

# Primer reporte en Venezuela de *Botrytis cinerea* causando quema foliar en Lisianto (*Eustoma grandiflorum*)

*First report of Botrytis cinerea in Venezuela causing leaf blight on Lisianto (Eustoma grandiflorum)*

ILKA DOMÍNGUEZ<sup>1</sup>, LUIS CEDEÑO<sup>1</sup>,  
ARMANDO BRICEÑO<sup>2</sup>, HENRY PINO<sup>1</sup>,  
KLEYRA QUINTERO<sup>1</sup> y LUIS RODRÍGUEZ<sup>3</sup>

1 Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Laboratorio de Fitopatología, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Mérida, Venezuela, E-mail: ilkapd@gmail.com

2 Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias, Unidad de Biotecnología Vegetal, Centro de Ingeniería Genética, Mérida, Venezuela.

3 Ingeniero Forestal, Mérida, Venezuela.

Recibido: 27-09-08 / Aceptado: 26-02-09

## Resumen

El lisianto (*Eustoma grandiflorum*) representa actualmente una de las especies ornamentales con mayor potencial de comercialización en Venezuela, especialmente en la región de los Andes. En junio de 2006, se detecta por primera vez el hongo *Botrytis cinerea* aislado de tallos y hojas de lisiantos, cultivados en los sectores de Plan del Morro y La Pedregosa, municipio Libertador del estado Mérida. Pruebas de patogenicidad realizadas bajo condiciones de invernadero y subsiguientes reaislamientos del patógeno a partir de los lisiantos infectados artificialmente, confirmaron que *B. cinerea* fue el causante de la quema foliar investigada. Los síntomas característicos de la enfermedad se expresaron en el 100% de las plantas infectadas a los 35d después de la inoculación. Este es el primer reporte sobre *B. cinerea* atacando plantas de lisianto en Venezuela.

**Palabras clave:** *Botrytis cinerea*, *Eustoma grandiflorum*, quema foliar.

## Abstract

Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) now represents one of the ornamental species with the greatest potential for commercialization in Venezuela, especially in the Andean region. In June of 2006, was detected for the first time the fungus *Botrytis cinerea* and was isolated from stems and leaves of lisianthus grown in areas of Plan del Morro and La Pedregosa, Libertador Municipality of Mérida State. Pathogenicity tests done under greenhouse conditions and subsequent reisolations of the pathogen from artificially infected lisianthus plants; this confirmed that *B. cinerea* was the causal agent of the foliar blight disease studied. Thirty five days after inoculation, the typical disease symptoms were expressed on all the plants infected experimentally. This is the first report of *B. cinerea* attacking lisianthus plants in Venezuela.

**Key words:** Botrytis blight, *Botrytis cinerea*, *Eustoma grandiflorum*.

## 1. Introducción

El lisianto [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnery (1957) (Sinónimos: *Lisianthus ruselliana* y *Eustoma rusellianum*)], es una planta herbácea nativa del Norte de México y de los estados centrales y meridionales de EE.UU (Halevy and Kofranek, 1984; Wood and Weaver, 1982; Shinnery, 1957). Pertenece a la familia de las Gencianáceas y también se le llama eustoma que significa 'cara bonita'. El término lisianto es una combinación de las palabras griegas lysis y anthos, que significan disolución y flor, respectivamente, aludiendo las propiedades ácidas que posee. Es una planta de ciclo anual o bianual, que usualmente se destina a la producción comercial de flor cortada y crecimiento

en maceta, es una de las especies con mayor potencial de comercialización a nivel nacional e internacional debido al alto precio de sus flores. Durante los últimos años, en países como Israel, Estados Unidos, Brasil, Argentina y Venezuela; principalmente en el estado Mérida, se ha incrementado la superficie cultivada con lisianto, pero simultáneamente han comenzado a manifestarse enfermedades que pueden convertirse en importantes limitantes para la explotación exitosa de ésta planta ornamental (Cedeño *et al.*, 2007; Shpialter *et al.*, 2007; Wegulo, 2007; Katz *et al.*, 2006; Daughtrey *et al.*, 2000).

En junio de 2006, en lisiantos cultivados en invernaderos ubicados en sectores de Plan del Morro y La Pedregosa, localidades pertenecientes al municipio

Libertador del estado Mérida, se detectó la presencia de una enfermedad de quema foliar que afectó el 90 % de las plantas de dos meses de edad en una población de 400. Las plantas presentaron manchas foliares, quema foliar y pudrición en botones florales, flores, tallos y el cuello. En condiciones de alta humedad y temperaturas bajas, una capa fructífera conspicua de moho gris se desarrolló sobre los tejidos infectados. El objetivo del presente trabajo fue identificar el agente causal de la enfermedad y evaluar la patogenicidad del microorganismo en plantas sanas de lisianto.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Aislamiento e identificación del patógeno

Los aislamientos se realizaron a partir de plantas de Lisianto de la variedad series Mariachi Blue y Mariachi Yellow-Green con flor cuádruple, sintomáticas, provenientes de invernaderos situados en los sectores Plan del Morro y La Pedregosa, municipio Libertador del estado Mérida. Después de lavar hojas y tallos infectados con agua corriente durante 1h, del margen de las lesiones se cortaron fragmentos de 2-3 mm de longitud, que seguidamente fueron sumergidos por 1 min en solución 0,5% de hipoclorito de sodio (NaClO) y luego lavados en tres cambios de agua destilada estéril (ADE), secados con papel absorbente estéril y sembrados asépticamente en placas de agua agar 2% más ácido láctico (AAA). Las placas se incubaron a temperatura ambiente (22°C) durante 15 días. Las colonias emergentes se transfirieron a placas de papa dextrosa agar (PDA) y alimento de conejo (conejarina) agar, (APCA), a los fines de promover la formación de las estructuras reproductivas y de producir el inóculo necesario para las pruebas de patogenicidad. La preparación de APCA consistió en triturar el alimento para conejos en un mortero estéril, agregarle ADE y cocinar la preparación durante treinta minutos. Seguidamente la suspensión fue filtrada a través de cuatro capas de gasa, mezclada con el agar y esterilizada por 20min en autoclave a 21°C y 15 libras x pulgadas<sup>-2</sup> de presión (Ulloa y Hanlin, 1978). La identidad del patógeno se determinó comparando las características morfométricas de las estructuras reproductivas con las reportadas en la literatura especializada (Mirzaei *et al.*, 2008; Daughtrey *et al.*, 2000).

### 2.2 Prueba de patogenicidad

En las pruebas de patogenicidad se utilizaron 18 plantas de lisianto de noventa días de edad. Previo a la inoculación, todas las plantas fueron regadas y asperjadas con ADE y se cubrieron por 48 horas con bolsas plásticas transparentes. El inóculo se produjo en placas de APCA y a cada placa se le agregó 20 ml ADE, para después extraer el inóculo con un pincel estéril y filtrarlo a través de gasa estéril. Al inóculo ( $30 \times 10^5$  conidio.ml<sup>-1</sup>) se le agregó Twin 20 al 50% (2 gotas) e inmediatamente fue aplicado con una asperjadora manual. Se inocularon 12 plantas y seis asperjadas sólo con ADE se usaron como testigos. Después de inoculadas, las plantas fueron cubiertas con bolsas plásticas transparentes e incubadas en condiciones de laboratorio (22 °C), donde permanecieron 15d. Posteriormente las plantas fueron transferidas al invernadero con temperatura promedio de 30 °C. Las bolsas se retiraron a los 7d después de la inoculación (ddi) y a partir de esa fecha las plantas se examinaron diariamente para registrar la evolución de la enfermedad. A partir de las plantas infectadas artificialmente se realizaron re-aislamientos para comprobar los postulados de Koch. Las pruebas de inoculación se hicieron dos veces.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1 Aislamiento del patógeno

Los aislamientos sub-cultivados en PDA y APCA desarrollaron colonias fúngicas idénticas, que a los 16d tenían abundante micelio de aspecto uniforme, denso y de color blanco grisáceo, producción de conidios ovoides, elipsoidales y hialinos en conidióforos erectos, septados, dispuestos en grupos, con escasa o ninguna ramificación, y hialinos. En ninguno de los medios ocurrió formación de esclerocios. Los conidios producidos *In vitro* midieron 6,4 -14,4 x 6,4 -9,6 µm y los conidioforos tuvieron 400-1300 µm de longitud. Las dimensiones de los conidios coincidieron con las reportadas por Daughtrey *et al.* (2000) (8-14 x 6 -9 µm) y Mirzaei *et al.* (2008) (4-20 x 2-12 µm), mientras que la longitud de los conidióforos se ubicó dentro del rango reportado por Mirzaei *et al.* (2008) (527-4.334 µm, con promedio de 662-2.999 µm). Sobre la base de la morfometría de conidios y conidioforos, el hongo se identificó como *B. cinerea* anamorfo de

*Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel, causante de la enfermedad “Moho Gris” en una amplia diversidad de plantas ornamentales y hortalizas (Wegulo, 2007).

### 3.2 Prueba de patogenicidad

A los 7ddi, el 30% de las plantas infectadas artificialmente, mostraban síntomas de la enfermedad, presentando una necrosis foliar de aspecto húmedo en hojas y flores y momificación en botones florales y a los 35ddi, el 100% de las plantas infectadas tenían síntomas similares a los apreciados en hojas, tallos, cuello, flores y botones florales de las plantas infectadas naturalmente (Figuras 1, 2 y 3). Al principio los tejidos infectados presentaban apariencia acuosa y consistencia blanda, pero conforme la infección

avanzaba, las áreas afectadas adquirieron una coloración entre bronce y café oscuro y consistencia esponjosa. Se desarrollaron masas de micelio de color gris sobre los tejidos atacados (Figuras 1 y 2). Las plantas testigos se mantuvieron sanas hasta el final de la prueba. *B. cinerea* fue re-aislado de los tejidos infectados experimentalmente y sus características morfológicas fueron similares a las registradas en los cultivos originales. Cumpliéndose de esta manera los postulados de Koch y en consecuencia, se reporta a *B. cinerea* como el causante de la quema foliar que en el año 2006 destruyó lisiantos cultivados bajo invernadero en las localidades de Plan del Morro y La Pedregosa del estado Mérida. Los resultados obtenidos coincidieron con los reportados en lisianto por Shpialter *et al.* (2007), Katz *et al.* (2006) y Wolcan *et al.* (1996), donde indican que el hongo *B. cinerea* afecta severamente a plantas de lisianto, en condiciones óptimas para el desarrollo de este hongo y trae como consecuencia bajos rendimientos de la producción y en algunos casos la pérdida total del cultivo.



Figura 1. Quema en tallo. Nótese desarrollo de Moho Gris.



Figura 2. Pudrición a nivel del cuello.

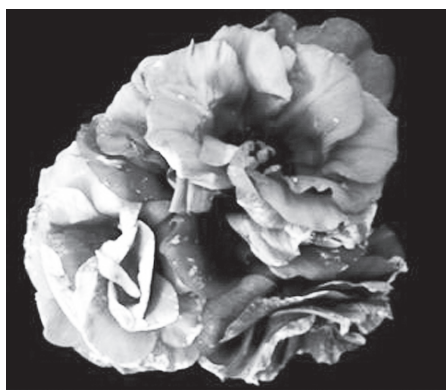


Figura 3. Quema en la flor.

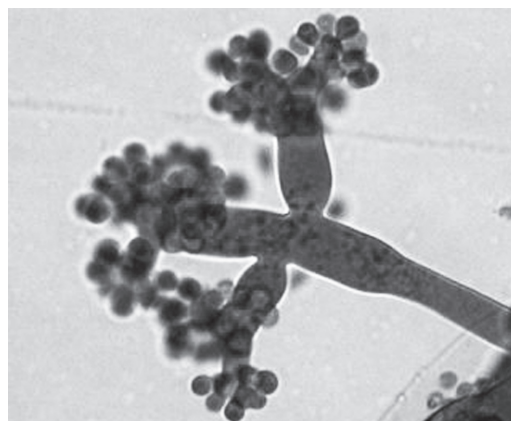


Figura 4. Conidióforo con conidios de *Botrytis cinerea*.

El hongo *B. cinerea* es un fitopatógeno ampliamente reconocido y estudiado que infecta una amplia variedad de plantas y que tiene la habilidad de hacer uso de diferentes mecanismos de infección. Puede atacar durante todos los estados de desarrollo del cultivo hospedante e infectar cualquiera de sus partes (Benito *et al.*, 2000). A causa de la considerable incidencia del patógeno y las repercusiones económicas que tiene en cultivos de destacada importancia económica, resulta imprescindible la ejecución de estudios sobre la biología de *B. cinerea*, interacciones en las que participa y los posibles métodos de control.

WOLCAN, S., L. RONCO, E. DAL BO, G. LORI y H. ALIPPI. 1996. First report of diseases on lisianthus in Argentina. *Plant Disease* 80: 223-230.

WOOD, C. y R. WEAVER. 1982. The genera of Gentianaceae in the southern of United States. *J. Arnold Arbor.* 63: 441-478.

#### 4. Referencias bibliográficas

- BENITO, E., M. ARRANZ y P. ESLAVA. 2000. Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. *Revista Iberoamericana de Micología* 17: S43-S46.
- CEDEÑO, L., A. BRICEÑO, G. FERMÍN, I. DOMÍNGUEZ, H. PINO y K. QUINTERO. 2007. First record of *Colletotrichum acutatum* on lisianthus (*Eustoma grandiflorum*). *Fitopatología Venezolana* 20: 41-43.
- DAUGHTREY, M., R. WICK y J. PETERSON. 2000. Botrytis Blight of Flowering Potted Plants. *Plant Health Progress* doi: 10.1094/PHP-2000-0605-01-HM.
- HALEVY, A. y A. KOFRANEK. 1984. Evaluation of lisianthus as a new flower crop. *Hort. Science* 19(6): 845-847.
- KATZ, I., A. RIBEIRO, A. PÁDUA y E. EGON. 2006. Comparação de dois métodos de aplicação de fungicidas, irrigação por gotejamento e pulverização convencional no controle do mofo cinzento (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) em vasos com plantas de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.). *Irriga, Botucatu* 11(3): 328-338.
- MIRZAEI, S., E. MOHAMMADI GOLTAPPEH, M. SHAMS-BAKHSI y N. SAFAIE. 2008. Identification of *Botrytis* spp. on plants grown in Iran. *Journal of Phytopathology* 156: 21-28.
- SHINNERS, L. 1957. Synopsis of genus *Eustoma* (Gentianaceae). *The Southwestern Naturalist* 2(1): 38-43.
- SHPIALTER, L., D. RAV DAVID, I. DORI, L. GANONT, D. SHMUEL, E. MATAN, Y. MESSIKA, M. BRUNER, Y. NISHRI, I. MOR y Y. ELAD. 2007. Integrated management of gray mold (*Botrytis cinerea*) in lisianthus. Abstracts of presentations at the 28th congress of the Israeli Phytopathological Society. *Phytoparasitica* 35: 2-9.
- ULLOA, M. y R. HANLIN. 1978. *Atlas de Micología Básica*. Primera edición. Editorial Concepto S.A. México. 17 p.
- WEGULO, S. y M. VILCHEZ. 2007. Evaluation of lisianthus cultivars for resistance to *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 91(8): 997-1001.