

ARTÍCULOS

QUEMA DEL PECÍOLO Y MANCHÓN FOLIAR EN FRESA CAUSADOS POR *GNOMONIA COMARI*

Luis Cedeño, Chrystian Carrero, Yulimar Castro, Javier Calderón y Kleyra Quintero

Universidad de Los Andes, Laboratorio de Fitopatología, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Apdo. 77 (La Hechicera), Mérida 5101-A, estado Mérida. E-mail: lurace@telcel.net.ve

Recibido: 29 de septiembre de 2000

Aceptado: 09 de abril de 2001

RESUMEN

Cedeño, L., Carrero, C., Castro, Y., Calderón, J. y Quintero, K. 2001. Quema del pecíolo y manchón foliar en fresa causados por *Gnomonia comari*. Fitopatol. Venez. 14:2-4.

En marzo de 1999, *Gnomonia comari*, teleomorfo de *Zythia fragariae*, fue aislado de plantas de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch. 'Chandler') afectadas por una enfermedad desconocida en La Sabanota, Municipio Autónomo Sucre del estado Mérida, Venezuela. Los principales síntomas observados fueron quema del pecíolo en las hojas más externas y manchas grandes de color marrón en los folíolos. Raras veces fueron detectados pedúnculos quemados y primordios foliares con el ápice ennegrecido. En papa-zanahoria agar y en folíolos y pecíolos incubados en cámara húmeda, el hongo formó peritecios negros de base bulbosa y cuello largo. Los ascos se apreciaron hialinos, unitunicados, evanescentes y contenían ocho ascosporas biseriadas. Las ascosporas se observaron hialinas, fusiformes a elipsoidales, rectas o curvadas, con extremos agudos y uniseptadas en la región ecuatorial o sub-ecuatorial y ligeramente constrictas a nivel del septo. Los picnidios se presentaron de color marrón amarillento, ostiolados y exudando los conidios en masas compactas de color ligeramente amarillo. Los picnidios sin masas conidiales mostraron apariencia de pequeños cráteres. Los conidios se manifestaron hialinos, cortos, ovales y con gotas de aceite en los extremos obtusos. Síntomas similares a los observados en el campo, fueron reproducidos en discos foliares y en folíolos y pecíolos de plantas de fresa 'Chandler', inoculados por herida con discos de agar-micelio (6 mm diám). Los discos foliares, pecíolos y folíolos utilizados como control, no desarrollaron síntomas de enfermedad. *G. comari* fue aislado consistentemente de los materiales inoculados.

Palabras clave adicionales: *Fragaria x ananassa*, *Zythia fragariae*.

ABSTRACT

Cedeño, L., Carrero, C., Castro, Y., Calderón, J. and Quintero, K. 2001. Petiole blight and leaf blotch on strawberry caused by *Gnomonia comari*. Fitopatol. Venez. 14:2-4.

In March 1999, *Gnomonia comari*, teleomorph of *Zythia fragariae*, was isolated from strawberry plants (*Fragaria x ananassa* Duch. 'Chandler') affected by an unknown disease at La Sabanota, Municipality Sucre of Merida State, Venezuela. Outer leaves with petiole blighted and leaflets showing light brown blotches were the main symptoms observed. Peduncle blighted and primordial leaflets with blackened tips also were occasionally detected. On potato-carrot agar, and on petioles and leaflets incubate in humid chamber, the fungus formed black perithecia with bulbous base and long neck. Asci were appreciated hyaline, unitunicate, evanescent and 8-spored. Ascospores were observed biseriata, hyaline, fusiform to ellipsoid, straight or curved, with acute ends, medianly or unequally uniseptate and slightly constricted at the septum level. Pycnidia were seen yellowish brown, ostiolate and oozing conidia in yellowish compacted masses. Pycnidia without conidial masses appeared as small craters. Conidia were hyaline, shorts, oval-shaped, round on both ends and guttulate. Symptoms similar to those observed in the field were reproduced on foliar disks, and on leaflets and petioles of 'Chandler' strawberry plants inoculated by wound with agar-mycelium plugs (6 mm diameter). Foliar disks, petioles and leaflets used as control did not develop disease symptoms. *G. comari* was consistently isolated from inoculated materials.

Additional key words: *Fragaria x ananassa*, *Zythia fragariae*.

INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) tiene importancia económica potencial en Mérida, Venezuela. En octubre de 1999, en el estado habían 36 ha cultivadas con fresas, las cuales estaban produciendo mensualmente cerca de 162 ton de frutos. En Marzo de 1999, en un plantel comercial de fresa 'Chandler', ubicado a 1.300 msnm en La Sabanota, Municipio Autónomo Sucre, fueron detectados síntomas de una enfermedad previamente no observada en la región. Un mes más tarde, la enfermedad fue encontrada en las aldeas Las Playitas y El Mojoso de Bailadores, Municipio Rivas Dávila, comprobándose que había devastado el frenal de donde provenían las plantas cultivadas en La Sabanota. En El Mojoso los daños se apreciaron más leves debido, probablemente, a que en este sector las plantas estaban creciendo en suelos cubiertos con plástico. Las plantas enfermas tenían las hojas más externas completamente muertas, a causa de la quema y estrangulamiento del pecíolo.

Este síntoma era semejante al de la marchitez causada por *Verticillium* spp. (7). Los pecíolos quemados fueron percibidos negros, retorcidos y blandos al tacto, diferenciándose en estos aspectos de los afectados por *Verticillium* spp., en cuyo caso, sólo presentan estrias longitudinales. Los folíolos de las hojas más internas mostraban manchas grandes en el ápice y en los bordes, las cuales al principio eran de color marrón oscuro y, posteriormente, se tornaban marrón claro (Fig. 1). Ocasionalmente fueron detectados pedúnculos quemados y primordios foliares con el ápice ennegrecido. En folíolos y pecíolos incubados en cámara húmeda durante una semana, aparecieron conidiomas picnidiales de color marrón amarillento, exudando los conidios en masas compactas de aspecto ligeramente amarillo, e igualmente peritecios negros de base bulbosa inmersa y cuello largo sobresaliente.

En virtud de la magnitud de las pérdidas económicas provocadas por la enfermedad, se programó una investigación con el propósito de determinar la identidad y patogenicidad del agente causal.

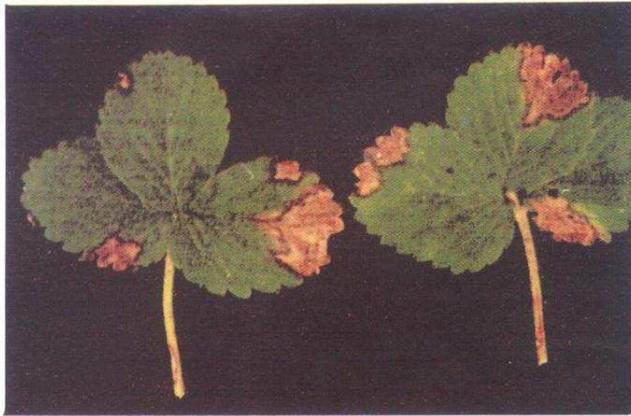


Fig. 1. Hoja de fresa 'Chandler' con manchones causados por *Gnomonia comari*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento e identificación del patógeno. Pequeños segmentos de tejidos (ca 2 mm²) fueron cortados de folíolos, pecíolos y pedúnculos sintomáticos e inmediatamente sumergidos por 3 min en solución 0,5% de hipoclorito de sodio, lavados en tres cambios de agua destilada estéril (ADE), secados con papel de filtro estéril, sembrados en placas con agua agar acidificado con ácido láctico (AAA) e incubados a 24 °C en la oscuridad. Posteriormente, las colonias emergentes fueron transferidas a placas con extracto de malta-agar (Oxoid EMA, 50 g /lt) y papa-zanahoria agar (PZA, 75 g papa, 75 g zanahoria y 20 g agar/lt). La identidad del patógeno fue establecida comparando las características del crecimiento *in vitro*, la conidiogénesis y la forma y el tamaño de las estructuras asexuales y sexuales producidas *in vitro* e *in situ*, con la información registrada en la literatura especializada. La conidiogénesis fue examinada en conidiomas producidos sobre discos foliares infectados experimentalmente, los cuales fueron tratados con eritrosina diluida al 1 % en hidróxido de amonio 10%. Las observaciones y mediciones fueron realizadas en un microscopio Zeiss, modelo Axioplan, con rejilla micrométrica y cámara fotográfica incorporadas.

Inoculación y reaislamiento. Las pruebas de patogenicidad fueron realizadas en discos foliares (19 mm diám) y en folíolos y pecíolos de 12 plantas de fresa 'Chandler' sembradas en bolsas negras de polietileno con capacidad para 2 kg. Todos los tejidos fueron inoculados con discos de agar micelio (6 mm diám) extraídos de cultivos en PZA incubados por 5 d a 24 °C y bajo un régimen de 12 h luz/oscuridad. Antes de extraer los discos foliares, el material fue lavado durante 1 h con agua corriente, sumergido por 3 min en solución 0,5% de hipoclorito de sodio, lavado varias veces en ADE y secado con papel absorbente estéril. Seguidamente los discos foliares fueron colocados en orificios del igual diámetro (19 mm), hechos previamente con un sacabocado estéril en placas con AAA. En cada placa fueron colocados 6 discos foliares, tres con el haz hacia arriba y los restantes con el haz hacia abajo. Cinco placas contenían discos foliares sin heridas y otras cinco, discos con heridas provocadas insertando por 1-2 seg la punta flameada de una aguja de disección. El inóculo fue depositado en la porción central de los discos foliares. Discos de PZA no colonizado fueron aplicados a los discos foliares usados como control. Las placas fueron selladas con doble envoltura de Parafilm[®], incubadas a 24 °C bajo 12 h de

iluminación de luz blanca fluorescente y examinados diariamente para evaluar la aparición de los síntomas.

Los folíolos fueron inoculados por heridas causadas en la punta con una aguja de disección y los pecíolos raspando ligeramente la corteza de la porción basal con un bisturí estéril. El inóculo de los pecíolos fue protegido con Parafilm[®]. Los folíolos y pecíolos de las plantas control sólo recibieron discos de PZA sin el hongo. Inmediatamente después de la inoculación, las plantas fueron cubiertas con bolsas de plástico transparente e incubadas en los mesones del laboratorio a 22 °C. Esto, porque en el campo la enfermedad mostró mayor severidad en las áreas sombreadas. De los materiales inoculados se hicieron aislamientos para comprobar el cumplimiento de los postulados de Koch.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación del patógeno. A partir de todos los materiales sintomáticos consistentemente se obtuvieron cultivos de un mismo hongo. En PZA el hongo produjo colonias de color marrón amarillento, con escaso micelio aéreo que a las 17 d de crecimiento había producido conidiomas picnidiales y peritecios. En EMA, las colonias fueron observadas de color marrón claro, sin peritecios y con abundantes picnidios, los cuales inicialmente mostraron color marrón amarillento, luego marrón rojizo y posteriormente oscuro. Los picnidios y peritecios resultaron idénticos a los producidos en folíolos y pecíolos infectados naturalmente e incubados por una semana en cámara húmeda. Cuando algunos pecíolos fueron sumergidos por 24 h en ADE, los peritecios pudieron ser extraídos fácilmente, separando primeramente el tejido cortical del huésped y presionando luego los peritecios hacia abajo por la punta. Los peritecios producidos *in situ* e *in vitro*, fueron observados negros, con base globosa inmersa y cuello largo. Los formados *in situ* midieron (500,0-) 549,0 (-610,0) μm en profundidad y (220,0) 324,2 (-430,0) μm en diámetro, mientras que los desarrollados *in vitro* tuvieron (400,0-) 610,0 (-800,0) μm de profundidad y (220,0-) 310,0 (-380,0) μm de diámetro. La longitud promedio del cuello *in situ* e *in vitro* fue de 293,3 y 352,5 μm, respectivamente. *In situ*, el cuello tuvo un ancho promedio de 85,3 μm en la base, 50,5 μm en la parte media y 51,0 μm en la punta. Los ascos se mostraron hialinos, cilíndricos a sub-clavados, unitunicados, evanescentes, con anillo apical refringente y contenían 8 ascosporas. Las ascosporas maduras se presentaron hialinas, fusiformes a elipsoidales, rectas a ligeramente curvadas, con conspicuas gotas de aceite, uniseptadas en la región ecuatorial o sub-ecuatorial, ligeramente constrictas a nivel del septo y de (9,0-) 9,3 (-10,0) x (1,7-) 1,9 (-2,0) μm.

Los conidiomas picnidiales producidos *in situ* se manifestaron de color marrón amarillento, ostiolados, sin cuello aparente y de pared blanda. Los conidios emergían en masas de color amarillo pálido y se observaron hialinos, unicelulares, ovales, cortos, con gotas de aceite en los extremos obtusos y midieron (4,7-) 5,6 (-6,0) x (1,7-) 1,9 (-2,0) μm *in situ* y (5,2-) 5,6 (-6,0) x (1,8-) 1,9 (-2,0) μm *in vitro*. Los picnidios sin masas conidiales presentaron forma de pequeños cráteres. Los conidióforos se manifestaron hialinos, cilíndricos, cortos y raras veces mostraron ramificaciones. Las células conidiógenas fueron reconocidas como fiálides enteroblásticas, hialinas y cilíndricas a lageniformes.

De acuerdo Punithalingam (6) y sobre la base de las características morfométricas de las estructuras asexuales y sexuales producidas in situ e in vitro, el hongo fue identificado como *Gnomonia comari* Karsten, cuya fase conidial es *Zythia fragariae* Laibach. En el presente artículo fue utilizado el criterio de Punithalingam (6) de considerar a *G. herbicola* A. L. Smith, *G. fragariae* Klebahn f. sp. fruticola Arnaud y *G. fruticola* (Arnaud) Fall, como sinónimos de *G. comari*. La historia del microorganismo ha sido reseñada por Fall (4) y Alexopoulos y Cation (2), mientras que Bolton (3) describió ampliamente el ciclo de vida del microorganismo y la sintomatología.

En las Américas, *G. comari* fue encontrado por primera vez en 1947 (1), pero, en ese entonces, se creyó que era el teleomorfo de *Phomopsis obscurans* Ell. & Ev.) Sutton [= *Dendrophoma obscurans* (Ell. & Ev.) Anderson] porque fue aislado consistentemente de las lesiones típicas causadas por este hongo (2). Según Alexopoulos y Cation (2), el hongo puede ser muy prevalente en EE.UU. y que es posible que en el campo haya sido inadvertido a causa de su frecuente asociación con *P. obscurans*. En el estudio que se reporta, *P. obscurans* no fue aislado de ninguno de los materiales procesados.

Inoculación y reaislamiento. Sólo las pruebas de patogenicidad conducidas por heridas fueron positivas y permitieron reproducir los mismos síntomas observados en el campo. A 3 d después de la inoculación (ddi), los discos foliares inoculados por el haz y por el envés presentaban lesiones con diámetro mayor que el correspondiente a las heridas causadas con la aguja de disección. Cuatro días más tarde, la mayoría de los discos estaban completamente necrosados y alrededor del inóculo había picnidios con exudado conidial amarillento, mientras que algunos tenían lesiones con diámetro mayor a 1 cm. Los discos inoculados sin heridas sólo mostraban necrosis en los bordes. Esta información sustenta la opinión de que *G. comari* es un patógeno débil que, por lo general, penetra por los estomas y las heridas en condiciones de abundante humedad (5). Los discos control no desarrollaron síntomas de enfermedad y sólo presentaron ligera necrosis en los bordes y en la herida causada con la aguja de disección.

Al momento de retirar las bolsas de plástico de las plantas inoculadas, es decir, a los 6 ddi, los peciolo, pero no los folíolos, presentaban síntomas de infección. Al siguiente día, la enfermedad apareció en los folíolos y los peciolo mostraban indicios de estrangulamiento. En los peciolo la enfermedad comenzó como lesiones de color marrón oscuro que, conforme avanzaban, se producía estrangulamiento. A los 10 ddi, la enfermedad había dañado ca 1/3 de los peciolo y los folíolos basales habían comenzado a tornarse amarillos en los bordes más próximos al peciolo. Cuatro días más tarde, los folíolos habían muerto y presentaban color marrón claro. Los peciolo completamente estrangulados fueron observados negros y retorcidos, pero conjuntamente con los folíolos, permanecían unidos a la planta. Estos síntomas coincidieron con los descritos por Maas (5). En los folíolos la infección empezó a manifestarse como pequeñas lesiones de color púrpura a marrón oscuro que, posteriormente, se convirtieron en manchas grandes. En los folíolos la infección progresó con

mayor lentitud que en los peciolo, lo cual sugiere que el hongo pareciera tener especial preferencia por estos últimos tejidos. Además, la quema del peciolo fue el principal daño detectado en las plantaciones de Mérida. Estas observaciones concuerdan con las realizadas por Bolton (3) en fresas de Ontario y Québec, las cuales lo indujeron a señalar que la terminología más precisa para el reconocimiento de la enfermedad era quema del peciolo. Sin embargo, es importante destacar que durante la ejecución de la presente investigación también en los folíolos fueron observados daños significativos. Las plantas usadas como control no desarrollaron síntomas de enfermedad y *G. comari* fue aislado consistentemente de todos los materiales inoculados, comprobándose de esta manera su patogenicidad.

El hongo afecta el cáliz y los frutos, pedúnculos, peciolo y folíolos (3,6). La enfermedad puede ser identificada oportunamente por la decoloración y necrosis de las hojas más viejas (3), las cuales usualmente presentan necrosis en la base o en la porción terminal del peciolo. Los daños ocurren con mayor severidad en las áreas sombreadas y húmedas o sometidas a lluvias frecuentes o a riego por aspersión (5), porque los conidios y las ascosporas sólo germinan y penetran los tejidos en condiciones de alta humedad. En el sitio donde la enfermedad fue detectada por primera vez, las plantas con infecciones más severas fueron aquellas que estaban creciendo en áreas parcialmente sombreadas. Según Bolton (3), la enfermedad puede ocasionar daños iguales que los causados por *P. obscurans* (Quema foliar) y mayores que los inducidos por *Diplocarpon earliana* (Ell. & Ev.) Wolf. (Roncha foliar) y *Mycosphaerella fragariae* (Tul.) Lindau (Mancha foliar). Fall (4) señaló que *G. comari* no parece ser altamente parasítico en hojas de fresa, pero en las pruebas de inoculación realizadas por Bolton (3), *G. comari* fue capaz de infectar rápidamente folíolos y peciolo. En Mérida la enfermedad reviste importancia económica por cuanto provocó la destrucción de varias plantaciones. El clima húmedo y frío que predomina en la región, conjuntamente con la práctica usual de riego por aspersión, favorecen el desarrollo de la enfermedad.

LITERATURA CITADA

1. Alexopoulos, C. J. and Cation, D. 1948. Stem-end rot of strawberries. *Phytopathology* 38: 698-706.
2. Alexopoulos, C. J. and Cation, D. 1952. *Gnomonia fragariae* in Michigan. *Mycologia* 44: 221-223.
3. Bolton, A. T. 1954. *Gnomonia fruticola* on strawberry. *Can. J. Bot.* 32: 172-181.
4. Fall, J. E. 1951. Studies on fungus parasites of strawberry leaves in Ontario. *Can. J. Bot.* 29: 299-315.
5. Maas J. L. (ed.). 1987. *Compendium of Strawberry Diseases*. APS, St. Paul, Minnesota. 138 pp.
6. Punithalingam, E. 1982. *Gnomonia comari*. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria, N° 737. *Commonw. Mycol. Inst.*, Kew, Surrey, England. 3pp.
7. Wilhelm, S. 1987. *Verticillium wilt*. In *Compendium of Strawberry Diseases*. J. L. Maas (ed.). St. Paul, Minnesota. APS Press. pp. 87-90.