HONGO (119)

SI LA PENETRACION ES DIFERENTE ENTRE GENOTIPOS, TIENE VALOR COMO RESISTENCIA (119). ADEMAS SI LAS CONDICIONES AMBIENTALES PROPICIAS DURAN LO SUFICIENTE, LAS PLANTAS TERMINAN MURIENDO (DIFERENTE PENETRACION O TASA DE AVANCE [128] O AMBAS [128]?)

EL HECHO DE QUE LAS RAMAS DAÑADAS TENGAN LESIONES MAS FRECUENTES O GRANDES (3, 38) SUGIERE LA IMPORTANCIA DE LA EPIDERMIS PARA IMPEDIR LA PENETRACION.

UNA VEZ DENTRO, LAS , DIFERENCIAS A NIVEL DE RESISTENCIA AL ATAQUE DE SUST. PECTICAS POR EL OXALICO BRINDARIAN FORTALEZA A UN GENOTIPO (109). TAMBIEN PUEDE DARSE RESPUESTA ACTIVA ENDURECIENDO (127). POR ESTE LADO PODRÍA VENIR EL DE WEGULO (128) CON LOS FLAVONOIDES Y LO MISMO PARA EL DE Ma ANTONIETA CON LOS FENOLES (DE LA HELIA). OTROS MECANISMOS QUE OTORGUEN NO HAN SIDO INFORMADOS.

triangulo2: fijate como describe los datos antes de entrar en el ANOVA.. La zona de origen define tanto el aislamiento prevalente como la resistencia de c/ spp. o grupo de germoplasma. Cita muchos ejemplos de otros papers. No explica a traves de que mecanismo se da la resistencia.

tr3: Ningun resultado concluyente. Hay asociación entre longitud de colección y descriptores morfológicos (pero no sabe por que!). Cita muchos ejemplos de otros papers.

tr4: dependiendo del análisis hay o no diferencias entre orígenes y tipo de cultivar. Por cluster hay diferencias entre orígenes y entre landraces vs wild populations. En cambio el ANOVA analizando landraces vs wild pop. fueron similares DENTRO de c/país y distintas ENTRE países.

tr5: por discriminante separa grupos pero hay solape probablemente debido a selección en cultivares.

importancia de cada fuente de variación

similitud entre resultados frente a ambos patógenos (de cada fuente).

Cómo se compara entre niveles de factores fijos cuando dan significativo?

El Negro hizo un DGC entre todas las poblaciones y buscó patrones en el arbol

Y NO SE VE NADA!!!

Similitudes entre poblaciones de origen geográfico cercano (como podés probar si en gral. las entradas cercanas se comportan similarmente frente a CADA PATOGENO SEPARADAMENTE?, ver tr5:).

HACER ENTRAR EL ASUNTO DEL FLUJO DE MATERIALES Y DE LAS PRESIONES SELECTIVAS

El Negro hizo un DGC entre todas las poblaciones y buscó patrones en el arbol

Y NO SE VE NADA!!!

tr5: en los PI's pudo verse que el origen geográfico (determinado por movimientos históricos) originó similitudes morfológicas. En cambio, en los cvs. hubo mayor similitud en función de los efectos de la selección (búsqueda del ideotipo).

tr6: Encontró correlación entre altitud y morfología pero NO ANALIZA NADA. Calculó correlación común a nivel general y DENTRO de los clusters obtenidos; ambas dan distinto.

tr7: similares resultados a tr4. Hay dos grupos (Andes y Mesoamérica). Dentro de estos se muestran diferentes, landraces de wild populations. En pag 261, & comparar con tr5.

tr8: La diversidad "entre tipos" es similar a la "entre origenes geograficos" sugiriendo que dentro de cada "tipo" hay genotipos provenientes de diversos orígenes.

Analizar el porque de la significancia de cada factor.

Ver si entre trabajos se mantienen los rankings de los distintos cvs.

Que implicancia tiene el hecho de que la mayoría de los cvs. sean multilíneas (ver los datos del GRIN).

4: hay variabilidad dentro de las multilíneas

45: NO hay variabilidad dentro de las multilíneas

Implicancias para el mejoramiento?

A ESTA ALTURA PARECE SER QUE LO MORFOLOGICO (BARRERAS PREFORMADAS) SON MAS COMPLEJAS QUE SOLO LO OBSERVABLE EXTERNAMENTE. ADEMAS INFLUYE EL ESTADO NUTRICIONAL DE CADA ESTACA (FUENTE DE VARIACION QUE NO NECESARIAMENTE ELIMINAS TOMANDO ESTACAS COMO DICE 3)

4-todo sobre H y r

HEREDABILIDAD

Habida cuenta de el alto valor de correlación genética observado entre ambas resistencias, la mejora en el comportamiento frente a un patógeno acarreará una mejora correlacionada frente al otro patógeno (Falconer, 1981)

45: herencia citoplasmática

59: Ss herencia aditiva en phaseolus. GxE no signif.

121: Ss herencia aditiva en girasol

13: *broad sense 14-23%, narrow sense 1-11% (PERO ES A CAMPO Y EN DISTINTO AÑO)*

4cuadrado: *calcula V_g y V_e con VARCOMP(REML) y se disculpa por la posible $G \times E$ I.*

126: *no hubo correlación entre líneas e híbridos, por lo que presumen heredabilidad baja*

68: 0.49 ± 0.14

113: *la resistencia a *S. trifoliorum* en alfalfa es cuantitativa y se presume hered. baja*

55: 0.25 ± 0.05

123: *citando a Fry, dice que como los niveles de resistencia son bajos se presume poligenes.*

6cuadr: *Elegir por rating de daño conduce a resultados impredecibles. Progeny testing no mejora el progreso en locus de efecto menor (si hay presentes genes mayores)*

Que análisis merece el resultado a nivel de cada factor del modelo? (PREGUNTA NO VALIDA SI ES QUE NO PUEDO APLICAR EL MODELO FULL)

Mariotti, Ramalho, 4cuadrado

Que puedes esperar de la confiabilidad de la estimación habida cuenta de la significancia del factor "planta"? (PREGUNTA VALIDA SI ES QUE NO PUEDO APLICAR EL MODELO FULL)

Que implicancia tiene el p-value del bloque?

Ver que pasa con las estimaciones cuando se usan modelos de campo en bloque.

Comparativamente con otros papers, que tan importante fueron las estimaciones y sus errores.

Importancia teórica del error (Falconer, Mariotti)

Que implicancia para el breeding tienen los valores obtenidos?

Justificar estadísticamente la utilización de datos de 2 ensayos distintos para el cálculo de la correlación entre ambas resistencias (y de paso citar papers que hicieron lo mismo).

82:hace lo mismo que yo.

*cuadrado16: los calculos de SE propuestos por la fórmula que usé asumen distribución normal ya que no se conoce la real distribución de r_G (aunque datos empíricos sugieren otra distribución). La r_G calculada por bootstrap a veces da $> |1|$ si la cantidad de familias es poca. Los SE calculados a partir de teoría normal (la mía) y bootstrap se parecieron mucho. En cuanto a incidencia en la exactitud de la estimación de la r_G , la importancia de los factores fue repeticiones > n° familias > n° indiv(flias). La relación entre SE y tamaño muestral es decreciente.***DE ESTE SE PUEDE CITAR QUE FUE IMPORTANTE AUMENTAR LAS REPETICIONES PARA ESTIMAR BIEN LA r_G . EN EL CASO DE LAS POBLACIONES Y HABIDA CUENTA DE LA VARIABILIDAD DENTRO DE CADA UNA,PODRIA HABER SIDO MAS CONVENIENTE ¿??. TENIENDO EN CUENTA QUE EL MANI ES AUTOGAMO, QUE CONVIENE AUMENTAR??**

*cuadrado17: r_G y r_f se parecen si el tamaño muestral es grande (>40).***NO ACLARA A QUE MUESTRA SE REFIERE PERO HABIDA CUENTA DE QUE YO EVALUE 140 INDIVIDUOS EN CVS. Y 196 EN POBLACIONES DEBO ANDAR BIEN**

Que implicancia para el breeding tienen los valores obtenidos?

9: *la correlación entre patógenos dependió de los genotipos utilizados.***EN FUNCION DE ESTE TRABAJO HAY QUE PENSAR QUE LA CORRELACION QUE YO**

HALLE NO ES SIEMPRE ESTRICTA. ADEMAS PUEDE HABER OTROS MECANISMOS NO MORFOLOGICOS (COMO OPINA TIO CHARLY)

11cuadr: hallo correl. para dos patógenos. Cita algunas causas teóricas de ligamiento (pleiotropía, ligamiento) pero nada sobre esas resistencias. Dice que probablemente se deban a genes comunes (pleiotropía). **EN MI CASO YO PIENSO QUE AL HABER MECANISMOS DE PATOGENICIDAD SIMILAR, Y SIENDO LAS BARRERAS PREFORMADAS TAN IMPORTANTES, SEAN ESTAS LAS QUE ESTABLEZCAN LA CORRELACION**

12cuadr: Para sel. multiple anduvieron bien un indice restringido y el indice de Smith **(EN FUNCION DE LA CORRELACION, EN UN INDICE SELECTIVO SOLO SERA NECESARIO LA INCLUSION DE UNA RESISTENCIA, LA DEL HONGO PREDOMINANTE O MENOS COMPLICADO)**

DISCUTIR QUE VA A PASAR CON AMBAS RESISTENCIAS A LA LUZ DE LO QUE DICE FALCONER EN PAG 339 (EFECTO DE LA SELECCIÓN SOBRE LAS CORRELACIONES GENETICAS)

Cruz, pag 74, Falconer cap Caracteres correlacionados, Mariotti, pag. 115; otros de interes: Ramalho (que dice que en autógamias broad sense=narrow sense),118, 9 cuadrado, 69(dice lo mismo que Ramalho respecto de la igualdad broad=narrow).

ES POSIBLE OBTENER RESISTENCIA A AMBOS PATOGENOS (vista la correlación)

Ensayo n°1:

ESTADISTICOS DE LAS VARIABLES (CUADRO GO)

Ver si en la bibliografía aparecen similitudes entre spanish y valencias.

Ver cual es la variabilidad informada DENTRO de cada variedad y dentro de cada población (dentro de spanish, valencias y virginias).

44: OJO, me parece que evalúa más vale pod-rot que stem-rot con lo cual habría que asociar a lo de 115.

94: cita una fuente (Akem et al) en la que ancestros spanish otorgan resistencia

Ver que pasa en cuanto a similitud (en la bibliografía) para las caract. bajo estudio (frio, etc.) a nivel de unidades taxonómicas (var.bot., spp, etc) VER EL TRABAJO DE SOLANUM, EL DE ALFALFAS, ETC)

Ver la variabilidad de los diferentes métodos(y comparar con el mio).

59: 11% en invernáculo y 46% a campo. Alta correlación campo-invernáculo

82: gran variabilidad en cada experimento (vuleve a darle lo mismo en el 90)

128: interacción ExperimentoxGenotipo

ANOVA

Valores (mm) de lesiones en diferentes trabajos

45: 45-60 mm (sin decir duración del ensayo)

68: 4-8 cm. a los 14 días

87: a los 7 días tuvieron 45-100 mm

105: 100-150 mm a los 7 días

82: 5 mm/día

92: 4 mm/día

128: 20-40 mm a los 5 días

Como no hay trabajos que prueben taxonomía, ver que magnitud presentan los p-values en los trabajos que emplean cvs. de diferentes variedades bot

41: probó 1 valencia y 1 spanish y 2 "hypogaea" y las "fastigiata" le dan + susceptibles.

1: los spanish son ligeramente más susceptibles que los hypogaea

33: los spanish y valencia le dan mejor, pero probablemente es por ESCAPE

11: los spanish fueron más resistentes, PERO ES A CAMPO (dice que hubo condiciones buenas para el hongo).

Analizar cada factor de mi trabajo para ver que puede haber pasado para que tenga o no significancia

Que implicancias para el breeding tienen los resultados?

Comparar ambos ensayos en cuanto a factores y variabilidad

Sorprende la significancia de los distintos factores.

Es extraño que, por ejemplo, el factor planta dé "no significativo". Considerando esto, podríamos pensar que se ha producido una selección (respecto del carácter en cuestión) bien sea en el lugar de origen o en Manfredi. Sin embargo, es una tendencia muy general (ya que el mayor CV es de solo 31%).

Si comparamos estos valores con los de otros trabajos

MCA:

Ver asociación. hay patrones por variedad, por origen, o solo patrones morfológicos generales?

Estos patrones tuvieron incidencia sobre el hongo o la interacción?

Que justificación morfo-fisiológica tiene el comportamiento de las poblaciones? laburos de Renato, 63,

63: sugiere barreras morfológicas a la penetración (engrosamiento y + dureza de tallo)

129: La morfología foliar APARENTEMENTE predispone al ataque de hongos (EL ESTUDIO ES SOLO SOBRE 2 GENOTIPOS)

130: Hay diferencias histoquímicas (mayormente a nivel de pectina en epidermis y ureídos en hoja). La resistencia ESTARIA ligada a + tanino y pectina

131: Hay pocas diferencias a nivel cualitativo entre ambos genotipos (PERO NO MIDE EL GROSOR DE CADA COMPONENTE)

3: las partes más viejas de las ramas son más resistentes (lignificación, menor sust. energéticas?)

96: a nivel de extracto de planta (juguito por apretado) hay diferencias, básicamente por efecto de concentración de nutrientes [lo que explica los resultados de 3 con distintas partes de la rama]. A nivel de estaca, hubo diferencias entre genotipos siempre que fueran obtenidas de campo. Con las de invernáculo no se detect. dif. entre genotipos [a diferencia de 3]. EL FACTOR MAS IMPORTANTE A CAMPO ES EL ESCAPE

78: las plantas más viejas tienen más resistencia. Hay distintos mecanismos de resistencia en distintas partes de la planta (suena a resist. morfológica)

4: este paper dice [lo mismo](#)

36: apoya la hipótesis morfológica (cutina, esclerénquima)

62: las plantas de invernáculo son más susceptibles (por su morfología)

7: los cvs. resistentes tienen gralmente. morfología tisular similar

94: no todo es escape, ya que no todos los erectos son igualmente resistentes.

76: las sojas de flor morada tienen resistencia (pigmentos morados del ciclo de los fenoles?, VER TRABAJO DE LA HELIA DE LA MARIA ANTONIETA, no lo fotocopie)

121: distintos lugares de la planta y distintos inóculos (ascoporas vs esclerocios) implican distintos mecanismos de defensa (idem a 4 y 78). No lastima, de manera que la epidermis tiene importancia.

2: parece haber reacciones hipersensitivas.

126: hipótesis fisiológica

75: por lo que dice en la pag. 416 (*) apoya la hipótesis morfológica.

77: lo mismo que 75 (ver pag 320 *). Si dejas mucho tiempo el inóculo, vences las resistencias morfológicas (s/ * pag 321)

58: parece sugerir defensa morfológica, lo mismo que la anterior (77) en la pag. 204 donde dice OJO.

119: en los resistentes demora más en penetrar (a campo es importante esto). See also 96

87: al ser más suculentos los tallos a los 11 días de vida, no hay diferencias entre los porotos de semillas pequeñas (gralmente dan plantitas pequeñas y suculentas) See also

77. EXPLICACION MORFOLOGICA EN BASE A LUMSDEN QUE NO PUDE FOTOCOPIAR! MUY INTERESANTES CONSIDERACIONES MORFOLOGICAS Y SUGERENCIAS FISIOLOGICAS. A VECES LO MAS PROBABLE ES COEXISTENCIA DE MECANISMOS MORFOLOGICOS Y FISIOLOGICOS

105: plantas de invernáculo son más suculentas y menos resistentes.

56: otra vez influye el momento de corte en la morfología y consecuente resistencia.

38: las ramas dañadas son infectadas fácilmente (por saprofitismo o bien por que se rompe la defensa morfológica?)

90: a mayor suculencia, mayor lesión

109: A NIVEL DE AVANCE DENTRO DE LA RAMA, DIFERENCIAS A NIVEL DE RESISTENCIA AL ATAQUE DE SUST. PECTICAS POR EL OXALICO BRINDARIAN FORTALEZA A UN GENOTIPO (pag. 114)

92: los mecanismos de resistencia dependen del lugar de la planta atacado. Plantas jóvenes son menos resistentes al hongo

37: hay resistencia fisiológica

95: no recomienda la técnica del palillo pues rompe defensas (morfológicas) naturales

83: rolfisii penetra la cutícula por presión. Luego el oxálico secuestra el Ca y las endo-PG atacan las sust. pécticas de la laminilla media.

127: la SKDH incrementa el grosor y dureza de la laminilla media otorgando una respuesta a la acción del oxálico durante el ataque de Ss en girasol.

64: degradando el oxálico (por transgénesis o simil) podés reducir el ataque. DESCRIBE EL MECANISMO DE ACCION PRIMARIA DEL OXALICO (VER TAMBIEN LOS TRABAJOS DE PUNJA)

128: tasa de avance lineal (cambia la pendiente de acuerdo al genotipo) en hoja y tallo.

Interacción ExperimentoxCultivar (usando tallos). Correlación entre grosor y lesión dependiente del cultivar (diferentes mecanismos?). Pigmentos

(antocianinas=>favonoides=>resistencia) predicen resistencia a campo. Cada genotipo tiene diferentes mecanismos como principal defensa.

semicirc6(Koch): en 1 dimensión el hongo crece linealmente, mientras que en dos dimensiones crece proporcionalmente al cuadrado del tiempo y en 3 dimensiones proporcionalmente al cubo del tiempo. Para que el micelio ocupe el espacio sobre el alimento (sobresalga de la estaca) debe haber ocupado en una dimensión (plano) y estar en contacto con esa superficie nutritiva. La velocidad de movilización de nutrientes

disponibles afecta K/S, por consiguiente el estado nutricional de la estaca y la facilidad con que se degradan los elementos de las células de la planta afectan el crecimiento del hongo ([see also](#))

*Uncle Charlie's personal communication: genes are more important than escape
UN BUEN METODO DEBERIA MOSTRAR EL TIEMPO QUE TARDA EN ENTRAR
[resistencia a la penetración] Y LA TASA DE EXPANSION UNA VEZ QUE ENTRO
[resistencia a la extensión] EL HONGO (ver para tasa92, 55 y los de Pratt)*

Que implicancias para el breeding tienen los resultados?

por que hay diferencias a nivel de spp? tiene que ver con zonas de origen, con morfología (Miklas *et al.*, 1992b, 87)? Revisar papers donde los spanish andan bien (particularmente los que prueban sobre celofan, (119) y los que prueban con extracto de planta, AUTOR (83)?).

H1: ver la calidad del método (como no tengo forma de ver si tiene repetibilidad, me guío por el CV)

H2: que pasó con las diferencias taxonómicas? Y con el origen geográfico? Que otros factores influyeron (morfología)?

H3: son distintos? Por que NO SON DIFERENTES VIEJOS DE NUEVOS? → BAJA HEREDAB POR ALTA COMPONENTE AMBIENTAL, RESIST + ESCAPE A CAMPO, SELECCIÓN TEMPRANA EN BASE A PARCELAS SIN REPETICION

H4: Que pasa con el modelo aplicado (aún no se cual). Se puede avanzar en la mejora en base a esta Heredabilidad?

Hay correlación? Parece que sí y es genética. Implica mecanismos de patogenicidad y resistencia similares.

*En base a la importancia relativa de cada factor evaluado (subespecie, variedad botánica, población, planta) y de las estimaciones de heredabilidad y correlación a cada uno de estos nivel,es pueden recomendarse las siguientes estrategias para el mejoramiento para resistencia a *S. sclerotiorum* y *S. rolfsii*.*

Mf478: MGS 9 x AcNc 2232

Mf 480: CS 9 x ICGS 5

El germoplasma evaluado en el ensayo de antigüedad es básicamente “*hypogaea*” (Knauft & Gorbet, 1989, USDA-ARS-GRIN, 1999). Comparando los valores medios y CV de cultivares con pedigree predominantemente “*hypogaea*” con las poblaciones “*hypogaea*” (evaluadas en los ensayos de taxonomía) pudo observarse que en la variable “lesr” los cultivares presentaron una reducción notoria en el valor medio y en el CV respecto de las poblaciones “*hypogaea*”. La menor extensión de la lesión causada por *S. rolfsii* podría deberse a que los cultivares han sufrido proceso de mejora efectivos para este carácter (Fehr, 1987). El menor CV de los cultivares probablemente se deba su composición genética más homogénea en relación a las poblaciones evaluadas. Sin embargo, el factor planta nunca alcanzó la significancia al evaluar las poblaciones frente a *S. rolfsii*. Con respecto a la variable “lesss”, tanto cultivares como poblaciones “*hypogaea*” exhibieron una media similar, pero el CV de los cultivares fue claramente inferior. Ello probablemente se deba nuevamente a su mayor homogeneidad genética. Esta explicación parecería verse fortalecida al considerar los CV extremos observados en los diversos cultivares en comparación con los de las poblaciones “*hypogaea*”. En el mismo sentido podría interpretarse la falta de significancia estadística del factor “planta” en el ensayo n° 4 (antigüedad de Ss.). Algo similar fue informado por (45). Sin embargo, este mismo factor alcanzó significancia estadística en el ensayo n° 3 (antigüedad de Sr), de manera similar a los observado por (4). Por ello, esta explicación (homogeneidad genética de los cultivares) podría no ser aplicable a la resistencia a *S. rolfsii*.

preguntarle al negro porque los cultivares tienen “planta” significativo pero a la vez tienen menor CV que poblaciones que tiene “planta” ns

Cuadro ¿?: Análisis de la Varianza del Grosor de la estaca (ensayo nº1)

Fuente de Variación	Grados de libertad	SC Tipo III	CM	F	Pr > F
Subespecie	1	322,57	322,57	24,24	0,0001
Var. Bot.(Subespecie)	2	73,77	36,89	2,77	0,0826
Población(Var.Bot.)	24	319,39	13,31	22,44	0,0001
Planta(Población)	168	93,24	0,56	1,16	0,1202
Bloque	2	1,89	0,94	1,97	0,1403
Error	387	181,08	0,47		
Total	584	991,94			

Cuadro ¿?: Análisis de la Varianza del Grosor de la estaca (ensayo nº2)

Fuente de Variación	Grados de libertad	SC Tipo III	CM	F	Pr > F
Subespecie	1	330,02	330,02	24,28	0,0001
Var. Bot.(Subespecie)	2	75,24	37,62	2,77	0,0829
Población(Var.Bot.)	24	326,22	13,59	23,58	0,0001
Planta(Población)	168	93,19	0,55	1,14	0,1566
Bloque	2	1,93	0,96	1,97	0,1194
Error	388	184,77	0,48		
Total	585	1011,37			

Cuadro ¿?: Análisis de la Varianza del Grosor de la estaca (ensayo n°3)

Fuente de Variación	Grados de libertad	SC Tipo III	CM	F	Pr > F
Grupo	1	0,89	0,89	0,28	0,6021
Cultivar(Grupo)	18	57,04	3,17	10,19	0,0001
Planta(Cultivar)	120	32,86	0,27	1,15	0,1805
Bloque	2	0,23	0,11	0,49	0,6103
Error	274	64,27	0,23		
Total	415	155,29			

Cuadro ¿?: Análisis de la Varianza del Grosor de la estaca (ensayo n°4)

Fuente de Variación	Grados de libertad	SC Tipo III	CM	F	Pr > F
Grupo	1	0,81	0,81	0,26	0,6155
Cultivar(Grupo)	18	56,13	3,12	14,33	0,0001
Planta(Cultivar)	120	15,13	0,22	1,15	0,1072
Bloque	2	0,20	0,10	0,54	0,5843
Error	277	51,15	0,18		
Total	418	123,42			