

CONIOTHYRIUM FUCKELII CAUSANDO QUEMA EN CAÑAS DE MORA DE CASTILLA

Luis Cedeño y Chrystian Carrero

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

Recibido: 21 de septiembre de 2000

Aceptado: 15 de diciembre de 2000

RESUMEN

Cedeño, L. y Carrero, C. 2000. *Coniothyrium fuckelii* causando quema en cañas de mora de Castilla. Fitopatol. Venez. 13:38-40.

Se determinó que *Coniothyrium fuckelii* Sacc., fase conidial de *Diaplella coniothyrium* (= *Leptosphaeria coniothyrium*), fue el agente causal de la enfermedad que en septiembre de 1998 quemó las cañas de la mora de Castilla (*Rubus glaucus*) cultivada en La Honda, Municipio Pinto Salinas del estado Mérida, Venezuela. La enfermedad fue el resultado de lesiones tipo chancro que estrangulan los conductos vasculares, provocando la muerte rápida de los tejidos ubicados por arriba del área infectada y, por cuyo efecto, las cañas muestran aspecto de quemado. En las lesiones más viejas frecuentemente se observaron picnidios y ocasionalmente pseudotecios. Los picnidios aparecieron negros, sub-globosos, blandos, ostiolados y promediaron 229,1 µm en diámetro. Los conidios se apreciaron unicelulares, redondos a globosos, 3,8 x 2,5 µm y de color verde oliva a ligeramente marrón claro bajo luz transmitida. Los pseudotecios se observaron negros, sub-globosos, ostiolados y contenían ascos hialinos y bitunicados. Las ascosporas se manifestaron fusiformes, triseptadas, de color marrón oliváceo pálido, 13,1 x 3,7 µm y tenían una célula más ancha que las demás. En papa-zanahoria agar el hongo produjo picnidios idénticos a los observados en cañas infectadas naturalmente, pero no desarrolló pseudotecios. Síntomas similares a los observados en el campo, fueron reproducidos en plántulas sanas de *R. glaucus* inoculadas por heridas con gasa colonizada por *C. fuckelii*. El hongo fue aislado consistentemente de las plántulas inoculadas. Este es el primer reporte formal de *C. fuckelii* en mora en Mérida.

Palabras clave adicionales: *Diaplella coniothyrium*, *Rubus glaucus*

ABSTRACT

Cedeño, L. and Carrero, C. 2000. *Coniothyrium fuckelii* causing cane blight on black raspberry. Fitopatol. Venez. 13:38-40.

It was determined that *Coniothyrium fuckelii*, conidial state of *Diaplella coniothyrium* (= *Leptosphaeria coniothyrium*), was the causal agent of the disease that in september 1995 caused cane blight on black raspberry (*Rubus glaucus*) grown at La Honda, Pinto Salinas Municipality of Merida State, Venezuela. The disease resulted from canker-like lesions that girdled the vascular cylinder causing rapid dead of the tissues located above of the infected area, and for whose effect the canes showed blighted aspect. Frequently pycnidia and occasionally pseudothecia were found on the oldest lesions. Pycnidia appeared observed dark-colored, subglobose, soft, ostiolate, and averaged 229.1 µm in diameter. Conidia were appreciated one-celled, round to globose, 3.8 x 2.5 µm, and green olive to light brown under transmitted light. Pseudothecia were observed dark-colored, sub-globose, ostiolate, and contained hyaline, bitunicate asci. Ascospores were seen fusiform, triseptate, light brown, 13.1 x 3.7 µm, and they showed one cell widest than the others ones. On potato-carrot agar the fungus produced pycnidia like to those found on naturally infected canes, but did not develop pseudothecia. Symptoms similar to those observed in the field were reproduced on wounded, healthy *R. glaucus* seedlings inoculated with gauze pieces colonized by *C. fuckelii*. The fungus consistently isolated from inoculated seedlings. It is the first formal report of *C. fuckelii* on mora in Mérida

Additional key words: *Diaplella coniothyrium*, *Rubus glaucus*

INTRODUCCIÓN

Las plantas del género *Rubus* se caracterizan por poseer raíces y coronas perennes y cañas bianuales con y sin espinas (14). En el primer año desarrollan cañas vegetativas (primocañas), las cuales, a partir del segundo año, originan cañas laterales (floricañas) que producen flores y frutos. La especie de *Rubus* que se cultiva en la región andina de Venezuela es *R. glaucus* Benth, la cual, probablemente, es un híbrido de *R. subg. Idaebatus* (frambuesa) y *R. subg. Eubatus* (mora) (14). Sin embargo, según Pritts (14), *R. glaucus* es un tetraploide de *R. occidentalis* L. (frambuesa negra), originario de Sur América. Su importancia económica se deriva de la manifiesta predilección de los andinos por sus frutos, los cuales, por lo general, consumen frescos y procesados.

Actualmente, en la mayoría de los sitios bajo explotación, el cultivo presenta un estado de deterioro bastante significativo, debido, principalmente, a la incidencia de enfermedades causadas por hongos que reducen los rendimientos y la vida útil del cultivo. Hasta ahora, las enfermedades más frecuentes en el área son: antracnosis [*Glomerella cingulata* (Stoneman)Spauld. & H. Schrenk] (5), mildiú polvoriento [*Sphaerotheca macularis* (Wallr.:Fr.) Lind.] (3), mildiú lanoso (*Peronospora sparsa* Berk.) (4) y moho gris

(*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.), siendo la antracnosis y el mildiú lanoso las que ocasionan las pérdidas económicas más significativas. La incidencia y propagación de los patógenos causantes de algunas de estas enfermedades, particularmente la antracnosis y el mildiú lanoso, han sido favorecidas por la ausencia de control fitosanitario en los viveros y la práctica usual de dejar los restos de poda dentro o en los alrededores de la plantación. A lo anterior hay que agregar que los productores se resisten a tener la precaución de no herir las cañas y de aplicar después de la poda sustancias químicas para proteger los tejidos cortados.

En septiembre de 1998, en una plantación ubicada en la aldea La Macana de Santa Cruz de Mora, Municipio Pinto Salinas del estado Mérida, se descubrieron plantas de mora de Castilla con síntomas de quema en las cañas vegetativas y reproductivas. Las observaciones, en detalle, permitieron detectar la presencia de lesiones tipo chancro de rojo oscuro a púrpura. En las cañas donde el cilindro vascular había sido estrangulado, todos los tejidos ubicados por arriba de la lesión estaban muertos y mostraban aspecto de quemado. La mayoría de las lesiones examinadas habían perdido la corteza, dejando ver los tejidos del leño de color marrón claro y agrietados longitudinalmente (Fig. 1A). Algunas lesiones

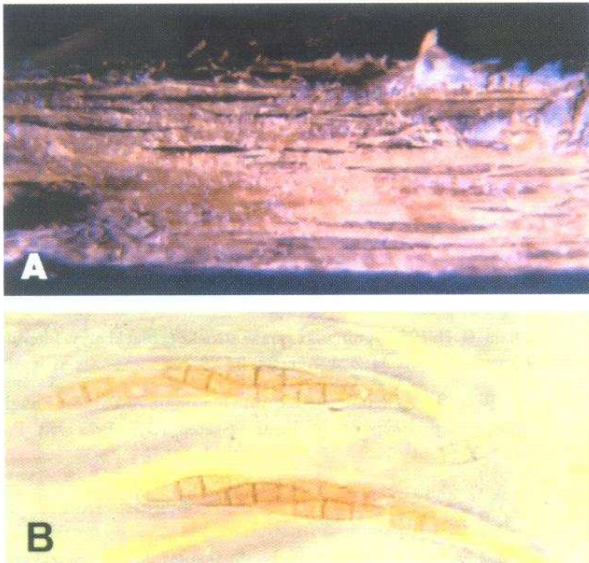


Fig. 1. A) Caña de mora de Castilla con síntomas de la quema causada por *Coniothyrium fuckelii*. B) Ascios y ascosporas de *Diapleella coniothyrium* producidas *in situ*.

presentaban parches de aspecto semejante al hollín (gris oscuro), los cuales resultaron ser masas secas de conidios. En las lesiones más viejas se encontraron frecuentemente picnidios con conidios y raras veces pseudotecios con ascosporas. El objetivo del presente trabajo fue determinar la identidad del patógeno y establecer su relación con la enfermedad investigada. Un avance de los resultados de esta investigación fue presentado en forma de resumen (2).

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento e Identificación. Los aislamientos fueron realizados a partir de materiales colectados en la aldea La Macana. Pequeños fragmentos (ca. 2mm²) cortados del margen de las lesiones fueron tratados por 3 min. con solución 0,5 % de hipoclorito de sodio, lavados en varios cambios de agua destilada estéril (ADE), secados en papel absorbente estéril y sembrados asépticamente en placas de agua agar 2 % acidificado con ácido láctico (AAA). Las placas fueron incubadas a 25 °C en la oscuridad. Posteriormente a partir de las colonias emergentes, se transfirieron ápices hifales a placas y tubos con papa-zanahoria agar (PZA, 75 g papa, 75 g zanahoria y 20 g agar/litro de agua). La identificación se hizo comparando la morfología y el tamaño de las estructuras reproductivas asexuales y sexuales producidas *in situ* e *in vitro*, con las señaladas en la literatura especializada. Las observaciones y mediciones se hicieron en un microscopio marca Zeiss, modelo Axioplan, con rejilla micrométrica y cámara fotográfica incorporadas. Los montajes se hicieron en formalina 4%.

Inoculación. Las pruebas de patogenicidad fueron realizadas en 12 plántulas sanas de mora de Castilla con 15-20 cm de altura, las cuales estaban creciendo en bolsas negras de polietileno (0,5 kg. de capacidad) que contenían suelo autoclavado por 1 h durante tres días consecutivos. Como inóculo fueron utilizadas piezas de gasa (3,0-3,5 cm²) colonizadas por el hongo en estudio durante 9 d en PZA. Para promover la colonización, la gasa estéril se impregnó con medio

papa-dextrosa agar no solidificado (Difco PDA), antes de colocarla en contacto con los cultivos del hongo. Previo a la inoculación, las cañas fueron frotadas ligeramente con algodón impregnado de alcohol etílico 70% e inmediatamente heridas con un bisturí estéril, procurando eliminar algunas espinas. Después de colocar la gasa-inóculo, enrollándola alrededor de la caña herida, esta fue protegida con Parafilm® para evitar la deshidratación. Las plantas control fueron tratadas con gasa estéril impregnada de PDA, pero sin el hongo. Las plántulas fueron cubiertas con bolsas de plástico transparente e inmediatamente transferidas al invernadero. La cobertura plástica fue retirada al tercer día después de la inoculación y a partir de ese momento fueron examinadas diariamente para evaluar el desarrollo de la enfermedad. Las pruebas de inoculación se realizaron dos veces. De las plántulas inoculadas se hicieron aislamientos para cumplir con los postulados de Koch.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación. Todos los aislamientos obtenidos de los tejidos infectados desarrollaron en PZA colonias fúngicas con características similares. Las colonias se observaron no estromáticas, sin micelio aéreo aparente, con crecimiento en bandas concéntricas y de color marrón claro en la porción central y blanco en la periferia. A las dos semanas, las colonias habían formados picnidios con conidios idénticos a los encontrados en cañas infectadas naturalmente. Los picnidios se apreciaron de color marrón oscuro, sub-globosos, blandos, ostiolados y con pared celular delgada. Los picnidios producidos *in situ* estaban inmersos y midieron (200,0-) 229,1 (-260,0) µm de diámetro. Los conidios aparecieron unicelulares, globosos a ligeramente elipsoidales, y de color marrón claro a oliváceo cuando vistos en masa bajo luz transmitida. Los conidios producidos *in vitro* e *in situ* midieron (3,0-) 3,8 (-5,0) x (1,75-) 2,1 (-3,0) µm y (3,3-) 3,8 (-4,5) x (2,0-) 2,5 (-3,0) µm, respectivamente. Los pseudotecios desarrollados en cañas infectadas naturalmente se apreciaron inmersos, sub-globosos, negros y con ostiolo papilado (Fig. 1B). Los ascos se manifestaron hialinos, bitunicados y contenían ocho ascosporas fusiformes, triseptadas, de color marrón oliváceo pálido, con una de las células más ancha que las demás y midieron (11,0-) 13,8 (-16,0) x (3,5-) 3,7 (-4,5) µm. Sobre la base de la morfología y las dimensiones de las estructuras reproductivas asexuales y sexuales, producidas *in vitro* e *in situ*, se determinó que, efectivamente, el hongo investigado es *Coniothyrium fuckelii*, fase asexual de *Diapleella coniothyrium* (Fuckel) Barr [= *Leptosphaeria coniothyrium* (Fuckel) Sacc.] (1, 15), el cual ha sido asociado con quema en las cañas de *Rubus* spp. y con cáncer en plantas de los géneros *Malus*, *Prunus*, *Rosa* y otros (8,15). Aunque durante la investigación se encontraron las dos fases reproductivas del patógeno, en el artículo se hace especial referencia al estado conidial porque fue el más frecuente.

En varios reportes relacionados con la quema de las cañas en *Rubus* spp. (9, 11,16,17,18,19), comúnmente *C. fuckelii* aparece reconocido como un patógeno oportunista, porque sólo produce infección en plantas con heridas causadas por insectos, escardillas, cosechadoras mecánicas, poda y por el roce de las cañas adyacentes o del alambre utilizado para sujetar las cañas. Las lluvias y el riego por aspersión favorecen la infección (20) y el hongo tiene la habilidad de sobrevivir en

las cañas viejas infectadas (17). Al respecto es importante señalar, que los productores de Mérida tienen por costumbre dejar los restos de poda dentro y/o en los alrededores de la plantación, práctica que, por lo general, permite mantener una fuente permanente de inóculo.

Inoculación. Las pruebas de patogenicidad fueron positivas y permitieron comprobar que *C. fuckelii* invade rápidamente las cañas heridas, causando estrangulamiento y posterior muerte rápida de los tejidos ubicados por encima del área lesionada. Cuando la cubierta de plástico fue retirada, todas las plántulas inoculadas mostraban lesiones de color marrón claro. Dos semanas después de la inoculación, todas las cañas estaban casi completamente estranguladas y las hojas mostraban síntomas de marchitez. Una semana más tarde, las plántulas habían muerto y en el sitio de inoculación había picnidios idénticos a los observados en las cañas infectadas naturalmente. La superficie cortical de las lesiones mostraba masas de exudados conidiales. Las plántulas testigo no desarrollaron síntomas de enfermedad y el hongo fue aislado consistentemente de las cañas inoculadas.

La enfermedad tiene importancia económica porque debilita o mata las cañas, disminuyendo los rendimientos (16). Ha sido reportada en frambuesas roja (*R. ideaus* L.) y negra (*R. occidentalis*) (16) y en mora (7,10). Es de aparición frecuente en las plantaciones de *R. ideaus* cosechadas mecánicamente (6, 18) y su incidencia ha sido asociada los daños provocados por los insectos *Oecanthus niveus* De Greer en Norte América (16) y *Resseliella* (= *Thomasiniana*) *theobaldi* Barnes en Europa y el Reino Unido (9,12,13).

Por lo general, las condiciones ambientales (clima húmedo y frío) que prevalecen en las explotaciones de mora de Mérida, favorecen el desarrollo de la enfermedad, sin embargo, los bajos niveles de incidencia observados en distintos sitios de la región, evidencian que la quema de las cañas, causada por *C. fuckelii*, por ahora, no entraña importancia económica. La enfermedad fue detectada a finales del 2000 y principios del 2001 en Santa Rosa (plantación experimental) y Miraflores (plantación comercial), respectivamente. Los graves daños ocurridos en La Honda durante 1998, pudieron haber sido influenciados por las intensas y continuas lluvias provocadas por el fenómeno atmosférico La Niña, el cual se inició en abril de 1998 y finalizó a mediados del 2000.

LITERATURA CITADA

- Barr, M. E., Rogerson, C. T., Smith, S. J., and Haines, J. H. 1986. An annotated catalog of the pyrenomycetes described by Charles H. Peck. Bull. New York State Mus. 459: 1-74.
- Cedeño, L. y Carrero, C. 1999. Primer reporte de *Coniothyrium fuckelii* en Mérida, Venezuela, causando quema en cañas de la mora de Castilla. Fitopatol. Venez. 12: 48. (Resumen).
- Cedeño, L. Carrero, C. y Quintero, K. 1995. Primer reporte en Venezuela de *Sphaeroteca macularis* causando mildiú polvoriento en mora de Castilla (*Rubus glaucus*). Rev. Forest. Venez. 1:20. (Resumen).
- Cedeño, L., Carrero, C. y Quintero, K. 1995. El mildiú lanoso, *Peronospora sparsa*, de la mora de Castilla (*Rubus glaucus*) en Venezuela. Rev. Forest. Venez. 1: 45. (Resumen).
- Cedeño, L. y Palacios-Prü, E. L. 1991. Antracnosis en mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) causada por *Glomerella cingulata* en Venezuela. Fitopatol. Venez. 4: 17-20.
- Cormack, M. R. and Waister, P. D. 1976. Effects of machine harvesting of raspberries on yield in the following year. Hort. Res. 16: 121-129.
- Cunningham, G. H. 1922. A fungus disease attacking blackberry. Identified as raspberry cane-wilt. N. Z. J. Agr. 24: 23-26.
- Farr, D. F., Bills, G. F., Chamuris, G. P. and Rossman, A. Y. 1989. Fungi on plants and plant products in the United States. APS Press, St. Paul, Minnesota. 1252 p.
- Fox Wilson, G. and Green, D. E. 1944. Observations on two raspberry troubles. J. Royal Hort. Soc. 69: 79-86.
- Humphreys-Jones, D. R. 1975. Cane blight [*Leptosphaeria coniothyrium* (Fuckel) Sacc.] of blackberries. Plant Pathology 24: 122-123.
- Jennings, D. L. 1979. Resistance to *Leptosphaeria coniothyrium* in the red raspberry and some related species. Ann. Appl. Biol. 93: 319-326.
- Labruyère, R. E. and Engels, G. M. M. T. 1963. Fungi as the cause of diseases of the raspberry cane and their connection with the occurrence of the raspberry cane midge. Netherlands J. Plant Pathol. 69: 235-257.
- Pitcher, R. S. and Webb, P. C. R. 1952. Observations on the raspberry cane midge (*Thomasiniana theobaldi* Barnes). II. "Midge blight", a fungal invasion of the raspberry cane following injury by *Thomsiniana theobaldi*. J. Hort. Sci. 27: 95-100.
- Pritts, M. P. 1991. The genus *Rubus*. In Compendium of Raspberry and Blackberry Diseases and Insects. APS Press, St. Paul, Minnesota. pp. 1-2.
- Punithalingam, E. 1980. *Leptosphaeria coniothyrium*. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. N° 663. Commonw. Mycol. Inst., Kew, Surrey, England.
- Stewart, F. C. and Eustace, H. J. 1902. Raspberry cane blight and raspberry yellows. I. Raspberry cane blight. New York Agricultural Experimental Station Bulletin n° 226. pp. 333-362.
- Williamson, B. 1991. Cane blight. In Compendium of Raspberry and Blackberry Diseases and Insects. APS Press, St. Paul, Minnesota. pp. 5-7.
- Williamson, B. and Hargreaves, A. J. 1978. Cane blight (*Leptosphaeria coniothyrium*) in mechanically harvested red raspberry (*Rubus ideaus*). Ann. Appl. Biol. 88: 37-43.
- Williamson, B. and Hargreaves, A. J. 1981. The effects of sprays of thiophanate-methyl on cane diseases and yield in red raspberry, with particular reference to cane blight (*Leptosphaeria coniothyrium*). Ann. Appl. Biol. 97: 165-164.
- Williamson, B. Bristow, P.R. and Seemüller, E. 1986. Factors affecting the development of cane blight (*Leptosphaeria coniothyrium*) on red raspberry in Washington, Scotland, and Germany. Ann. Appl. Biol. 108: 33-42.