

***Fusarium oxysporum*, potencial agente de control biológico para *Sorghum halepense* en Argentina**

Stocco, Marina Celeste^{1,7,9}; Gladys Lampugnani^{3,4}; Cecilia Abramoff^{3,4}; María Soledad Zuluaga^{3,5}; Sebastián Stenglein^{2,7}; Horacio Acciaresi^{3,5}; Cecilia Inés Mónaco^{1,8}

¹Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI). CIC-Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 119 S/N CC. 31(1900) La Plata. Buenos Aires. Argentina;

²Laboratorio de Biología Funcional y Biotecnología (BIOLAB Azul)-CICBA-INBIOTEC. Cátedra de Microbiología. Facultad de Agronomía de Azul-UNCPBA. Av. República de Italia #780, 7300-Azul, Buenos Aires, Argentina. BIOLAB Azul; ³Centro de Investigación en Sanidad Vegetal (CISaV). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 119 S/N CC. 31(1900) La Plata. Buenos Aires. Argentina; ⁴Cátedra de Terapéutica vegetal Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales Universidad Nacional de La Plata; ⁵Cátedra de Cerealicultura Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales Universidad Nacional de La Plata; ⁷Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); ⁸Comisión de Investigaciones Científicas (CIC); ⁹marinastocco343@yahoo.com.ar

Stocco, Marina Celeste; Gladys Lampugnani; Cecilia Abramoff; María Soledad Zuluaga; Sebastián Stenglein; Horacio Acciaresi; Cecilia Inés Mónaco (2018) *Fusarium oxysporum*, potencial agente biocontrolador para *Sorghum halepense* en Argentina. Rev. Fac. Agron. Vol 117 (1): 61-67.

El sorgo de Alepo (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) es una de las especies de malezas perennes más importantes en el mundo. Hasta el momento, no se ha podido disminuir su propagación e incidencia en los sistemas agrícolas. El biocontrol es una posible alternativa de manejo de malezas. El objetivo del trabajo fue evaluar por primera vez en Argentina, el efecto de diferentes técnicas de aplicación de *Fusarium oxysporum* sobre el crecimiento aéreo y subterráneo del sorgo de Alepo. Además, se estudió la acción del patógeno sobre la germinación de semillas de maíz, girasol, soja y sorgo granífero, teniendo en cuenta que podría afectar a estos cultivos. Se utilizaron dos técnicas de aplicación del patógeno. La aplicación de una suspensión de esporas de *F. oxysporum* en suelo (técnica líquida) mostró que a los tres meses se había producido la muerte del total de las plantas, mientras que con la técnica de infestación del suelo con un cultivo sólido del patógeno (técnica sólida) a los 90 días sólo había muerto el 65% de las plantas. *F. oxysporum* no disminuyó el porcentaje de germinación de los cultivos de soja, girasol, sorgo granífero y maíz, por lo que este hongo podría utilizarse como agente de biocontrol del sorgo de Alepo. Sin embargo, es necesario conocer el rango de hospedantes del patógeno para poder evaluar los riesgos de usar este antagonista.

Palabras claves: sorgo de Alepo; malezas; biocontrol; *Fusarium oxysporum*.

Stocco, Marina Celeste; Gladys Lampugnani; Cecilia Abramoff; María Soledad Zuluaga; Sebastián Stenglein; Horacio Acciaresi; Cecilia Inés Mónaco (2018) *Fusarium oxysporum*, potential biocontrol agent for *Sorghum halepense* in Argentina. Rev. Fac. Agron. Vol 117 (1): 61-67.

Johnsongrass (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) is one of the most important species of perennial weeds in the world. Despite the different chemical control strategies studied, its incidence has not decreased in agricultural systems. Because of this, biological control appears as an alternative weed management strategy. The objective of this study was to evaluate for the first time in Argentina, the efficiency of different methods of application of strains of *Fusarium oxysporum* on growth of johnsongrass. In addition, the effect of the pathogen seed germination of corn, sunflower, soybean and sorghum was determined. We used two methods of application of the pathogens. The application of a spore suspension of *F. oxysporum* in soil (liquid technique) showed that after three months the total of the plants had died, while with the technique of soil infestation with a solid culture of the pathogen (solid technique) at 90 days only 65% of the plants had died. *F. oxysporum* did not decrease the percentage of germination of soy, sunflower, grain sorghum and corn crops, so this fungus could be used as a biocontrol agent for Johnsongrass. However further studies on its effect on these and other hosts are necessary to fully assess the risks its use would involve.

Keywords: Johnsongrass; weed; biocontrol; *Fusarium oxysporum*.

Recibido: 01/11/2016

Aceptado: 16/04/2018

Disponible on line: 10/09/2018

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

INTRODUCCIÓN

Los cultivos resistentes a herbicidas (CRH) se han convertido en el esquema dominante de los agroecosistemas en distintas áreas agrícolas mundiales (James, 2007), modificando de manera creciente la composición y la dinámica de los paisajes regionales (Lundgren et al., 2009).

En Argentina el enfoque más utilizado para tratar de solucionar el problema de malezas en sistemas extensivos, consiste en el control químico a través del uso de CRH, con gran preponderancia del uso de soja resistente a glifosato.

La introducción y la intensa adopción de nuevas alternativas de manejo de malezas a menudo resultan en cambios en las especies que caracterizan a las distintas poblaciones (Culpepper, 2006). Estos cambios suelen modificar la composición desde especies susceptibles a especies más tolerantes a herbicidas y se observa tanto bajo la acción del control químico como de otras alternativas de manejo (Culpepper, 2006; Margüerite et al., 2009; Vila-Aiub et al., 2007). Así, la amplia adopción de los CRH y el subsecuente uso de glifosato, en las distintas zonas agrícolas de Argentina, ha significado una importante presión de selección favoreciendo a las malezas que no son controladas por este herbicida. Además, se ha documentado la resistencia a glifosato en biotipos de *Sorghum halepense*, *Lolium perenne* (L) y *L. multiflorum* (Lam), en distintas áreas productivas de nuestro país (Margüerite et al., 2009; Yannicari et al., 2009; Vila-Aiub et al., 2007). Este hecho cobra relevancia si se tiene en cuenta la importante habilidad competitiva que han demostrado *S. halepense* y *L. multiflorum* en los agroecosistemas nacionales (Acciaresi & Guiamet, 2010).

Sorghum halepense, sorgo de Alepo, es una de las diez especies de malezas perennes más importantes del mundo, es una gramínea C4 rizomatosa que se reproduce por semillas y rizomas. Se trata de un tetra (N 5 10, 2n 5 40) alopoliploide. En Argentina fue introducida como forraje a principio del siglo XIX y rápidamente se naturalizó y extendió. A pesar de las distintas estrategias de control químicas estudiadas, no se ha podido disminuir su incidencia en los sistemas agrícolas en distintas partes del mundo.

Distintos estudios han investigado la capacidad competitiva que posee *S. halepense* en los sistemas de agricultura de la región pampeana argentina, así como varias características ecofisiológicas y demográficas de la especie (Ghersa & Martínez –Ghersa, 1991; Ghersa et al., 1992; Ghersa et al., 1993). Estos estudios han demostrado, por ejemplo, que las pérdidas en el rendimiento del cultivo variaron entre 12 a 95% en maíz, del 19 al 99% en girasol y 18 a 94% en soja con bajos y altos niveles de infestación, respectivamente.

A pesar de la eficiencia en el control de malezas que el uso de los CRH ha alcanzado, el enfoque ha generado una importante inquietud basado en los riesgos ambientales en los que expone al agroecosistema y a la humanidad cuando su uso es predominante en un sistema productivo (Radosevich et al., 2007). Estos factores han fomentado a buscar alternativas de manejo, entre las que el control biológico ocupa un rol preponderante (Ghosheh, 2005).

Existen numerosos ejemplos del uso de microorganismos para el biocontrol de malezas, entre ellos *Sphacelotheca holci* que reduce el crecimiento y altera las características morfológicas del sorgo de Alepo (Massion & Lindow, 1986). Estos autores, en estudios de invernáculo, observaron que el 55% de las plantas inoculadas con este patógeno sufrieron daños severos. Chandramohan & Charudattan (2001) demostraron la efectividad de tres hongos patógenos (*Drechslera gigantea*, *Exserohilum longirostratum* y *E. rostratum*) en el biocontrol de sorgo de Alepo. Asimismo, Winder & Van Dyke (1990) establecieron el potencial efecto biocontrolador de dos cepas de *Bipolaris* sp. sobre la misma maleza. Entre los patógenos fúngicos que afectan al *S. halepense* se destacan *Sporisorium holci*, *E. turcicum*, *Colletotrichum graminicola*, *Bipolaris halepense* (Massion & Lindow, 1986), *Bipolaris sorghicola* (Acciaresi & Mónaco, 1999), *S. cruentum* (Astiz-Gasso et al., 2002) y a *Gloeocercospora sorghi* (Mitchel et al., 2003) como potenciales agentes de biocontrol.

Asimismo, varios hongos de suelo han sido estudiados desde principios de la década de 1990, como candidatos potenciales para combatir malezas hemiparásitas de los géneros *Striga* y *Orobancha* (Kroschel & Müller-Stoeber, 2004). Müller-Stoeber (2001) observó una tasa de germinación reducida de las semillas de *O. crenata* causada por *Fusarium oxysporum*. Recientes observaciones mostraron que *F. oxysporum* redujo significativamente la emergencia de *S. hermonthica* y *S. asiática* (Elzein & Kroschel, 2006). Tiourebaeu et al. (2001) evaluaron el efecto de *F. oxysporum* f sp. *cannabis* sobre *Cannabis sativa*, y observaron una reducción del rendimiento en un 30%. Resultados similares observaron Boyette et al. (1993) sobre *Cassia obtusifolia*, *C. occidentalis* y *Sesbania exaltata* utilizando *F. oxysporum* como agente de biocontrol. Recientemente, Boyette et al. (2014), evaluaron el efecto de *Colletotrichum truncatum* para el biocontrol de *Sesbania exaltata*, con resultados muy promisorios.

En este contexto el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes técnicas de aplicación de cepas de *Fusarium oxysporum* (sólida y líquida) sobre el crecimiento aéreo y subterráneo del sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*) y sobre la germinación de semillas de maíz, girasol, soja y sorgo granífero teniendo en cuenta que este hongo podría afectar a especies de importancia económica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento y caracterización del agente causal de la podredumbre de los rizomas de sorgo

Se recolectaron rizomas de plantas de *S. halepense* en estado vegetativo con síntomas de podredumbre. Provenientes de infección espontánea de campos en producción de los alrededores de la localidad de La Plata provincia de Buenos Aires. Para aislar el agente causal, se cortaron trozos de rizomas que fueron desinfectados con alcohol 70 % e hipoclorito de sodio al 5% durante 2 minutos. Luego, se colocaron en cajas de Petri con Agar Papa Glucosado (APG) y se incubaron por 7 días a 25°C. El aislamiento obtenido fue

identificado por sus caracteres morfológicos siguiendo las claves de Brett et al. (2003) y Leslie & Summerell, (2006) y almacenado a 4°C en tubos de repique para su posterior utilización.

Un cultivo monospórico del aislamiento fue repicado a tubo pico de flauta con APG 2 % y a caja de Petri (9 cm de diámetro) con medio agar-clavel. A los 15 días de crecimiento en cámara de cultivo con alternancia de 12 h de luz/oscuridad a 25°C ± 2°C se caracterizó la colonia a nivel de especie, analizando las características morfológicas en APG y realizando observaciones microscópicas en fresco del material crecido en agar-clavel, utilizando un microscopio óptico Olympus CX31, según Leslie & Summerell (2006). Para corroborar la identificación morfológica se realizó una extracción de ADN del aislamiento fúngico, siguiendo el protocolo descrito por Stenglein & Balatti. (2006) y posteriormente una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un termociclador (XP Termal Cycler, Bioer Technology Co, LTD), utilizando los cebadores especie-específicos para *F. oxysporum* y el protocolo descrito por Mishra et al. (2003). Como control positivo se utilizó ADN de la colección del BIOLAB Azul, para comparar la amplificación. Para determinar el tamaño de los fragmentos se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pares de bases (DNA Ladder, Genbiotech).

Prueba de patogenicidad del aislamiento de *F. oxysporum*

Para comprobar la patogenicidad de la cepa aislada, se inocularon fitómeros (de 2 yemas) de rizomas de sorgo de Alepo cultivados en condiciones controladas, con una suspensión de conidios de *F. oxysporum* de 1×10^5 esporas/mL. La técnica consistió en sumergir los fitómeros en la suspensión de conidios durante media hora. Luego, fueron colocados en bandejas plásticas (22 cm x 17 cm x 4 cm) con arena.

Se evaluaron los rizomas que no brotaron y su sanidad. Para verificar la presencia del patógeno se realizaron aislamientos a partir de los fitómeros.

Ensayos en invernáculo

*Inóculo de *F. oxysporum**

Para lograr una cuantiosa esporulación del aislamiento de *F. oxysporum* se sembraron en cajas de Petri con el medio de cultivo APG y se incubaron durante 7 días a 25°C. La suspensión de conidios se obtuvo inundando las cajas con 5 ml de agua destilada; luego se raspó la superficie de la colonia con un ansa estéril y, por último, la suspensión resultante se filtró con una malla tramada, ajustando la concentración de esporas a 1×10^5 por ml con la cámara de Neubauer.

Los ensayos se realizaron en el invernáculo de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales UNLP (La Plata, Argentina), bajo condiciones controladas de temperatura y humedad relativa (20°C y 60 % de humedad relativa) durante un ciclo de crecimiento.

*Aplicación de *F. oxysporum**

Se utilizaron dos técnicas de inoculación de los rizomas, teniendo en cuenta que es un patógeno habitante de suelo. El efecto del patógeno se evaluó en macetas de un litro con suelo tinalizado y con tres plantas de sorgo de Alepo al estado de dos hojas

procedentes de fitómeros brotados. El ensayo se distribuyó en tres bloques con tres repeticiones al azar. La primera técnica fue la aplicación de una suspensión de esporas del patógeno con una concentración de 1×10^5 conidios/mL en suelo con fitómeros brotados de sorgo de Alepo (técnica líquida). La segunda fue la incorporación de un cultivo del patógeno en APG de 7 días de edad desmenuzado con bisturí, en las macetas, una semana antes de la incorporación de los fitómeros brotados de sorgo de Alepo (técnica sólida). Se realizaron testigos de ambas técnicas de inoculación. Las macetas se mantuvieron en invernáculo con condiciones controladas (20 °C y 60 % de humedad relativa).

Luego de tres meses, se evaluó el número de plantas muertas por efecto de *F. oxysporum*, el peso seco de la parte aérea y subterránea (rizomas) de las plantas. Se realizó la evaluación de todos los rizomas de cada una de las macetas. Se consideraron sanos aquellos que se mantuvieron turgentes y sin síntomas de la enfermedad y enfermos aquellos que tenían síntomas de podredumbre. Estos últimos, se llevaron al laboratorio y se realizó el aislamiento del agente causal.

Ensayos de germinación en maíz, soja, girasol y sorgo granífero inoculados con *F. oxysporum*

A fin de evaluar el efecto de *F. oxysporum* sobre cultivos de importancia económica (girasol, maíz, soja y sorgo granífero), se realizaron ensayos en laboratorio. Estos consistieron en sembrar semillas de cada una de las especies, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio (5 %) durante 5 minutos, en cajas de Petri estériles con 3 papeles de filtro. A cada caja se le agregó 9 ml de agua estéril, 1 ml de suspensión de *F. oxysporum* y 10 semillas de cada cultivo. Se realizaron 40 repeticiones de cada uno de los cultivos. Las cajas se llevaron a cámara climatizada (12 h luz+ cercana a UV, 12 h oscuridad, 23° ± 1°C, 75 % HR) durante 7 días para permitir su desarrollo. Se evaluó el porcentaje de semillas germinadas.

Análisis estadístico

Los datos de cada uno de los tratamientos se analizaron con ANOVA, comparando sus medias con el test de Fisher para un nivel de significancia del 5% ($P < 0,05$). Para analizar el efecto de *F. oxysporum* sobre la germinación de semillas de soja, girasol, sorgo granífero y maíz se realizó la prueba de t Student para muestras apareadas con un intervalo de confianza de 95 %. Para ambos análisis se utilizó el programa Infostat® (Di Rienzo et al., 2015).

RESULTADOS

Aislamientos y caracterización del agente causal de la podredumbre de los rizomas de sorgo

A partir de los rizomas enfermos se aisló una cepa del patógeno para estudiar su comportamiento como agente de biocontrol del sorgo de Alepo.

En APG las colonias mostraron crecimiento micelial de escaso a abundante y coloración pálida-violeta. El agar se tñó de pigmento violeta-oscuro. En agar-clavel se observaron esporodoquios de color naranja y macroconidios formados sobre monofilides, entre

falcados a rectos, usualmente con 3 septos. Se observó abundante formación de microconidios ovales/elípticos en falsas cabezuelas sobre monofálides cortas, usualmente sin septos. Según las observaciones realizadas se identificaron a las colonias como *Fusarium oxysporum* (Brett et al., 2003; Leslie & Summerell, 2006).

Además, la caracterización molecular mostró que tanto el control positivo como el ADN del aislamiento obtenido, amplificaron un fragmento de aproximadamente 340 pares de bases, de acuerdo con lo descrito por Mishra et al (2003), permitiendo corroborar de esta manera la identificación morfológica previamente realizada.

Prueba de patogenicidad del aislamiento de *F. oxysporum*

Como resultado de la prueba de patogenicidad se observó que un 60% de los rizomas inoculados con *F. oxysporum* presentaban síntomas de podredumbre (datos no presentados).

Ensayos en invernáculo

El tiempo en que se produjo la mortalidad de los rizomas fue estadísticamente diferente con las dos técnicas de inoculación (E1 y E2) respecto al testigo (Figura 1). La aplicación de una suspensión de esporas de *F. oxysporum* en suelo (técnica líquida) mostró que a los tres meses se había producido la muerte del total de las plantas inoculadas, mientras que con la técnica de infestación del suelo (técnica sólida) con un cultivo sólido del patógeno a los 90 días solo había muerto el 65 % de las plantas.

Como se observa en la Tabla 1 y en la Figura 2, las plantas de sorgo de Alepo tratadas con *F. oxysporum* muestran una disminución significativa del peso aéreo comparado con el testigo.

Las plantas que fueron regadas con la suspensión de conidios presentaron una disminución del peso de la biomasa aérea de un 70 % respecto del testigo, mientras que en el tratamiento de infestación del suelo la disminución fue del 53 %.

Cuando se analizó el peso de los rizomas los diferentes tratamientos no presentaron diferencias significativas con respecto al testigo (Tabla 2). Igualmente, se observó una disminución del 40% del peso de los rizomas en relación al testigo, cuando se aplicó el patógeno como suspensión de esporas.

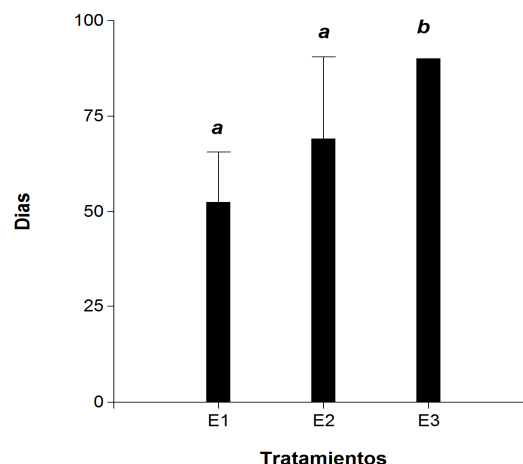


Figura 1. Tiempo en días en que se produjo el total de la mortandad de los rizomas en los diferentes tratamientos. E1: Aplicación de una suspensión de conidios de *F. oxysporum* (1×10^5 conidios/ml) al suelo. E2: infestación del suelo con un cultivo sólido del patógeno al momento del trasplante. E3: Testigo sin inocular (Letras diferentes indican diferencias significativas para un valor de significancia de $p \leq 0,05$).

Ensayos de germinación en maíz, soja, girasol y sorgo granífero inoculados con *F. oxysporum*

Los resultados de las pruebas de t de Student para muestras apareadas, para cada una de las semillas inoculadas con *F. oxysporum* y sin inocular mostraron un p-valor mayor a 0,05 lo que nos indica que el patógeno no afecta la germinación de las semillas (Tabla 3). Las diferencias encontradas en los porcentajes de germinación entre los tratamientos solo se deben al azar.

DISCUSIÓN

Las pérdidas causadas por las malezas representan uno de los principales factores limitantes de la producción agrícola en todo el mundo. La aplicación de herbicidas químicos es el método predominante de control (Abernathy & Bridges, 1994).

Tabla .1 Análisis de la varianza. Test LSD Fisher con los valores de significancia entre los diferentes tratamientos para los pesos de la biomasa aérea.

	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-Valor
Modelo	3,06	6	0,51	2,67	0,0996
Bloque	0,43	4	0,11	0,56	0,6976
Tratamientos	2,63	2	1,31	6,90	0,0180
Error	1,52	8	0,19		
Total	4,58	14			

Tratamientos	Medias (g)	
E3	1,71	a
E2	0,95	a b
E1	0,07	b

Sin embargo, los problemas van en aumento con la contaminación de los recursos hídricos, la acumulación de residuos químicos en el suelo, la aparición de resistencia a los herbicidas en especies de malezas y la reducción de la biodiversidad. Esto justifica la búsqueda de alternativas que podrían permitir la reducción o sustitución de las aplicaciones de herbicidas químicos, tales como el control biológico de malezas con fitopatógenos (Sisterna, 2002).

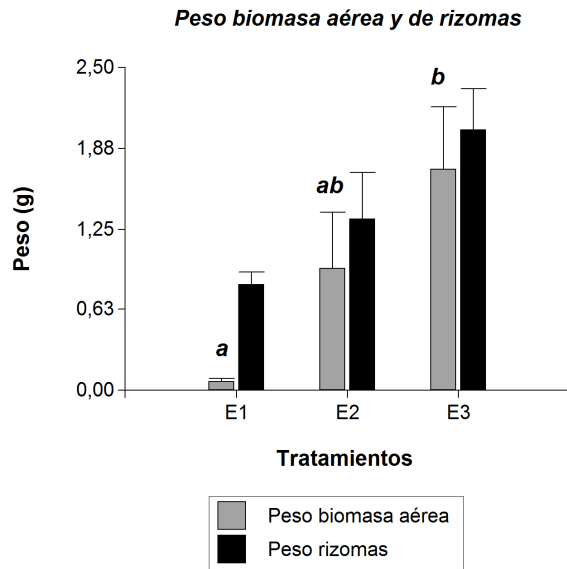


Figura 2. Peso promedio de biomasa aérea y subterráneas (rizomas) para los diferentes tratamientos expresado en gramos. E1: Aplicación de una suspensión de conidios de *F. oxysporum* (1×10^5 conidios/ml) al suelo. E2: infestación del suelo con un cultivo sólido del patógeno al momento del trasplante. E3: Testigo sin inocular. (Letras diferentes indican diferencias significativas para un valor de significancia de $p \leq 0,05$).

A partir de los rizomas de sorgo de Alepo estudiados se pudo aislar e identificar una cepa de *Fusarium oxysporum* (Brett et al., 2003; Leslie & Summerell, 2006).

Este es un hongo ampliamente citado como patógeno de numerosos cultivos y malezas (Kroschel & Müller-Stöver, 2004). Müller-Stöver (2001) Elzein & Kroschel, 2006; Kazemi & Shimi, 2005; Tiourebaev et al., 2001). Hasta el momento no se ha estudiado su efecto a largo plazo sobre el sorgo de Alepo.

El riego con una suspensión de conidios de *F. oxysporum* resultó el método más efectivo para disminuir la población de rizomas en el suelo con respecto al método de infestación. Dentro de un manejo sustentable la aplicación líquida del agente de biocontrol es un método aplicable y posible para controlar al sorgo de Alepo a campo.

La comercialización de patógenos fúngicos como agentes de control biológico de malezas, requiere que ejerzan un adecuado control en condiciones de campo, así como en la fase de pruebas de laboratorio e invernáculo.

Por ejemplo, los dos agentes disponibles comercialmente en los Estados Unidos, *Phytophthora palmivora*, comercializado como DeVine, y *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*, vendido como Collego, presentaron un gran éxito en pruebas de campo antes de su desarrollo comercial (Kenney, 1986; Bowers, 1986). Por lo tanto, nuestro desafío es obtener estabilidad de los resultados en condiciones de campo.

Otra de las características deseadas para un microherbicida es que tenga un alto grado de especificidad de hospedantes (Roskopf et al., 2000). Estos autores indicaron que *Phomopsis amaranthicola* podría ser utilizado como un bioherbicida para controlar especies de malezas del género *Amaranthus*, debido a su alta eficacia y a su especificidad de hospedantes. Faria et al. (2008) consideraron a una especie no descrita de *Septoria* como el agente de control biológico más prometedor sobre *Schinus terebinthifolius* (maleza de gran importancia en zonas tropicales y subtropicales), pero cuando realizaron los estudios preliminares sobre la especificidad de esta especie determinaron que era capaz de infectar a *Rhusmi chauxii* (especie nativa de *Anacardiaceae* en peligro de extinción). En nuestro estudio los resultados mostraron que *F. oxysporum* disminuyó el porcentaje de la germinación del cultivo de soja y girasol, lo que podría ser una limitante en la utilización de este hongo como agente de biocontrol del sorgo de Alepo. Sin embargo, es conveniente ampliar el rango de hospedantes, repetir los experimentos y estudiar el comportamiento de *F. oxysporum* en condiciones de campo.

Tabla 2. Análisis de la varianza para los pesos de la biomasa subterránea.

	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p- Valor
Modelo	0,87	6	0,15	1,63	0,2544
Bloque	0,23	4	0,06	0,65	0,6401
Tratamientos	0,64	2	0,32	3,59	0,0771
Error	0,71	8	0,09		
Total	1,59	14			

Tabla 3. Efecto de *Fusarium oxysporum* sobre la germinación de semillas de maíz, girasol, soja y sorgo granífero. Valores promedios, desvío estándar, t de Student del porcentaje de semillas germinadas.

Semillas	Porcentaje de semillas germinadas (%)			
	Media	Desvío estándar	t de Student	p-valor
Soja con <i>F. oxysporum</i>	63	23,01	-2,00	0,1835
Soja sin <i>F. oxysporum</i>	83	5,77		
Girasol con <i>F. oxysporum</i>	77	40,41	-1,00	0,4226
Girasol sin <i>F. oxysporum</i>	100	0		
Sorgo granífero con <i>F. oxysporum</i>	87	5,77	-0,76	0,5286
Sorgo granífero sin <i>F. oxysporum</i>	93	11,55		
Maíz con <i>F. oxysporum</i>	100	0	-1,00	0,4226
Maíz con <i>F. oxysporum</i>	97	5,77		

El interés de grupos públicos y privados en este enfoque de control de malezas, y el apoyo para la investigación y el esfuerzo para el desarrollo, están en alza. Este creciente interés está estimulado en gran medida por las fuerzas económicas, sociales y ambientales principales que están dirigiendo nuestras opciones en las prácticas de producción de cultivos. En este sentido, se ha comprobado que el biocontrol con patógenos vegetales es un componente factible dentro de las estrategias del manejo integrado de malezas. Este método ambientalmente beneficioso debe ser promovido y explotado para satisfacer los desafíos actuales y futuros en el manejo de malezas en agroecosistemas.

El uso de patógenos de plantas en los últimos tiempos ha ido aumentando su aceptación como un método práctico, seguro y ambientalmente beneficioso, aplicable a los agroecosistemas. Nuestros resultados preliminares obtenidos a partir de las inoculaciones de las plantas de sorgo de Alepo, incentivan a continuar con las investigaciones en el uso de este patógeno como agente de control biológico de esta maleza.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado por el Proyecto de Incentivo código 11 A 217 de La Universidad Nacional de La Plata, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y la Comisión de Investigaciones científicas (CIC).

BIBLIOGRAFÍA

Abernathy, J.R. & D.C. Bridges. 1994. Research priority dynamics in weed science. *Weed Technology* 8: 396-399.

Acciaresi, H.A. & C.I. Mónaco. 1999. First report of *Bipolaris sorghicola* on Johnsongrass in Argentina. *Plant Disease* 83: 965.

Acciaresi, H.A. & J.J. Guiamet. 2010. Below- and above-ground growth and biomass allocation in maize and *Sorghum halepense* in response to soil water competition. *Weed Research* 50: 481-492.

Astiz-Gasso, M.M., C.I. Mónaco & H.A. Acciaresi. 2002. Evaluación de *Sporisorium cruentum* (Kühn) Vánky como agente de control biológico en *Sorghum halepense* (L.) Pers. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20(2): 141-145.

Boyette, C.D., P.C. Quimby, C.T. Bryson, G.H. Egley & F.E. Fulgham. 1993. Biological control of hemp sesbania (*Sesbania exaltata*) under field conditions with *Colletotrichum truncatum* formulated in an invert emulsion. *Weed Science* 41: 497-500.

Boyette, C.D., H. Abbas, B. Johnson, R.E. Hoagland & M. Weaver. 2014. Biological Control of the Weed *Sesbania exaltata* Using a Microsclerotia Formulation of the Bioherbicide *Colletotrichum truncatum*. *Am. Journal of Plant Sciences*; 5: 2672-2685.

Brett, A., B.A. Summerell, B. Baharuddin Salleh & J.F. Leslie. 2003. A Utilitarian Approach to *Fusarium* Identification. *Plant Dis.* 87: 117-128.

Browsers R. C. 1986. Commercialization of coligo- An industrialist's view. *Journal of Weed Science* 34 (suppl. 1):24-25.

Chandramohan, C. & R. Charudattan. 2001. Control of seven grasses with a mixture of three fungal pathogens with restricted host ranges. *Biological Control* 22: 246-255.

Culpepper AS. 2006. Glyphosate-Induced Weed Shifts. *Weed Technology* 20: 277-281.

Di Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada & C.W. Robledo. 2015 InfoStat versión. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

Elzein, A. & J. Kroschel. 2006. Host range studies of *Fusarium oxysporum* 'Foxy 2': an evidence for a new forma specialis and its implication for Striga control. *Journal of Plant Diseases and Protection Special* 20: 875-887.

Faria, A.B.V., R.W. Barreto & J. Cuda. 2008. Fungal pathogens of *Schinus terebinthifolius* from Brazil as potential biocontrol agents. In: XII International Symposium on Biological Control of Weeds. Eds. M.H. Julien, R. Sforza, M. C. Bon, H. C. Evans, P. E. Hatcher, H. L. Hinz & B. G. Rector, CAB International, Wallingford, UK. pp 270-277.

Ghera, C.M. & M.A. Martínez-Ghera. 1991. A field method for predicting yield losses in maize caused by Johnsongrass (*Sorghum halepense*). *Weed Technology* 5: 279-285.

Ghera, C.M., R.L. Benech-Arnold & M.A. Martínez-Ghera. 1992. The role of fluctuating temperatures in germination and establishment of *Sorghum halepense*. Regulation of germination at increasing depths. *Functional Ecology* 6: 460-468.

- Ghersa, C.M., M.A. Martínez-Ghersa, E.H. Satorre, M.L. Van Esso & G. Chichotky.** 1993. Seed dispersal, distribution and recruitment of seedlings of *Sorghum halepense* (L.) Pers. Weed Research 33: 79-88.
- Ghosheh Hani, Z.** 2005. Constraints in implementing biological weed control: A review. Weed Biology and Management 5: 83-92.
- James, C.** 2007. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2006. www.isaaa.org/resources/publications/briefs/35/executive/summary/default.html. Último acceso: 16 mayo, 2010.
- Kazemi, H. & P. Shimi.** 2005. Determination of the host range of *Fusarium moniliforme* isolated from winter wild oat (*Avena ludoviciana*) in Iran. Iranian Journal of Weed Science 1: 67-72.
- Kenney, D.S.** 1986. DeVine-the way it was developed – industrialist's view. Journal of Weed Science 34 (suppl.1):15-16.
- Kroschel, J. & D. Müller-Stoeber.** 2004. Biological control of root parasitic weeds with plant pathogens. En: Principles and practices in weed management: weed biology and weed management, Ed. Inderjit, Kluwer Academic Publishers pp 423-438.
- Leslie, J.F. & B.A. Summerell.** 2006. Species description In: The Fusarium Laboratory Manual. First edition Iowa, USA. Blackwell. Publishing. 388p.
- Lundgren, J.G., A.J. Gassmann, J. Bernal, J.J. Duan & J. Ruberson.** 2009. Ecological compatibility of GM crops and biological control. Crop Protection 28: 1017-1030.
- Margüerite Paz, C., P. Diez de Ulzurrun & M.I. Leaden.** 2009. Estudio de curvas de dosis respuesta de poblaciones de *Lolium multiflorum* de baja sensibilidad al herbicida glifosato. XII Congreso SEMH, XIX Congreso ALAM, II Congreso IBCM. Lisboa.
- Massion, C.L. & S.E. Lindow.** 1986. Effects of *Sphacelotheca holci* infection on morphology and competitiveness of johnsongrass (*Sorghum halepense*). Weed Science 34: 883-888.
- Mishra, P.K., R.T.V. Fox & A. Culhan.** 2003. Development of a PCR-based assay for rapid and reliable identification of pathogenic Fusaria. FEMS Microbiol Lett; 218: 329-332.
- Mitchel, J.K., A. Mitchell, M. Njalamimba-Bertsch, N.R. Bradford & J.A. Birdsong.** 2003. Development of a submerged-liquid sporulation medium for the johnsongrass bioherbicide *Gloeocercospora sorghi*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 30: 599-605.
- Müller-Stöver, D.** 2001. Possibilities of biological control of *Orobanche crenata* and *O. cumana* with *Ulocladium botrytis* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *orthoceras*. Agroecology 3. Apia Verlag, Laubach, Alemania. 174 pp.
- Radosevich, S.R., J.S. Holt & C.M. Ghersa** 2007. Evolution of weeds and invasive plants. In: Ecology of weeds and invasive plants, Eds Radosevich, S.R.; J.S. Holt & C.M. Ghersa. John Wiley & Sons, EEUU, pp. 103-128.
- Roskopf, E.N., R. Charudattan, J.T. De Valerio & W.M. Stall.** 2000. Field evaluation of *Phomopsis amaranthicola*, a biological control agent of *Amaranthus* spp. Plant Disease 84: 1225-1230.
- Sisterna, M.** 2002. Posibilidades y limitaciones del control biológico de malezas. En: Sarandon, S editor. Agroecología. El camino hacia una agricultura sustentable. Ediciones Científicas Americanas. La Plata. 557pp.
- Stenglein, S. & P. Balatti.** 2006 Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in Argentina as revealed by pathogenic and molecular markers. Physiol Mol Plant Pathol. 68:158-67.
- Tiourebaev, K.S., G.V. Semenchenko, M. Dolgovskaya, M.K. McCarthy, T. W. Anderson, L.D. Carsten, A.L. Pilgeram & D.C. Sands.** 2001. Biological Control of Infestations of Ditchweed (*Cannabis sativa*) with *Fusarium oxysporum* f.sp. *Cannabis* in Kazakhstan. Biocontrol Science and Technology 11(4): 535-540
- Vila-Aiub, M.M., M.C. Balbi, P.E. Gundel, C.M. Ghersa & S.B. Powles.** 2007. Evolution of Glyphosate-Resistant Johnson-grass (*Sorghum halepense*) in Glyphosate-Resistant Soybean. Weed Science 55: 566-571.
- Winder, R. & G. Van Dyke.** 1990. The pathogenicity, virulence and biocontrol potential of two *Bipolaris* species on Johnson grass (*Sorghum halepense*). Weed Science 38: 89-94.
- Yanniccari, M.E., M.C. Istilart & D.O. Giménez.** 2009. Evaluación de la resistencia a glifosato de una población de *Lolium perenne* del sur de la provincia de Buenos Aires. Informe Técnico Chacra Experimental Integrada (MAA-INTA) Barrow. 6 pp.