

ANTRACNOSIS EN MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus*) CAUSADA POR *Glomerella cingulata* EN VENEZUELA

Luis R. Cedeño M^{1,2} y Ernesto L. Palacios-Prü²

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Apdo. 220 y ²Centro de Microscopía Electrónica, Apdo. 163, Universidad de Los Andes, Mérida 5101-A, Venezuela.

Recibido: 22 de Febrero de 1991

RESUMEN

Cedeño M., L.R. y Palacios-Prü, E.L. 1991. Antracnosis en mora de Castilla (*Rubus glaucus*) causada por *Glomerella cingulata* en Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 4: 17-20.

La especie *Glomerella cingulata*, teleomorfo de *Colletotrichum gloeosporioides*, fue identificada como la causante de la enfermedad de antracnosis que destruye las cañas de la mora de Castilla en la región andina de Venezuela. El patógeno produce lesiones de color castaño-claro encerradas por un borde castaño-oscuro. Las lesiones usualmente se inician en la porción basal de las espinas y en los sitios de inserción de las ramas, los pecíolos y los pedúnculos. En los tejidos infectados naturalmente sólo se encontraron peritecios; sin embargo, en los medios de cultivo papa-extracto de levadura-dextrosa-agar y papa-zanahoria-dextrosa-agar, el hongo formó peritecios y estructuras equivalentes a conidiomas acervulares. Las estructuras de origen sexual fueron siempre más predominantes que las asexuales. En las pruebas de inoculación el patógeno infectó plantas de mora de Castilla con y sin heridas, pero su agresividad fue mucho más pronunciada en las plantas con heridas.

ABSTRACT

Cedeño M., L.R. and Palacios-Prü, E.L. 1991. Anthracnose of blackberry (*Rubus glaucus*) caused by *Glomerella cingulata* in Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 4: 17-20.

The species *Glomerella cingulata*, teleomorph of *Colletotrichum gloeosporioides*, was identified as the causal agent of the anthracnose disease that destroys blackberry canes in the andean region of Venezuela. The pathogen causes lesions showing a light-brown central area with a dark-brown border. Usually the lesions begin at the basal portion of the spines and in the insertion sites of canes, petioles and flower stalks. In naturally infected tissues only perithecia were found, while in potato-yeast extract-dextrose-agar and potato-carrot-dextrose-agar culture media, the fungus produced both sexual and asexual reproductive structures. Inoculation tests showed that the fungus infected both healthy and previously wounded blackberry plants, but the pathogen aggressiveness was more pronounced in wounded plants.

INTRODUCCION

El género *Rubus*, perteneciente a la familia Rosaceae, agrupa a un conjunto de especies arbustivas que crecen en sitios cuyas altitudes están comprendidas entre los 1500 y 2500 msnm. En el Estado Mérida, Venezuela, la especie de *Rubus* que más se cultiva es la *R. glaucus* Benth, comunmente llamada mora de Castilla y fresa-mora. En esa región, los frutos de mora de Castilla se consumen frescos y procesados en forma de refresco, helado y mermelada. El cultivo generalmente se propaga por semillas y su fase productiva, que se inicia a los seis meses después de realizado el transplante, exige la realización de por lo menos dos cosechas semanales. Según Salas (10), los rendimientos pueden alcanzar valores aproximados a las 25 ton/ha/año.

En Los Andes de Venezuela hasta hace poco el hongo *Botrytis cinerea* Pers., agente causal del "moho gris" que pudre los frutos de la mora de Castilla, fue considerado como el más común y severo enemigo del cultivo; sin embargo, recientemente en las aldeas Pata de Gallina y La Honda, ambas localizadas en el Municipio Autónomo Tovar del Estado Mérida, se encontraron plantas de mora de Castilla atacadas por una enfermedad del tipo antracnosis que destruye las cañas y reduce los rendimientos considerablemente. La enfermedad se observó con mayor frecuencia y severidad en las plantaciones donde se aplican podas continuas para eliminar los tejidos infectados.

Los síntomas iniciales de la antracnosis aparecen en la porción basal de las espinas y en los sitios de inserción de las cañas, los pecíolos y los pedúnculos (Fig. 1A). Al principio,

los tejidos infectados muestran lesiones de color castaño-oscuro que posteriormente se ensanchan y desarrollan un área central castaño-claro y un borde castaño-oscuro (Fig. 1B). La muerte de los tejidos localizados por encima de las lesiones, a causa de la internalización de la infección (Fig. 1C), constituye el indicio más notable de la presencia de la enfermedad. En los tejidos contaminados naturalmente con frecuencia se observaron peritecios, que al ser examinados con el microscopio fotónico presentaron en su interior ascos hialinos y bitunicados que contenían ascosporas hialinas, elipsoidales y ligeramente curvadas. Las características de las estructuras reproductivas permitieron ubicar al posible agente causal de la enfermedad dentro del género *Glomerella*. Tomando en consideración la gran demanda y aceptación que tiene el cultivo de la mora de Castilla en la zona andina de Venezuela y la extrema severidad de los daños que ocasiona la antracnosis, se realizó una investigación con el propósito de probar la patogenicidad y establecer con exactitud la identidad del hongo asociado a la enfermedad.

MATERIALES Y METODOS

Aislamiento. El patógeno fue aislado en agar-agua con ácido láctico (AAA) a partir de peritecios y fragmentos de tejidos cortados de los límites de las lesiones en las cañas. Ambos materiales fueron previamente tratados durante 5 min con una solución de hipoclorito de sodio 0,525%, luego lavados tres veces en agua destilada estéril, secados en papel de filtro y sembrados asépticamente en el medio de cultivo. Con el propósito de intentar la producción de colonias altamente esporulantes, a ser utilizadas en los estudios de

caracterización morfológica y en las pruebas de patogenicidad, los aislamientos fueron subcultivados en placas de papa dextrosa agar (Difco PDA), papa-extracto de levadura-dextrosa-agar (PELDA), papa-zanahoria-dextrosa-agar (PZDA) y AAA con y sin discos estériles de papel celofán en su superficie. Las placas fueron inoculadas a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ y revisadas con frecuencia para observar la formación de estructuras reproductivas.

Patogenicidad. El inóculo utilizado fue una suspensión micelial preparada con agua destilada estéril (100 ml), Tween-20 (1 gota) y un cultivo esporulado de 10 d, en PDA, a temperatura ambiente. Se inocularon plantas intactas y heridas (4) por punción con un alfiler precalentado. El inóculo se aplicó a lo largo de todo el tallo con una brocha pequeña. Las plantas testigo, con y sin heridas (2), sólo recibieron agua destilada estéril. Después de aplicados los tratamientos, todas las plantas se cubrieron con bolsas plásticas transparentes e inmediatamente se incubaron en el invernadero. Las envolturas plásticas se retiraron al tercer día después de la inoculación y las plantas fueron revisadas diariamente para observar el desarrollo de la enfermedad. De los tejidos infectados experimentalmente se realizaron aislamientos para comprobar la identidad del inóculo.

RESULTADOS

Aislamiento. En todos los aislamientos practicados se obtuvieron colonias de color gris-verdoso, que en los distintos medios de cultivo utilizados desarrollaron estructuras equivalentes a conidiomas acervulares y peritecios de características semejantes a los encontrados sobre los tejidos de plantas enfermas en el campo. Ambas estructuras se formaron escasamente en AAA, con y sin papel celofán en su superficie, y abundantemente en las preparaciones Difco-PDA, PELDA y PZDA. En estos últimos sustratos, tanto los equivalentes a conidiomas acervulares como los peritecios aparecieron dispuestos en forma concéntrica y los peritecios siempre se observaron en mayor abundancia que los equivalentes a conidiomas acervulares. Los conidios midieron $12,5 - 15,5 \times 5,6 \mu\text{m}$ y se apreciaron hialinos y cilíndricos con extremos obtusos (Fig. 1D), mientras que las ascosporas promediaron $34 \times 12-14 \mu\text{m}$ y se observaron hialinas, elipsoidales y ligeramente curvadas (Fig. 1E).

Patogenicidad y reaislamiento. Al momento de retirar las cubiertas plásticas se comprobó que todas las plantas inoculadas por heridas tenían síntomas de infección idénticos a los ocurridos en el campo; sin embargo, sólo una de las plantas inoculadas sin heridas mostraba lesiones incipientes. A simple vista, los tejidos infectados presentaban un color azulado. A la semana después de la inoculación todas las plantas infectadas por heridas habían muerto a causa del estrangulamiento del tallo, mientras que el 75% de las inoculadas sin heridas habían desarrollado lesiones en la porción basal de las espinas. Las plantas usadas como testigo siempre permanecieron sanas. Los aislamientos realizados a partir de los tejidos infectados experimentalmente confirmaron los postulados de Koch.

DISCUSION

En las muestras procedentes del campo en ningún momento se encontraron acérvulos; sin embargo, en los cultivos *in vitro* el hongo desarrolló constantemente escasas estructuras equivalentes a conidiomas acervulares y abundantes peritecios idénticos a los encontrados en los materiales contaminados naturalmente. Las características

morfológicas y las dimensiones exhibidas por el hongo aislado conjuntamente con los resultados obtenidos en las pruebas de patogenicidad y de reaislamiento, permitieron comprobar que la necrosis que ataca las cañas de la mora de Castilla es provocada por el hongo *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. & Schrenk, cuya fase anamórfica se identificó como *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

C. gloeosporioides es un hongo que daña con frecuencia las inflorescencias, las hojas y los frutos de una gran cantidad de especies de plantas tropicales y subtropicales (12). Su ocurrencia es muy común en los frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) (1), cítricas (*Citrus* spp.) (2), durazno (*Prunus persicae* L.) (9), mango (*Mangifera indica* L.) (8) y manzana (*Malus sylvestris* L.) (11).

Los criterios sobre la patogenicidad de *C. gloeosporioides* son contradictorios. Staghellini y Aragaki (13), señalaron que el hongo es fundamentalmente un parásito de heridas que tiene la habilidad de ocasionar infecciones en frutos mitoticamente inactivos. Ellos no tuvieron éxito al tratar de infectar frutos inmaduros de lechosa. Dickman y Alvarez (6), por el contrario, manifestaron que *C. gloeosporioides* fue capaz de penetrar la cutícula de frutos inmaduros de lechosa y de permanecer latente hasta el advenimiento de la madurez. Según estos investigadores, los frutos inmaduros de lechosa sin cosechar también fueron susceptibles a la infección. Dickman, Patil y Kalattuduky (7), hicieron conocer que *C. gloeosporioides* produce enzimas cutinolíticas que facilitan la penetración de los tejidos de lechosas verdes y sin cosechar. Al respecto, Dickman y Alvarez (6), sugirieron que este mismo modo de penetración puede ocurrir en el campo. Chau (3), citado por Dickman y Alvarez (6), publicó que en la lechosa el hongo se mantiene latente como hifas subcuticulares; sin embargo, aún se desconocen las causas por las cuales el hongo permanece en latencia antes de la maduración (6). Sommer (12), en su análisis sobre el manejo y las enfermedades de los frutos durante la postcosecha, señaló que las infecciones de antracnosis sólo se manifiestan al inicio de la maduración y que las infecciones que ocurren en los frutos que se encuentran en desarrollo se mantienen latentes. Frutos inmaduros de manzano no fueron colonizados por *G. cingulata*, pero su susceptibilidad aumentó conforme los mismos se aproximaron a la madurez (11). La susceptibilidad de los frutos de manzanos dependió del contenido de sacarosa y esta condición fue posible inducirla mediante la incorporación experimental del referido carbohidrato (11). En estudios histológicos realizados con materiales resistentes ('Pride') y susceptible ('Carlos') de *Vitis rotundifolia* Michx, Daykin y Milholland (5), observaron que los conidios de *C. gloeosporioides* germinaron y produjeron apresorios e hifas que penetraron la cutícula de frutos verdes y maduros, sin cosechar. Cuando los frutos del cultivo susceptible maduraron, el hongo colonizó intra e intercelularmente el pericarpio y produjo acérvulos; sin embargo, en los frutos maduros del cultivo resistente el crecimiento micelial del hongo no fue reiniciado. Aunque el síntoma de pudrición no apareció hasta la cosecha, observaciones de campo indicaron que las infecciones habían ocurrido con anterioridad y se mantuvieron latentes. Igualmente, análisis histológicos practicados a frutos de cítricas (2) y de lechosa (4) infectados con *C. gloeosporioides*, permitieron conocer que en los frutos verdes el hongo desarrolló apresorios oscuros que permanecieron latentes y que las hifas de penetración y de infección, solamente fueron producidas durante el estado de madurez.

En la presente investigación sólo las infecciones inducidas por heridas fueron severas y mortales; sin

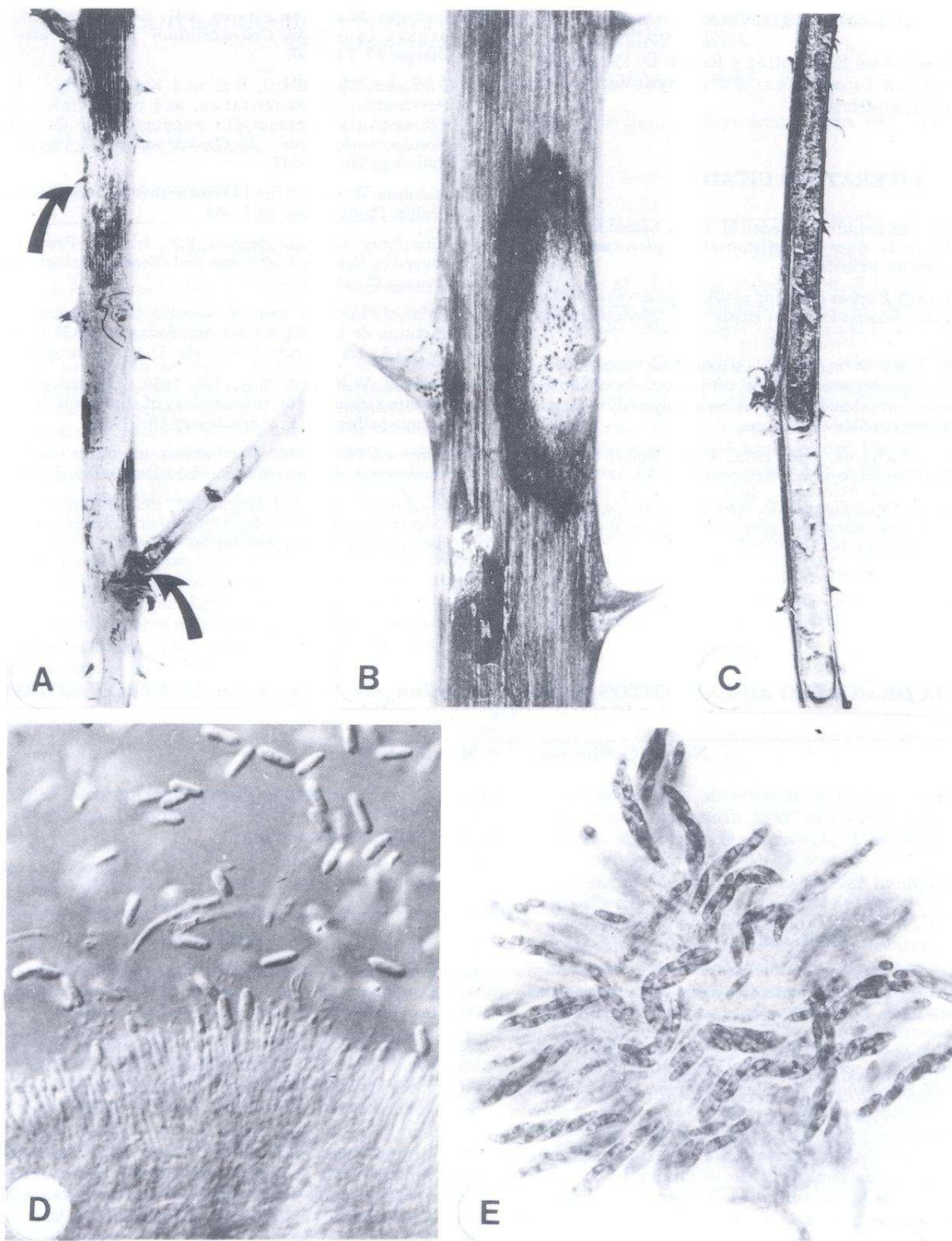


Fig. 1. Síntomas de la antracnosis de la mora de Castilla (A-C) y estructuras reproductivas producidas *in vitro* por el patógeno *Glomerella cingulata* (D-E). A) Lesiones desarrolladas en la porción basal de una espina y en el sitio de inserción de una rama (Flechas). B) Imagen ampliada de una lesión circular ocurrida en una espina en la cual pueden observarse los peritecios. C) Sección longitudinal de una caña mostrando la internalización de la infección. D) Conidióforos y conidios registrados con la óptica de contraste de interferencia Nomarski, x 500. E) Ascós y ascosporas fotografiados con microscopía óptica de campo luminoso, x 500.

embargo, el hongo fue capaz de ocasionar lesiones leves en plantas intactas. Probablemente la penetración y el establecimiento del patógeno en el campo son favorecidos por las heridas resultantes de la poda, ya que los agricultores no

usan fungicidas ni cicatrizantes para protegerlas. Tampoco acostumbran recoger ni destruir los residuos de la poda, lo cual trae como consecuencia el aumento del inóculo, facilitando la propagación de la enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a José B. Ramírez y Rubén D. Paredes la preparación de las fotografías y a Nurys Vargas la mecanografía del manuscrito.

LITERATURA CITADA

1. Binyamini, N. and Schiffman-Nadel, M. 1972. Latent infection in avocado fruit due to *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology* 62: 592-594.
2. Brown, G.B. 1975. Factors affecting postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* in citrus fruit. *Phytopathology* 65: 404-409.
3. Chau, F.K. 1981. A study of anthracnose, caused by *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. on papaya fruit (*Carica papaya*) under normal and low pressure storage. M.S. Thesis, Hawaii, University of Hawaii. 65 pp.
4. Chau, F.K. and Alvarez, A.M. 1983. A histological study of anthracnose of *Carica papaya*. *Phytopathology* 73: 1113-1116.
5. Daykin, M.E. and Milholland, R.D. 1984. Histopathology of ripe rot caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in muscadine grape. *Phytopathology* 74: 1339-1341.
6. Dickman, M.B. and Alvarez, A.M. 1983. Latent infection of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease* 67: 748-750.
7. Dickman, M.B., Patil, S.S. and Kulattukudy, P.E. 1982. Purification, characterization, and role in infection of an extracellular cutinolytic enzyme from *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. on *Carica papaya* L. *Physiol. Plant Pathology* 20: 333-347.
8. Mendoza, W.S. 1977. Pre-harvest anthracnose control in mango. *Phillip. Phytopathol.* 13: 50-53.
9. Rittenburg, L.H. and Hendrix, F.F., Jr. 1983. Peach fruit rots caused by *Botryosphaeria* spp. and *Glomerella cingulata*. *Plant Disease* 67: 449-450.
10. Salas, J. 1981. La mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth). Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 21 pp. (Mimeografiado).
11. Sitterly, W.R. and Shay, J.R. 1960. Physiological factors affecting the onset of susceptibility of apple fruit to rotting by fungus pathogens. *Phytopathology* 50: 91-93.
12. Sommer, N.F. 1982. Postharvest handling practices and postharvest diseases of fruit. *Plant Disease* 66: 357-364.
13. Staghellini, M.E. and Aragaki, M. 1966. Relation of periderm formation and callose deposition to anthracnose resistance in papaya fruit. *Phytopathology* 56: 444-450.

VIRULENCIA DE CUATRO AISLAMIENTOS DE *Macrophomina phaseolina* sobre CUATRO VARIEDADES DE AJONJOLI (*Sesamum indicum*)

Neyda C. Simosa C.¹ y Manuel Delgado²

¹Universidad Nacional Experimental de los Llanos Ezequiel Zamora, Vice-Rectorado de Producción Agrícola, Subproyecto Fisiología Vegetal, Apartado 3323, Guanare, Estado Portuguesa y ²Universidad Centro-Occidental Lisandro Alvarado, Escuela de Agronomía, Postgrado de Fitopatología, Apartado 400, Barquisimeto, Estado Lara.

Recibido: 09 de Mayo de 1991.

RESUMEN

Simosa C., Neyda C. y Delgado, Manuel. 1991. Virulencia de cuatro aislamientos de *Macrophomina phaseolina* sobre cuatro variedades de ajonjolí (*Sesamum indicum*). *Fitopatología Venezolana* 4: 20-23

Se estudiaron las características culturales y la producción de esclerocios de cuatro cepas de *Macrophomina phaseolina*, procedentes de diferentes zonas ajonjolíceras del estado Portuguesa y se encontró que existía una correlación negativa entre el desarrollo micelial tipo algodonoso y la producción de esclerocios en todas las cepas, a excepción de la C-4, procedente de El Playón, Distrito Turén, la cual varió mucho en sus características culturales. La cepa C-3, procedente de la Colonia Agrícola de Turén, Distrito Turén, presentó la mayor capacidad de formación de esclerocios. Para determinar la virulencia de las cepas sobre plantas de ajonjolí, se realizó un ensayo en condiciones semicontroladas utilizando suelo inoculado artificialmente con esclerocios del hongo y se determinó que la cepa C-1 procedente de La Montaña, Distrito Esteller, fue la más virulenta, seguida de las cepas C-3, C-2 y C-4.

ABSTRACT

Simosa C., Neyda C. and Delgado, Manuel. 1991. Virulence of four isolates of *Macrophomina phaseolina* on four sesame (*Sesamum indicum*) cultivars. *Fitopatología Venezolana* 4: 20-23

Culture characteristics and sclerotia formation of four isolates of *Macrophomina phaseolina* from several sesame production zones in Portuguesa state, Venezuela were studied. A negative correlation was found between cotton-type growth of micelia and sclerotia formation in all isolates, except in C-4, from El Playón, Distrito Turén, which varies much in its cultural characteristics. The C-3 isolate from Colonia Agrícola Turén, Distrito Turén presented the highest ability for sclerotia formation. When sesame seedlings were planted in artificially inoculated soil with sclerotia of *Macrophomina* it was found that the strain with the highest degree of virulence was C-1 followed by C-3, C-2, and C-4.

INTRODUCCION.

Entre los muchos factores que limitan la producción de ajonjolí está la enfermedad llamada 'pata negra' o 'tallo negro'

causada por *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. En el Estado Portuguesa se han detectado niveles de pérdida promedio del treinta por ciento ocasionadas por este hongo (5, 12).