

IDENTIFICACION DE *Verticillium dahliae* Kleb EN ALCACHOFAS

*Cynara scolymus*¹

Identification of *Verticillium dahliae* Kleb on artichoke *Cynara scolymus*

Carmen Fernández M.² y Gloria Tobar C.²

SUMMARY

The acreage planted with artichoke has strongly diminished in the V Region of Chile, area situated around 130 km north of Santiago, during the past 10 years. In 1987/88, surveying the areas of La Calera, La Cruz and Quillota, a 22 to 70% of dead plants, was observed. These plants showed wilt symptoms, due to a necrosis in the vascular zone of the stems and crowns. The lower leaves and the bracts of the flowers showed necrotic lesions. *Verticillium dahliae* Kleb, isolated from leaves and stems in specific culture media, was shown to be the causal agent.

This is the first detection of *V. dahliae* on artichoke in Chile.

INTRODUCCION

La alcachofa es un cultivo tradicional en la V Región; sin embargo, en los últimos años ha disminuido drásticamente la superficie plantada: de 1.483 ha que se cultivaban en 1975, bajó en los últimos años a 710 ha (INE, ODEPA).

En visitas periódicas, realizadas en la temporada 1987/88 a alcachofales ubicados en La Calera, La Cruz y Quillota, se encontró, en un total de 16 ha de cultivo, que el porcentaje de plantas muertas variaba entre un 22 y un 70%.

Los síntomas en las plantas enfermas se inician con un cambio en la tonalidad del follaje, acompañado de una leve marchitez, la que es más notoria en las horas de mayor calor. A medida que avanza la enfermedad, las hojas basales muestran lesiones necróticas de color café oscuro, de 2 a 4 cm de largo, que se extienden entre las nervaduras, terminando las hojas por secarse. Lesiones similares se desarrollan en las brácteas, avanzando desde la base hacia la punta, secando totalmente el capítulo. Estos síntomas van acompañados con un aumento de la marchitez, que abarca a casi la totalidad de las hojas, quedando en algunos casos sólo 2 a

3 hojas centrales erectas. Al hacer un corte transversal en la base del tallo, la zona vascular muestra una coloración café muy marcada. Esta coloración avanza hacia la parte superior del tallo.

Estos síntomas, que se pueden presentar en toda la planta o sólo en algunos hijuelos, se observan a partir del primer año de cultivo, pero la muerte de la planta ocurre generalmente del segundo año en adelante.

Cirulli, Ciccarese y Frisullo (1986) indican que, en plantaciones de alcachofa ubicadas en el sur de Italia, se observaron focos expansivos de plantas marchitas, causados por *Verticillium dahliae*; el hongo fue aislado fácilmente del sistema vascular necrosado de la corona, raíces y tallos y, además, de hijuelos nuevos de plantas aparentemente sanas y sólo rara vez de la parte aérea. Las grandes pérdidas ocasionadas por esta enfermedad llevó a la creación de un programa de investigación sobre la biología del hongo y el control de la enfermedad (Ciccarese y Cirulli, 1985).

En la zona española de Murcia, Bartual y Cubillos (1982) indican que, en prospecciones realizadas en las temporadas 1976/77 y 1977/78, encontraron en plantaciones nuevas, que la muerte de esquejes variaba entre un 20 y un 40%, pudiendo llegar a un 80%, lo que obligaba hacer replantes sucesivos del cultivo; al analizar el material en laboratorio, se encontró *Verticillium dahliae* en un 16,2% de las muestras y *Rhizoctonia solani* en un 11,7%.

¹ Recepción de originales: 15 de diciembre de 1988.

² Estación Experimental La Platina (INIA), Casilla 439, Correo 3, Santiago, Chile.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el organismo causal de la muerte de plantas de alcachofa en la V Región.

Aislación del hongo

Hijuelos de alcachofa tipo argentino, con lesiones foliares de color café de 1 a 2 cm de largo, se trajeron de la zona de Quillota (V Región), a la Estación Experimental La Platina, para su estudio. Trozos de hojas y de brácteas con éstos síntomas se lavaron cuidadosamente y se colocaron en agua destilada y esterilizada. Paralelamente, se hicieron aislaciones en agar papa dextrosa (APD), agar alcohol y agar ciruela. Este último medio se usó para la identificación de la especie de *Verticillium*.

Los aislados se mantuvieron en estufa a 22° C. De los aislados del hongo, se hicieron cultivos monospóricos en agar agua, siguiendo la técnica de serie de diluciones.

Identificación

En los bordes de los trozos de hojas y brácteas colocados en agua, se formaron conidióforos erectos, verticilados con 3 a 4 fiálides por nudo, los que fueron observados al microscopio esteroscópico después de 48 hr. En el ápice de cada fiálide, se formó una conidia que, después de emerger, se desprendieron y, ayudadas por una sustancia mucilaginoso, formaron racimos (clusters).

En las aislaciones hechas en APD, se desarrollaron colonias, que originalmente eran de color blanco, con micelio algodonoso y con abundantes conidióforos y conidias. A los 15 días, se observó en el borde de la colonia una zona de avance de más o menos 0,3 cm, de color blanco cremoso y micelio aplanado. En el centro de la colonia, se desarrolló un color negro debido a la formación de microesclerocios. A los 30 días, toda la placa estaba cubierta por microesclerocios.

Al cultivar el hongo en agar alcohol, se desarrolló una colonia de bordes muy tenues, no existiendo una zona definida entre los microesclerocios y la zona de avance. En este medio, la formación de conidióforos y conidias fue escaso.

El desarrollo del hongo en medio de ciruela (Talboys, 1960) fue más lento que en los otros medios de cultivo. Se formaron colonias de color negruzco, con bordes ondulados muy marcados. La zona de avance fue de 0,1 a 0,2 cm, con presencia de conidióforos y conidias; en cambio, en la zona oscura solamente se observaron microesclerocios.

Los conidióforos se caracterizaron por ser erectos y verticilados, su largo varió entre 472 y 1155 μ , con 3

a 4 fiálides por nudo, por conidióforos. Las fiálides eran hialinas y sin septas, con un promedio de 36 μ de largo por 2,1 μ de ancho.

Las conidias, originadas en el ápice de las fiálides, fueron hialinas, unicelulares, de forma elipsoidal a subcilíndricas y su tamaño varió de 3,8 a 7,6 μ de largo por 2,0 a 3,8 μ de ancho.

Los microesclerocios fueron de color negro y de forma irregular a ligeramente esféricos, de consistencia compacta y dura. Su tamaño varió entre 42 a 210 μ de largo por 21 a 157 μ de ancho.

En base a las características morfológicas del hongo que se desarrolló en las muestras puestas en agua, al tipo de crecimiento y color de las colonias en agar papa y agar ciruela y la formación de conidióforos verticilados y microesclerocios, el hongo se identificó como *Verticillium dahliae* Kleb. Las características indicadas coinciden con las señaladas en C.M.I. (1970), para dicho hongo.

Pruebas de patogenicidad

Se realizaron las siguientes pruebas de patogenicidad:

1. El hongo *Verticillium dahliae* se hizo crecer en macetas con semilla de avena esterilizada; cuando ésta estuvo cubierta con el micelio del hongo, más o menos al mes, se mezcló con tierra previamente esterilizada con bromuro de metilo, en un 10% o. Se colocó la tierra en macetas de 2 kg y se dejó durante 4 días para que el hongo la colonizara. Luego se plantaron hijuelos sanos de alcachofa, tipo chilena.

2. Se preparó una suspensión con conidias del hongo en una concentración de $6,5 \times 10^6$ por ml, se sumergieron en ellas hijuelos sanos a los que se les había cortado ligeramente las raíces y se mantuvieron por 10 min; luego se plantaron en macetas con suelo esterilizado con bromuro de metilo.

3. Se colocaron mondadientes de madera esterilizados sobre una colonia de *Verticillium dahliae* que estaba creciendo en agar papa, se dejaron hasta que se cubrieron completamente con el micelio del hongo (más o menos 15 días), luego se introdujeron diagonalmente en la base del tallo de hijuelos plantados en suelo esterilizado.

Cada prueba se hizo con tres repeticiones y se dejaron los correspondientes testigos.

Las primeras plantas que presentaron síntomas fueron las inoculadas con mondadientes. Alrededor de los 30 días después de la inoculación, las hojas basales mostraron necrosis unilateral, la que avanzó hacia el resto de la lámina, terminando ésta por secarse. Al hacer

cortes transversales en el pecíolo, se observó necrosis en los tejidos del xilema.

Diez días más tarde, aparecieron síntomas de marchitez en las plantas inoculadas con suelo infestado y por inmersión de raíces en la suspensión de conidias del hongo. Al hacer un corte transversal en la base del tallo de éstas plantas, se observó necrosis en la zona vascular. Al colocar en agua trozos de hoja y de tallo de

las plantas inoculadas, se desarrollaron conidióforos verticilados, con conidias en los extremos de las filídes. Al sembrar trozos de tejidos enfermos en agar alcohol se realsó el hongo.

Todos los testigos mantuvieron el follaje verde y el sistema radicular sano. Esta constituye la primera determinación de *Verticillium dahliae* Kleb, en alcachofa en Chile.

RESUMEN

En la V Región del país, la superficie dedicada a la producción de alcachofas ha sufrido una fuerte disminución en los últimos 10 años. En la temporada 1987/88, el reconocimiento de las áreas de La Calera, La Cruz y Quillota, detectó la muerte de un 22 a 70% de las plantas de esta especie.

Las plantas mostraban síntomas de marchitez, debida a necrosis de la zona vascular de los tallos y coronas. Además las hojas inferiores y las brácteas florales tenían lesiones necróticas.

Se demostró que *Verticillium dahliae* Kleb, aislado de hojas y tallos en medios de cultivo específicos, era el agente causal de la marchitez.

Esta constituye la primera determinación de *V. dahliae* en alcachofa en Chile.

LITERATURA CITADA

BARTUAL, R. y CUBILLOS, A. 1982. Posible técnica para evitar la producción de marras en el cultivo de alcachofa en la zona de Levante. IV Jornadas de Selección y Mejora de Tomate y Pimiento, Zaragoza 23-25 de Marzo 1982, Unidad de Horticultura 1982, p.: 117-124.

CICCARESE, F. et CIRULLI, M. 1985. La verticilliosi del carciofo. *Informatore Fitopatológico* 35: 25-26.

CIRULLI, M., CICCARESE, F. and FRISULLO, S. 1986. *Verticillium* wilt of artichoke: actiological studies and chemical control. 4th International *Verticillium* Symposium, University of Guelph, Guelph, Ontario, 17-21 August 1986.

C.M.I.—Commonwealth Mycological Institute. 1970. Description of Pathogenic Fungi and Bacteria. Nº 255-256.

TALBOYS, P.W. 1960. A culture—medium aiding the identification of *Verticillium alboatrum* and *V. dahliae*. *Plant Pathology* 9: 57-58.