

**Botrytis porri, CAUSANTE DE PUDRICIÓN EN EL CUELLO DEL AJO
EN MÉRIDA, VENEZUELA**

Luis Cedeño, Chrystian Carrero, Kleyra Quintero e Pedro Segovia

RESUMEN

Se identificó a *Botrytis porri* como la causa de pudrición en el cuello de plantas de ajo (*Allium sativum*) cultivadas en el sector Mesa de Caballo, Municipio Miranda del estado Mérida, Venezuela. La identidad del patógeno se estableció en función de la morfología y las dimensiones de conidios y esclerocios producidos in vitro e in situ. En substrato preparado con harina de avena y

agua, el hongo formó grandes esclerocios negros de aspecto cerebriforme que lo caracterizan. Todas las plántulas inoculadas murieron en el transcurso de una semana, mientras que las testigos no presentaron síntomas de infección. *B. porri* fue el único microorganismo aislado de las plántulas inoculadas. Este es el primer reporte de *B. porri* infectando ajo cultivado en Venezuela.

SUMMARY

Botrytis porri was identified as the cause of neck rot on garlic plants grown at Mesa de Caballo, Miranda Municipality of Merida State, Venezuela. The pathogen identity was established based on morphology and size of conidia and sclerotia produced in vitro and in situ. On a substrate prepared with oatmeal and

water, the fungus formed characteristic large black cerebriform sclerotia. All inoculated garlic seedlings died within one week, whereas seedlings used as control did not show disease symptoms. Only *B. porri* was isolated from inoculated seedlings. This is the first report of *B. porri* infecting garlic grown in Venezuela.

RESUMO

Identificou-se a *Botrytis porri* como a causa de apodrecimento no caule de plantas de alho (*Allium sativum*) cultivadas no setor Mesa de Caballo, Município Miranda do estado Mérida, Venezuela. A identidade do patógeno se estabeleceu em função da morfologia e as dimensões de conídios e esclerócios produzidos in vitro e in situ. Em substrato preparado com farinha de aveia e água, o fungo

formou grandes esclerócios negros de aspecto cerebriforme que o caracterizam. Todas as plântulas inoculadas morreram no transcurso de uma semana, enquanto que as testemunhas não apresentaram sintomas de infecção. *B. porri* foi o único microorganismo isolado das plântulas inoculadas. Este é o primeiro reporte de *B. porri* infectando alho cultivado na Venezuela.

Introducción

El ajo (*Allium sativum* L.) es la especie de la familia de las Liliáceas que tiene

mayor trascendencia económica en la región de los Andes de Venezuela, particularmente en el estado Mérida donde en 1997 se cosechó el

47,5% de la producción nacional (MAC, 1999). El historial fitopatológico regional indica que, tradicionalmente, las enfermedades que han

ocasionado las pérdidas más significativas en el cultivo son la "pudrición blanca" causada por el hongo *Sclerotium cepivorum* Berk. y la

PALABRAS CLAVE / *Allium sativum* / *Botryotinia porri* / *Botrytis porri* / Pudrición del Cuello /

Recibido: 14/02/2003. Modificado: 14/05/2003. Aceptado: 15/05/2003

Luis Cedeño. Ingeniero Agrónomo, Universidad de Oriente, Venezuela. Master en Patología Vegetal, Universidad de Georgia, EEUU. Profesor-Investigador, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP), Uni-

versidad de Los Andes (ULA), Mérida, Venezuela. Dirección: IIAP-ULA. Mérida 5101-A, Venezuela. e-mail: lcedeno@icnet.com.ve. Chrystian Carrero. Ingeniero Agrónomo, Universidad del Za-

lia, Venezuela. Master en Manejo de Bosques, ULA. Profesor-Investigador, IIAP-ULA. Kleyra Quintero. TSU en Fitotecnia, IUTE-Mérida, Venezuela. Asistente, Laboratorio de Fitopatología, IIAP-ULA.

Pedro Segovia. Ingeniero Agrónomo, Universidad Central de Venezuela. Coordinador de Promoción y Desarrollo. Agrosileña, Mérida, Venezuela.

"cachera" inducida por el nematodo *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev. A causa del alto nivel de contaminación por *S. cepivorum*, algunas áreas con excelentes condiciones de clima y suelo para la explotación del ajo están siendo ocupadas con otros cultivos. Después de haber contaminado las tierras de Bailadores con *S. cepivorum*, los ajocultores merideños se trasladaron a las tierras del páramo, donde la pudrición blanca se ha convertido en el factor más limitante del cultivo. El desacato a normas fitosanitarias que garantizan la prevención de enfermedades y la siembra de semilla (dientes) producida en campos contaminados, han sido las principales causas de la expansión de la pudrición blanca en la región andina venezolana y, consecuentemente, de las restricciones geográficas impuestas por la enfermedad en el cultivo del ajo.

En noviembre de 2001, en una plantación comercial de ajo "Mexicano Rojo" (10ha), ubicada en el sector Mesa de Caballo de Mucubají, Municipio Miranda del estado Mérida, se observaron plantas con síntomas similares a los que caracterizan las enfermedades de pudrición blanca, cachera y fusariosis. En algunas plantas las hojas presentaban marchitez y amarillamiento acentuado, mientras que otras tenían las hojas muertas y retorcidas. La enfermedad había afectado aproximadamente 0,5ha de cultivo. Al examinar macro y microscópicamente bulbos cosechados de plantas muertas, en ningún caso se observaron nematodos, ni los diminutos esclerocios negros típicos de *S. cepivorum*, cuya aparición resulta muy común en materiales con avanzado estado de infección causada por este patógeno.

En la plantación se encontraron plantas con lesiones de color blanco en la porción basal del pseudotallo (Figura 1) y plantas muertas o moribundas cuyos bulbos

estaban invadidos por un moho gris con reflejos de color marrón claro, constituido por micelio, conidióforos y conidios con la morfología típica del género *Botrytis*. En plantas moribundas y muertas frecuentemente se encontraron esclerocios negros con los tejidos diferenciados en cáscara y médula.

El presente trabajo fue realizado con el propósito de identificar la especie de *Botrytis* detectada y comprobar si ésta fue la causante de los daños descritos.

Materiales y Métodos

Aislamiento e identificación. Para aislar el patógeno se escogieron esclerocios y tejidos infectados. Ambos materiales fueron lavados durante 1h con agua corriente. Fragmentos de esclerocios y pequeñas porciones de tejidos cortados del margen de avance de las lesiones, fueron sumergidos por 1min en solución 0,5% de hipoclorito de sodio, lavados en tres cambios de agua destilada estéril (ADE), secados y sembrados en cápsulas de Petri que contenían agua y agar 2% acidificado con ácido láctico (AAA). Las placas se incubaron a 25°C en



Figura 1. Síntomas iniciales de la enfermedad en ajo "Mexicano Rojo" infectado naturalmente



Figura 2. Esclerocios cerebriformes, maduros e inmaduros, producidos por *B. porri* en harina de avena más agua.

la oscuridad. Posteriormente, los cultivos fúngicos emergentes fueron sub-cultivados en AAA para purificarlos y conservarlos bajo refrigeración (4°C) en tubos de ensayo con papa-dextrosa-agar (PDA) inclinado. El aislamiento B-2001/04, obtenido de esclerocios, fue seleccionado para las pruebas de identificación y patogeni-

dad. La identificación se fundamentó, principalmente, en las características morfológicas de los conidios y los esclerocios producidos en fiolas con agua (25cc) más harina de avena en polvo (12g; AHA) y en placas que contenían medio preparado con segmentos de hojas de ajo, agua y agar 2% (HAAA). El substrato AHA es una modificación del utilizado por Elliott (1964), en el que la harina de avena sustituyó a la harina de trigo. Ambos substratos fueron esterilizados en autoclave durante 15min a 121°C. Los segmentos de hojas de ajo fueron igualmente esterilizados por el mismo procedimiento y colocadas en las placas antes de vaciar el medio. Las fiolas y las placas se incubaron a temperatura ambiente (22°C) y bajo un régimen de 12h de oscuridad y 12h de iluminación proporcionada por una lámpara suspendida a 40cm de altura y constituida por 2 tubos de luz blanca fluorescente y 2 tubos de luz negra. Adicionalmente, se hicieron registros sobre el tamaño de los conidios producidos *in situ*. Los montajes se hicieron en formalina 4% y las estructuras reproductivas se examinaron en un microscopio Zeiss Axioplan, con cámara incorporada. Los datos registrados se compararon con los descritos en la literatura especializada.

Patogenicidad. En estas pruebas se utilizaron plántulas de ajo criollo de 7cm de altura, las cuales estaban creciendo en bolsas negras de polietileno con una mezcla estéril de suelo/arena 2:1. Como inóculo se usaron discos de micelio (1cm diám.), cortados de cultivos en PDA, incubados durante 25 días a 25°C en completa oscuridad. En el cuello de 9 plántulas se colocaron 2 discos de inóculo en lados opuestos. En las plántulas testigos (3) se aplicaron discos de PDA sin el hongo. Inmediatamente después de la inoculación, las plántulas

fueron regadas abundantemente con ADE, cubiertas por 8 días con bolsas de plástico transparente y colocadas en los mesones del laboratorio. Después de 72h, las plántulas fueron examinadas diariamente para evaluar el desarrollo de la infección. Las pruebas de patogenicidad se hicieron dos veces. A partir de las plántulas infectadas experimentalmente, se hicieron reaislamientos para comprobar el cumplimiento de los postulados de Koch.

Resultados y Discusión

Todos los aislamientos obtenidos de tejidos infectados y de esclerocios originaron un hongo con características típicas del género *Botrytis*. En PDA el hongo produjo colonias compactas de color blanco amarillento a blanco grisáceo que formaron esclerocios, pero no produjeron conidióforos ni conidios. En HAAA las colonias desarrollaron esclerocios y se manifestaron de color marrón grisáceo a causa de la abundante producción de conidióforos con conidios, principalmente sobre los segmentos de hojas de ajo. Los esclerocios producidos en PDA y HAAA fueron morfológica y dimensionalmente similares, pero resultaron ser distintos a los formados en AHA (Figura 2), los cuales típicamente presentaron aspecto cerebriforme y tuvieron mayores dimensiones. Los esclerocios promediaron 1,7 x 1,2mm en HAAA y 19 x 11mm en AHA. En ambos casos, tenían los tejidos diferenciados en médula y cáscara, y durante su desarrollo mostraron la siguiente secuencia de colores: blanco, marrón claro, marrón oscuro y negro. Los conidios se examinaron después de 3 semanas de crecimiento porque antes no habían alcanzado la madurez, que se evidencia por la aparición del color marrón oliváceo que los caracteriza individualmente, ya que cuando se en-

cuentran en masa aparecen de color grisáceo. Los conidios producidos en PDA midieron 13,8 (12,0-17,0) μm x 7,4 (6,5-9,0) μm , más comúnmente 13,8 (12,8-14,8) μm x 7,4 (6,8-8,0) μm , mientras que los formados *in situ* tuvieron mayores dimensiones, alcanzando 15,2 (12,0-18,0) μm x 9,6 (7,0-12,0) μm , más comúnmente 15,2 (13,7-16,7) μm x 9,6 (8,4-10,8) μm . Por el aspecto cerebriforme de los esclerocios y el tamaño de los conidios formados *in situ* e *in vitro*, el hongo investigado se identificó como *Botrytis porri* Buchw., anamorfio de *Botryotinia porri* (van Beyma Thoe Kingma) Whetzel (Crowe *et al.*, 1996; Ellis, 1971; Elliott, 1964), reconocido en EEUU y Europa como causa frecuente de daños severos en ajo y ajo porró (*Allium porrum* L.) (Crowe *et al.*, 1996). En Canadá fue señalado como la causa de pudrición en hojas y el pseudotallo de ajo porró almacenado en frío (Asiedu *et al.*, 1986).

B. porri fue diferenciado de *B. allii*, que también pudre el cuello del ajo, porque este último produce conidios y esclerocios más pequeños (Ellis, 1971; Lacy y Lorbeer, 1996).

Los síntomas observados en el campo fueron reproducidos en las plántulas inoculadas. La infección comenzó a manifestarse a los 5 días después de la inoculación, como lesiones húmedas de color blanco, las cuales avanzaron progresivamente desde las hojas más externas hacia las internas. A causa del estrangulamiento ocasionado por el hongo a nivel del cuello, todas las plántulas inoculadas murieron en el transcurso de una semana, mientras que las usadas como control no presentaron síntomas de enfermedad. Cuando se retiraron las cubiertas de plástico transparente, un moho marrón grisáceo fue apreciado en el cuello de las plántulas inoculadas. *B. porri* fue el úni-

co microorganismo aislado de las plántulas inoculadas.

En EEUU, *B. porri* fue descubierto en 1982 (Somerville *et al.*, 1984) causando pudrición seca en el cuello y el bulbo de plantas de ajo cultivadas en California; un año más tarde fue detectado en Nevada y Oregon. Hasta ahora, Brasil era el único país latinoamericano con registro previo de este patógeno (Crowe *et al.*, 1996).

Los síntomas y signos característicos de la enfermedad incluyen (Somerville *et al.*, 1984) plantas de crecimiento reducido, hojas que sufren progresivamente marchitez, amarillamiento y muerte prematura, bulbos fruncidos y con poco peso, y presencia de un moho gris y de grandes esclerocios negros con aspecto cerebriforme en la porción basal del pseudotallo y sobre el bulbo.

En ajo, el ataque de *B. porri* usualmente se produce cerca de la superficie del suelo, progresando luego hacia el bulbo, pero tanto el inicio y como el avance de la infección dependen del tiempo en que el cuello permanece húmedo (Crowe, 2001). Cuando la infección ocurre durante los primeros estadios del ciclo del cultivo, las plantas pueden morir y las pérdidas que se registran al momento de la cosecha pueden ser de menor cuantía (Crowe, 2001).

La enfermedad puede convertirse en epidémica cuando el clima se mantiene húmedo y frío, pero no progresa cuando el ambiente se torna caliente y seco (Crowe *et al.*, 1996). La precipitación, el riego, la humedad existente en la superficie del suelo y el tipo de suelo, favorecen el desarrollo de la enfermedad (Crowe, 2001). En zonas áridas, las infecciones más severas ocurren en campos que han sido regados en exceso, en campos donde la irrigación normal antecede a un periodo húmedo y nublado, o en campos donde los suelos son pesados y prolongan el periodo de humedad

alrededor del cuello de la planta (Crowe *et al.*, 1996).

De acuerdo a los resultados obtenidos, se concluye que el hongo *B. porri* fue el causante de los daños ocurridos en ajo "Mexicano Rojo", siendo esta la primera vez que este patógeno es reportado en Venezuela. La enfermedad debe ser objeto de permanente vigilancia fitosanitaria, porque en los campos de ajo de otros países ha ocasionado pérdidas iguales o superiores a 30% (Crowe *et al.*, 1996). El clima que predomina en la zona (páramo) donde actualmente se conducen las principales explotaciones de ajo de la región meridiana, es muy favorable para el desarrollo de la enfermedad.

REFERENCIAS

- Asiedu SK, Raghavan GSV, Garipey Y, Reeleder R (1986) *Botrytis porri* on leek in Canada. *Plant Dis.* 70: 259.
- Crowe F (2001) *Garlic Diseases (White rot, Botrytis, Fusarium)*. Central Oregon Agriculture. <http://www.orst.edu/dept/jcext/may2.htm>
- Crowe F, Mohan SK, Schwartz HF (1996) Botrytis rot of garlic. En Schwartz HF, Mohan SK (Eds.) *Compendium of Onion and Garlic Diseases*. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minn. EEUU. pp.19-20.
- Ellis MB (1971) *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, Reino Unido. 608 pp.
- Elliott ME (1964) Self-fertility in *Botryotinia porri*. *Can. J. Botany* 42: 1393-1395.
- Lacy ML, Lorbeer JW (1996) Botrytis neck rot. En Schwartz HF, Mohan SK (Eds.) *Compendium of Onion and Garlic Diseases*. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minn. EEUU. pp. 18-19.
- MAC (1999) *Anuario Estadístico Agropecuario 1995-1997*. Dirección de Planificación y Estadística. Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas, Venezuela.
- Somerville PA, Hall DH, Greathead AS (1984) Dry rot of garlic caused by *Botrytis porri* Buchw. *Phytopathol.* 74: 829.