TIZON DE LA AZUCENA («LILIUM LONGIFLORUM») PRODUCIDO POR «BOTRYTIS ELLIPTICA» (BERK.) COOKE EN LA ARGENTINA *

POR HECTOR E. ALIPPI [1]

Hacia fines de 1967 llegaron a la Cátedra unas plantas de azucena *(Lilium longiflorum)* que presentaban unas manchas sobre hojas, tallos y flores que preocupaban seriamente a los cultivadores instalados en los alrededores de La Plata.

Como primer intento de diagnóstico colocamos algunas de las hojas que presentaban las manchas en cámara húmeda. Al cabo de 2 ó 3 días apareció sobre las mismas una abundante eflorescencia grisácea, la que observada al microscopio se nos mostró como conidióforos y conidios de un hongo perteneciente al género *Botrytis*.

Esta enfermedad, denominada por la mayoría de los autores tizón de la azucena, se halla difundida en todo el mundo, llegando en algunos países a ser la más importante de la azucena, tal como señala Guterman (12) para los EE. UU., donde se citan casos con daños a 50.000 flores en un solo cultivo (1).

Dado que en nuestro medio, hasta el presente no había sido observada y su aparente gravitación en el cultivo, es que nos propusimos su estudio.

* Trabajo realizado en la Cátedra de Fitopatología de la Facultad de Agronomía y presentado a las Jornadas Fitosanitarias celebradas en dicha Facultad entre el 15 y el 17 de octubre de 1969.

[1] Ingeniero agrónomo, profesor adjunto interino de la Cátedra de Fitopatología. El autor agradece al Prof. Emérito Ing. Agrón. Juan C. Lindquist las observaciones realizadas al presente trabajo.

ANTECEDENTES

Como dijéramos, la enfermedad es conocida en muchas partes del mundo, pudiéndose indicar su presencia —entre otros— en Canadá (3), Dinamarca (2), Rusia (27), Suecia (4), Japón (13), Alemania (17), Inglaterra (10), Holanda (24), Italia (18), Polonia (6), etc.

La literatura señala como organismo causante de la enfermedad a *Botrytis elliptica* (Berk.) Cooke, el cual no es específico de la azucena, ya que Mac Lean (15 y 16) lo cita sobre gladiolo *(Gladiolus* spp.), *Colchicum autumnale* y *Erythronium grandiflorum* var. *pallidum;* Tompkins y Hansen (21) lo indican sobre *Stephanotis floribunda* en infecciones naturales y en infecciones artificiales sobre *Cyclamen;* finalmente Ark y Mac Lean (7) lo registran sobre nardo *(Polianthes tuberosa).*

También hemos encontrado mencionadas otras especies de *Botrytis* sobre azucena, tales como *B. cinerea* (11) y *B. liliorum* (14), aunque sus ataques frente al organismo que nos ocupa, son de mucha menor importancia.

El primer trabajo completo que sobre el patógeno hemos visto es el de Wright (26), quien indica que en 1889 Ward (25) describe una enfermedad de la azucena ocasionada por una especie de *Botrytis,* que desde entonces fue considerada como *B. cinerea;* pero aquel autor no está de acuerdo con ello, puesto que los caracteres señalados por Ward no corresponden a dicho hongo sino que se acercan más al organismo descripto anteriormente por Berkeley (8) como *Ovularia elliptica,* enmendado más tarde por Smith (20) quien lo ubicó en el género *Peronospora (P. elliptica)* y es así que funda la especie *Botrytis elliptica.* Esta fundación no es válida, como bien lo hacen notar van Beyma thoe Kingma y van Hell (23) —en el segundo y último trabajo "in extenso" que sobre el problema existe— por cuanto con anterioridad Cooke (9) la había fundado en un trabajo que seguramente Wright no vio.

Por lo tanto, el nomenclator de esta especie sería provisoriamente, siguiendo a van Beyma thoe Kingma y van Hell *(loc. cit.),* el siguiente:

Botrytis elliptica (Berk.) Cooke. - Fungoid Pests usw, Tab. 6, fig. 80, 1906.

Ovularia elliptica Berk. - Gardeners Chronicle XVI: 340, 1881.

Peronospora elliptica (Berk) Smith. - Disease of Lilies, Gardeners Chronicle 3 serie, V : 799, 1889.

Botrytis elliptica (Berk.) Wright. - Trans. & Proc. of the Bot. Soc. of Edinburgh. XXX (I) : 59, 1928.

Como dijimos, luego del trabajo de van Beyma thoe Kingma y van Hell no existe ningún otro similar. Hemos encontrado varios trabajos y citas sobre la enfermedad pero todos limitados a un aspecto, ya sea el control, a condiciones predisponentes o a la biología del parásito; pero en su mayoría son meras menciones sobre la presencia de la enfermedad en un determinado lugar.

SINTOMATOLOGIA

Sobre las hojas de las plantas atacadas se observan primeramente manchas pequeñas de 0,5 a 1 cm, aisladas, naviculares, con su parte central transparente en razón de haber desaparecido el tejido parenquimático, quedando sólo la epidermis; a su alrededor existe una zona castaño claro y en el borde limitante con la región sana hay otra castaño oscuro. Es frecuente observar un halo clorótico alrededor de estas lesiones (Lám. I, fig. 1).

Más adelante, a partir de estas manchas, se generaliza una necrosis en forma de mancha de color castaño claro que cubre una amplia zona de la hoja. Esta necrosis se hace confluente con otras, llegando a abarcar toda la hoja y dándole un aspecto de escaldado. Las nervaduras de estas lesiones permanecen de color castaño más oscuro y las manchas iniciales que en ellas quedan englobadas, mantiene su individualidad (Lám. I, fig. 1). En algunos casos, estas necrosis generalizadas se producen sin que previamente se formaran las manchas iniciales, hecho que ocurre principalmente a partir de los ápices de las hojas (Lám. I. fig. 1).

En los pimpollos florales el ataque por lo general comienza por los ápices de los tépalos produciendo manchas castaño oscuro (Lám. I, fig. 2). Esto determina una detención del crecimiento por lo que la flor queda deformada al abrirse y resulta de este modo de valor comercial nulo. También se observan a veces sobre cualquier parte de los tépalos manchas pequeñas, acuosas, circulares a naviculares, deprimidas que luego se necrosan y agrandan.

En los tallos aparecen manchas similares a las iniciales de las

hojas; son alargadas, color castaño claro, con el centro casi blanquecino (Lám. I, fig. 1), pero no llegan a extenderse y cubrir áreas mayores como en aquéllas.

ETIOLOGIA

Aislamos el parásito a partir de hojas que presentaban los síntomas característicos. Para ello utilizamos dos métodos, los que por igual resultaron satisfactorios: *a*) de las eflorescencias que aparecen sobre las manchas de las hojas puestas en cámara húmeda, tomamos una pequeña cantidad con aguja flameada y la depositamos en cajas de Petri con agar de papas glucosado al 2 %; *b*) tomamos trocitos de hojas con los síntomas característicos y los desinfectamos con alcohol de 70° y bicloruro de mercurio al 1 °/oo, lavándolos luego con agua destilada estéril y los depositamos en cajas de Petri con el mismo medio señalado en *a*). En ambos casos, al cabo de 4 ó 5 días de incubación a 29° C aparecieron las colonias del patógeno desarrollando luego perfectamente en dicho medio.

El micelio es algodonoso, abundante, primeramente blanquino, más tarde toma un tono grisáceo-pardusco ("ratón"); esta coloración no es uniforme en toda la colonia cuando ésta se extiende sobre toda la placa de agar, ya que se observan sectores irregulares más claros que otros y en los bordes de la caja o de los tubos se produce una delgada costra o cordón continuo de color negruzco formado por esbozos de esclerosis. El micelio sumergido no difiere mayormente del aéreo.

En microcultivos, cuando el micelio se extiende sobre el porta, se producen en los extremos de las hifas unas formaciones muy características a manera de dedos de guante (Lám. I, fig. 3). Suponemos se trata de apresorios desarrollados en contacto con una superficie inerte y creemos serían los "complex tassel-shaped organs" a que se refiere Wright *(loc. cit.)* como elementos de adhesión.

En algunos cultivos se formaron esclerocios de 4-10 mm, irregulares en su forma, de color negro, aplanados a ligeramente convexos. Esta formación se produjo después de un mes de mantener dichos cultivos a temperatura ambiente. A pesar de haber utilizado diversos procedimientos no hemos conseguido hacer germinar los esclerocios.

En los cultivos en que se formaron esclerocios comprobamos la

presencia de gran cantidad de espermacies esféricas o poliédricas (Lám. I, fig. 4), hialinas, de 2 μ de diámetro, las que se forman a partir de fialides hialinas, tabicadas, agrupadas en densos verticilos, miden 4-7 μ $\times$ 2-3 μ (Lám. I, fig. 5). Las espermacies se producen a partir del extremo de la fialide, la que se adelgaza mucho a manera de un esterigma (Lám. I, fig. 6) y como lo hacen una a continuación de otras quedan dispuestas sobre el sustrato en forma de cadenas pero sin interconexiones entre sí.

Wright *(loc. cit.)* llama la atención por no haber observado espermacies ni aún después de 3 meses de antigüedad del cultivo y ni van Beyma thoe Kingma y van Hell ni los restantes autores consultados las registran, por lo tanto creemos que es esta la primera cita que se hace de estos elementos con respecto a *B. elliptica.*

En los medios de cultivo utilizados, el hongo produce muy escasos conidióforos y conidios y muchas veces no lo hace en absoluto, pero sobre las lesiones de las hojas se observan abundantemente. Los conidióforos son bien desarrollados, tabicados, de color castaño que se va aclarando hacia los extremos, donde se ramifican cortamente soportando a los conidios que se insertan directamente sobre los extremos, o sea sin esterigmas, dejando a su caída cicatrices a manera de rodetes que luego se plasmolizan (Lám. I, fig. 7 y Lám. II, figs. 8 y 9). Este tipo particular de terminación de los conidióforos es igual al que señaláramos en un trabajo anterior (5) para *Botrytis gladiolorum* Timm. lo cual los diferencia netamente de *B. cinerea.*

Una vez desprendidos los conidios, muchos conidióforos —si se encuentran en ambiente húmedo— producen una abundante proliferación micelar (Lám. I, fig. 10) que les da un aspecto arborescente. En otros casos, a la caída de los conidios, el conidióforo continúa creciendo para dar una nueva cabezuela de esporas, mientras quedan en la parte inferior los restos de las cortas ramas de la producción anterior (Lám. II, fig. 11).

Los conidios son grandes, ovoides a piriformes y algunos bastante deformados; son de color ligeramente oliváceo y miden 17-30 μ $\times$ 13-24 μ, término medio 21,9 $\times$ 16,6 μ (Lám. I, fig. 7 y Lám. II, fig. 8)

De acuerdo con los caracteres señalados, confirmamos que el organismo que nos ocupa es *Botrytis elliptica* (Berk.) Cooke.

PATOGENICIDAD

Con el fin de probar la patogenecidad del organismo efectuamos inoculaciones en plantas de azucena de aproximadamente 2 meses cultivadas en macetas y las pulverizamos con una suspensión de micelio y esporas en agua destilada estéril, proveniente de cultivos en agar de papas glucosado al 2 %.

Esas plantas fueron colocadas en invernáculo en cámara húmeda por espacio de 72 horas. Los testigos fueron puestos en iguales condiciones pero sólo rociados con agua destilada estéril.

Luego de 8-10 días de permanencia en invernáculo, aparecieron sobre las hojas de las plantas inoculadas las manchas iniciales características de la enfermedad que más tarde se extendieron, llegando a matar algunas hojas (Lám. II, fig. 12).

De estas lesiones logramos reaislar fácilmente al patógeno mediante las dos técnicas enunciadas anteriormente.

CONTROL

Las medidas de control que hemos hallado en la literatura consisten en el empleo de pulverizaciones con caldo bordelés, según Guterman *(loc. cit.)* y Slate (19), mientras que Horsfall (28) señala como promisorio el uso de óxido rojo de cobre con azufre (20 : 80) y Tuffey (22) consigna haber obtenido un buen control mediante el empleo de estreptomicina (300 p.p.m.) aplicada en dos veces con un día de intervalo, dicho producto actúa en forma sistémica, por lo que no son necesarios nuevos tratamientos.

Asimismo Guterman *(loc. cit.)* y Cotton (10) registran el comportamiento de diversas especies de *Lilium* frente al patógeno:

SUSCEPTIBLES

- *L. longiflorum*
- *L. candidum*
- *L. chalcedonicum*
- *L. aurantum*
- *L. croceum*
- *L. dauricum*
- *L. humboldtii*
- *L. pardalinum*
- *L. speciosum*
- *L. testaceum*
- *L. henryi*

RESISTENTES

- *L. callosum*
- *L. concolor*
- *L. japonicum*
- *L. pyrenaicum*
- *L. regale*

RESUMEN. — En este trabajo se cita por primera vez en la Argentina el tizón de la azucena (*Lilium longiflorum*) ocasionado por *Botrytis elliptica* (Berk.) Cooke. Se describe la sintomatología de la enfermedad y los caracteres del patógeno, señalándose con respecto al mismo la presencia por primera vez de espermacies. Se efectúa una reseña de las medidas de control citadas en la literatura.

SUMMARY. — **Lily blight caused by « Botrytis elliptica » (Berk.) Cooke in Argentina** by HÉCTOR E. ALIPPI. — In this paper the description is made of the Lily blight caused by *Botrytis elliptica* (Berk.) Cooke. The details of the symptoms and characters of the fungus are given. The presence of spermatia in the *Botrytis elliptica* cycle is pointed out for first time. Different means of control used in foreign countries are dealt with.

BIBLIOGRAFIA

1. Fiftieth Annual Report of the Rhode Island State College Agricultural Experiment Station, 1938.
2. *Plant Disease in Danmark 1946*. Annual Survey of data collected by the State Phytopathological Experiment Station. Tidsskr. Planteavl, 52 (2): 237, 1948.
3. Progress Report 1934-1948. Division of Horticulture. Central Experimental Farm. Ottawa. 259 pp., 1950.
4. *Two destructive diseases of cultivated Lilies. Mosaic disease and grey mould.* Flygbl. Växtskyddsant., Stockh., 32, 1937.
5. ALIPPI, H. E. *Podredumbre de gladiolos ocasionada por « Botrytis gladiolorum » en la Provincia de Santa Fe (Argentina)*. Rev. Fac. de Agronomía La Plata 3ª época 42 (2): 131, 1966.
6. ANTOSZCZYSZYN, S. y T. MADEJ. *Tulip fire (« B. tulipae »)* and *Lily disease (« B. elliptica » in Szczecin.* Biul. Inst. Ochr. Rośl., Poznan, 30 . 51, 1955.
7. ARK, P. A. y N. A. MAC LEAN. *Botrytis spot and blight of Tuberoses in California.* Plant Dis. Reptr. 35 (1): 45, 1951.
8. BERKELEY, J. M. Gardeners Chronicle, 16 : 340, 1881.
9. COOKE, M. C. *Fungoid Pests usw.* Tab. 6 fig. 80, 1906.
10. COTTON, A. D. *The detection and control of Lily deseases.* ex Lily Yeard Book 1933. London Royal Hortic. Soc. : 194, 1933.
11. DOWSON, W. J. *Some fungus diseases of bulbs.* Journ. Roy. Hort. Soc. 53 (1): 45, 1926.
12. GUTERMAN, C. E. F. *Final summary of the work on diseases of Lilies for the Lily disease investigation Fellowship.* Hortic. Soc. New York Yearbook : 51, 1930.
13. IKATA, S. y T. HITOMI. *Studies on the putrefaction disease of edible Lilies.* Rept. Agric. Exper. Stat. Okayamaken. Japanese Journ. of Botany 7 (1-2): 6, 1934.

14. MAC LEAN, N. A. *Botrytis on Lilies.* Abs. in Phytopathology 41 (10): 941, 1951.

15. — *New hosts for « Botrytis cinerea »* and *« B. elliptica » in the Pacific Northwest.* Phytopathology 39 (11): 949, 1949.

16. — *New hosts for « Botrytis elliptica ».* Phytopathology 38 (9): 752, 1948.

17. PAPE, H. *Die Botrytiskrankheit der Lilien.* Blumen und Pflanzenbau verein. mit Gartenwelt 38 (28): 363; (29): 387, 1934.

18. SERVAZZI, O. *« Botrytis elliptica » (Berk.) Cooke parassita dei Gigli in Italia.* Ann. Sper. Agr., N. S. 5 (5): 1139, 1951.

19. SLATE, G. L. *Disease among the Lilies.* Holticulture 14 (5): 96, 1936.

20. SMITH, W. G. *Disease of Lilies.* Gardeners Chronicle. 3ª Ser. 4: 184, 1888.

21. TOMPKINS, C. M. y H. N. HANSEN. *Flower blight of « Stephanotis » floribunda, caused by « Botrytis elliptica », and its control.* Phytopathology 40 (8): 780, 1950.

22. TUFFERY, L. *Antibiotics and disease. Experiments with plants.* N. Z. Gdnr. 10 (5): 340, 1954.

23. VAN BEYMA THOE KINGMA, F. H. y W. F. VAN HELL. *Ueber die Botrytiskrankheiten der Lilien.* Phytopath. Z. 3 (6): 619, 1931.

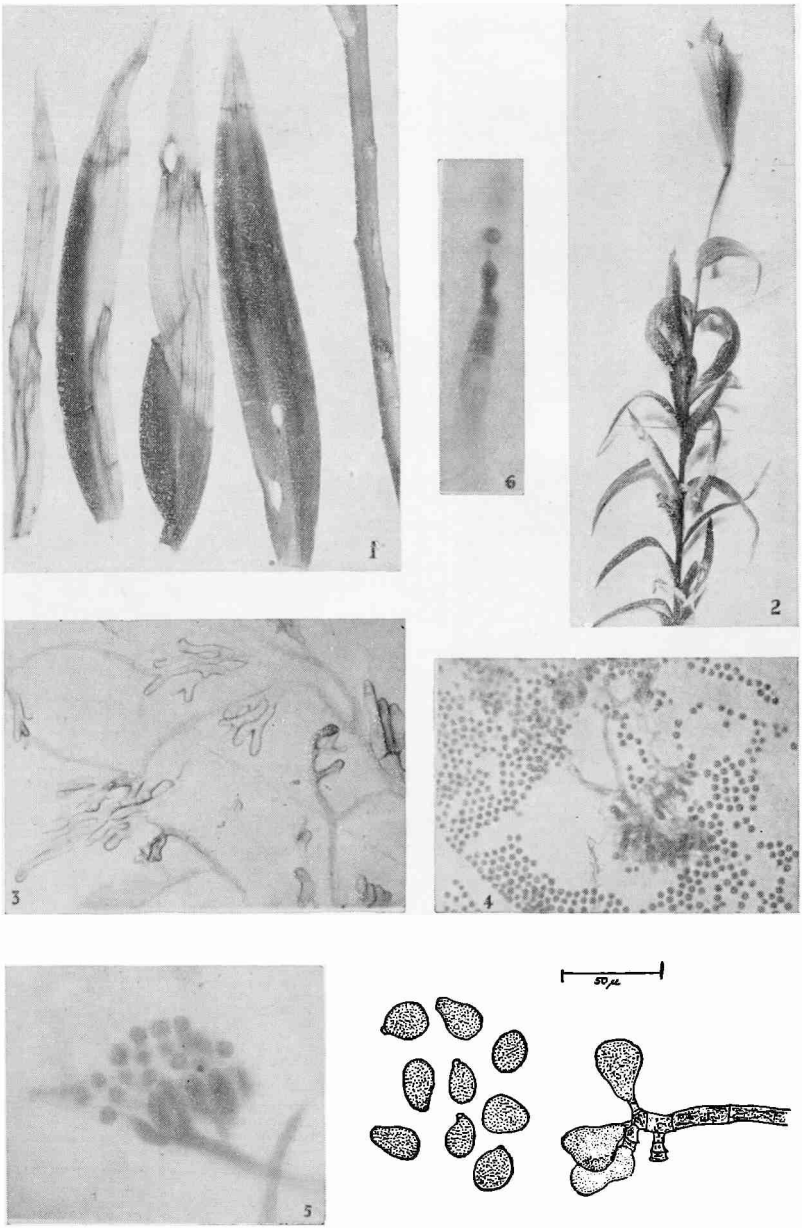
24. VAN HELL, W. F. *Investigations on Lily diseases.* Thesis, Univ. of Utrecht, Baarn, Hollandia-Drukkerij, 1931 (Abs. en R. A. M. 11 (4): 243, 1932).

25. WARD, H. M. *A Lily disease.* Annals of Botany II: 319, 1888.

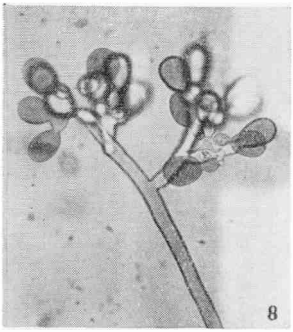
26. WRIGHT, J. *The causal parasite of the Lily disease.* Trans. & Proc. Bot. Soc. of Edinburg 30 (1): 59, 1928.

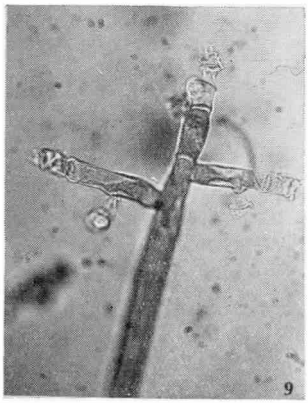
27. ZERova, M. Y. *Diseases of Lilies in Kieff nurseries.* J. Bot. Acad. Sci. Ukr. 1 (1): 143, 1940.

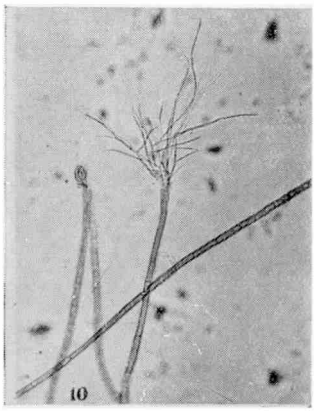
28. HORSFALL, J. G. *Red oxide of copper as a dust fungicide for combating damping-off by seed treatament.* New York (Geneva) Agric. Exper. Stat. Bull. 615, 1932.

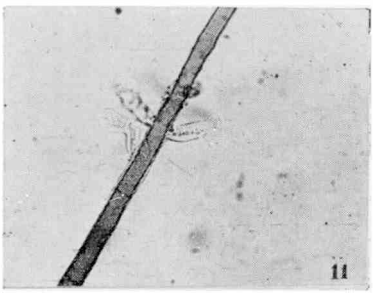


Figs. 1-7. — 1, Síntomas en infecciones naturales sobre hojas y tallos. Se observan las manchas naviculares iniciales y la necrosis generalizadas como síntoma secundario ; 2, síntomas en infecciones naturales en pimpollos. Obsérvanse las necrosis que comienzan por los extremos de los tépalos ; 3, formaciones en dedo de guante en un microcultivo × 300 : 4, espermacies producidas en cultivo en A. P. G. × 300 ; 5, conjunto de fialides con espermacies × 500 ; 6, adelgazamiento de la fialide a manera de esterigma para la producción de una espermacie × 500 ; 7, conidióforo y conidios. Originales.









Figs. 8-12. — 8. Conidióforo y conidios × 350 ; 9, conidióforo luego de la caída de los conidios, se observan los rodetes que recuerdan los lugares de inserción de las esporas. × 350 ; 10, conidióforo que ha proliferado en micelio luego de la caída de los conidios. × 250 ; 11, conidióforo que a la caída de los conidios ha continuado creciendo para producir más tarde otra cabezuela de esporas. × 350 ; 12, infecciones artificiales : plantas de la izquierda, infectadas ; la de la derecha, testigo. Originales.