

## Evaluación del poder patogénico de *Cytospora Chrysosperma* en clones de Chopo

ALONSO, DAVID; PAJARES, JUAN; DIEZ, JULIO

La inoculación de *Cytospora chrysosperma*, forma anamórfica del hongo *Valsa sordida*, en estaquillas de 11 clones de chopo provocó la aparición de necrosis en la corteza y chancros de distinta longitud según los clones. Triplo fue uno de los genotipos que mayor resistencia opusieron al avance del hongo, de forma diferente a clones como I-MC en los que la necrosis originada fue bastante mayor. La aparición de un alto porcentaje de estaquillas infectadas de forma natural justifica la aplicación preventiva de fitosanitarios en los viveros de chopo donde se utiliza este material.

ALONSO, DAVID; PAJARES, JUAN; DIEZ, JULIO. Universidad de Valladolid. Unidad de Entomología y Patología Forestales. Departamento de Producción Vegetal y Silvopascicultura. Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias (E.T.S.I.I.A.A.). Av. De Madrid 57, 34007. PALENCIA. Correo Electrónico: jdcasero@pvs.uva.es

**Palabras clave:** *Cytospora chrysosperma*, *Valsa sordida*, chopo, *Populus* sp., necrosis del floema de los chopos.

### INTRODUCCIÓN

*Valsa sordida* es un ascomiceto Pyrenomycete presente en Europa, Norte America, Norte y Sur de Africa, Australia y Chile (Phillips and Bunderkin, 1992). Su forma más frecuente es la anamórfica *Cytospora chrysosperma* (Lanier et al., 1978), que forma cuerpos de fructificación, tipo picnidio, en la corteza de los chopos infectados de los que emergen en condiciones de humedad los conidios agrupados en cirros anaranjados muy visibles. La forma perfecta de *V. sordida*, más difícil de encontrar, se caracteriza por la formación de peritecios agrupados e inmersos en un tejido estromático.

*C. chrysosperma* causa la enfermedad conocida como necrosis del floema de los chopos, caracterizada por una degeneración del protoplasma celular seguida de la muerte de células y tejidos, que provoca agrietamientos en la corteza y formación de chancros en tronco y ramas. Posteriormente, sobre los tejidos enfermos aparecen los picnidios de esta fase asexual que formarán los cirros en condiciones de alta humedad ambiental, facilitando el diagnóstico de esta patología.

*C. chrysosperma* ha sido considerado generalmente un parásito de debilidad, causante de necrosis en el floema de chopos jóvenes cultivados bajo condiciones de

estrés, a los que infecta a través de las heridas. Particularmente importantes son los daños que puede producir en viveros, plantaciones paisajísticas, forestales y en pantallas cortavientos (Sinclair et al., 1987; McIntyre et al., 1996). Sin embargo, pocos trabajos se han realizado sobre el poder infectivo, daños o control de este hongo (Ibragimov, 1964; Walla y Stack, 1980).

En el presente trabajo se pretende comprobar el poder patogénico de *C. chrysosperma* sobre las estaquillas y árboles adultos de los clones de chopo más utilizados en las plantaciones de nuestro país, así como evaluar la eficacia de distintas formulaciones fitosanitarias en su control.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

Los aislamientos de *C. chrysosperma* utilizados en el presente trabajo se obtuvieron a partir de los cirros obtenidos de la corteza de un árbol enfermo. Los medios de cultivo utilizados para la iniciación de los cultivos fueron agar patata y dextrosa (PDA), agar extracto de malta (MEA), medio de Salemink modificado (Scala et al., 1994), y agar agua (AA). Los aislamientos, una vez obtenidos en cultivo puro, se mantuvieron a 25°C, subcultivándose cada 22 días. Para la realización de los ensayos se eligió al genotipo de mayor crecimiento de los obtenidos (P-CR1).

El poder patogénico de *C. chrysosperma* se evaluó sobre estaquillas (de unos 20 cm de longitud) de 11 clones de chopo de gran importancia comercial (Cuadro 1). Éstas se mantuvieron en agua destilada durante 48 horas antes de proceder con los ensayos. La inoculación se realizó momentos antes de la plantación efectuando una incisión en el ápice de la estaquilla con ayuda de un bisturí, y depositando en la herida con ayuda de un sacabocados, una sección de micelio procedente de un cultivo del hongo. Las incisiones fueron cubiertas con Parafilm para evitar la desecación de los tejidos. Fueron inoculadas 11 estaquillas de cada clon, deján-

dose además otras 4 estaquillas sin inocular por cada genotipo, que sirvieron de control.

Las estaquillas se plantaron de forma aleatoria en dos parcelas distintas, previamente labradas con una mula mecánica para facilitar la aireación del sustrato, y tras la realización de caballones. El marco de plantación utilizado fue de 70 cm entre filas y 20 cm entre líneas (Foto 1). Las estaquillas una vez plantadas, fueron regadas a capacidad de campo para facilitar el asentamiento de la tierra. La plantación fue realizada en el mes de febrero de 1998.

Para comprobar el poder saprófito de *Cytospora chrysosperma* 4 estaquillas de cada clon fueron inoculadas, de la forma antes descrita, y mantenidas en cámara húmeda en el laboratorio hasta la finalización del ensayo, manteniéndose otras 4 estaquillas sin inocular.

La inoculación de *C. chrysosperma* sobre chopos adultos (8 años) se realizó, de forma simultánea a la de estaquillas, en una plantación sita en el Campus de la Yutera (Palencia), sobre tres parcelas distintas de los clones I-214, I-488, Flevo y Triplo. Las inoculaciones se llevaron a cabo a la altura del pecho, siguiendo la misma metodología que en los ensayos con estaquillas.

Para la evaluación de la eficacia de las formulaciones fungicidas se utilizó la metodología de Palazón y Palazón (1983), ensayándose un total de 8 productos (Cuadro 2) en 4 concentraciones distintas (0.1, 1, 10 y 100 ppm). Con la finalidad de comprobar el efecto fungiestático o fungicida de las formulaciones, el micelio utilizado en los ensayos se volvió a cultivar sobre medio PDA, en busca de una posible reactivación de su crecimiento.



Foto 1. Disposición de las estaquillas de chopo, sobre las que se realizaron las inoculaciones, en una de las parcelas utilizadas en los ensayos.

Cuadro 1. Longitud media del chancro producido por *C. Chrysosperma* (cm  $\pm$  error estándar) sobre las estaquillas de distintos clones de chopo a los 7 días de realizarse las inoculaciones en los ensayos en laboratorio (LCL) y a los 185 días de realizarse las inoculaciones en los ensayos de campo (LCC); y mortalidad ocasionada en las estaquillas inoculadas (N° Marras) de cada clon en los ensayos de campo. Los valores acompañados por letras similares no mostraron diferencias significativas (LSD al 95%)

| CLON          | Especie o Híbrido                         | LCL (cm $\pm$ e.e.) | LCC (cm $\pm$ e.e.) | N° Marras |
|---------------|---|---------------------|---------------------|-----------|
| 114/69        | <i>Populus deltoides</i> x <i>P. alba</i> | 3,7 $\pm$ 0,47 abc  | 4,83 $\pm$ 1,17 abc | 3         |
| Agathe F      | <i>Populus</i> x <i>eueroamericana</i>    | 2,72 $\pm$ 1,24 ab  | 4,22 $\pm$ 1,12 abc | 4         |
| Campeador     | <i>Populus</i> x <i>eueroamericana</i>    | 4,68 $\pm$ 0,65 bc  | 2,06 $\pm$ 1,11 a   | 2         |
| Canada blanco | <i>Populus</i> x <i>eueroamericana</i>    | 7,79 $\pm$ 0,58 e   | 5,36 $\pm$ 1,41 abc | 5         |
| Flevo         | <i>Populus</i> x <i>eueroamericana</i>    | 3,9 $\pm$ 0,98 abc  | 6,31 $\pm$ 1,55 bc  | 3         |
| I-214         | <i>Populus</i> x <i>eueroamericana</i>    | 4,42 $\pm$ 0,99 abc | 3,48 $\pm$ 1,46 ab  | 3         |
| I-488         | <i>Populus</i> x <i>eueroamericana</i>    | 4,38 $\pm$ 0,71 abc | 4,09 $\pm$ 1,46 abc | 2         |
| I-MC          | <i>Populus</i> x <i>eueroamericana</i>    | 7,3 $\pm$ 0,69 de   | 7,52 $\pm$ 1,14 c   | 3         |
| Luisa Avanzo  | <i>Populus</i> x <i>eueroamericana</i>    | 5,42 $\pm$ 0,29 cd  | 6,1 $\pm$ 1,34 bc   | 4         |
| Lux           | <i>Populus deltoides</i>                  | 4,00 $\pm$ 0,44 abc | 2,24 $\pm$ 1,04 a   | 3         |
| Triplo        | <i>Populus</i> x <i>eueroamericana</i>    | 2,32 $\pm$ 0,74 a   | 2,2 $\pm$ 1,17 a    | 1         |

Cuadro 2. Crecimiento de *Cytospora chrysosperma* (mm  $\pm$  error estándar) sobre medio PDA suplementado con distintas concentraciones (0.1, 1, 10, y 100 ppm) de las formulaciones fungicidas ensayadas (Los asteriscos señalan efecto fungicida).

| MATERIA ACTIVA        | Tratamiento    |                |                |                |
|-----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                       | 0.1 ppm        | 1 ppm          | 10 ppm         | 100 ppm        |
| Benomilo 50% WP       | 41.1 $\pm$ 0.3 | 0 $\pm$ 0      | 0 $\pm$ 0*     | 0 $\pm$ 0*     |
| Bromuconazol 10% SC   | 5.08 $\pm$ 0.3 | 0 $\pm$ 0      | 0 $\pm$ 0*     | 0 $\pm$ 0*     |
| Carbendazima 50% WP   | 0.67 $\pm$ 0.1 | 0 $\pm$ 0      | 0 $\pm$ 0      | 0 $\pm$ 0*     |
| Clortalonil 75% WP    | 42 $\pm$ 0     | 42 $\pm$ 0     | 0 $\pm$ 0      | 0 $\pm$ 0      |
| Fosetil - Al 80% WP   | 40.8 $\pm$ 0.2 | 41.1 $\pm$ 0.3 | 38.9 $\pm$ 0.3 | 40.9 $\pm$ 0.3 |
| Iprodione 50 WP       | 40.6 $\pm$ 0.2 | 23.8 $\pm$ 0.7 | 7.3 $\pm$ 0.4  | 1 $\pm$ 0      |
| Metil tiofanato 70 WP | 38.5 $\pm$ 1.1 | 36.3 $\pm$ 1.2 | 15.8 $\pm$ 2.5 | 0 $\pm$ 0      |
| Procimidona 50% WP    | 42 $\pm$ 0     | 42 $\pm$ 0     | 0 $\pm$ 0      | 0 $\pm$ 0*     |

## RESULTADOS

El micelio de *Cytospora chrysosperma* creció rápidamente, observándose sobre los medios de cultivo a las 24 horas de la siembra de los conidios, y llenando prácticamente toda la placa a los 6 días de su subcultivo (Foto 2). El medio que más favoreció el crecimiento de todos los aislamientos utilizados fue el PDA (Figura 1), por lo que éste se utilizó en los ensayos posteriores.

*C. chrysosperma* provocó la formación de necrosis corticales y chancro en todas las estaquillas inoculadas en el laboratorio, apareciendo sobre las zonas colonizadas los picnidios y cirros típicos de este hongo. A los 7 días de realizada la inoculación se apreciaron diferencias significativas en la longitud del chancro entre los clones del ensayo (Cuadro 1). Los clones más sensibles a la colonización por el hongo fueron Canada Blanco e I-MC, con una longitud de la lesión en la estaquilla superior a 7 cm. El menos afectado fue Triplo con chancros ligeramente superiores a los 2 cm. No se apreciaron síntomas en las estaquillas mantenidas como control.

La sintomatología desarrollada por las estaquillas en el laboratorio también se reprodujo en los ensayos de campo (Foto 3). El chancro desarrollado en estas condiciones creció de forma lineal a partir de Abril, primer mes desde la inoculación (Figura 2). Las estaquillas de los clones I-214, I-MC y Luisa Avanzo fueron las primeras en presentar una sintomatología evidente de chancro, 39 días después de realizadas las inoculaciones.

En todos los clones, excepto Triplo, aparecieron los cuerpos de fructificación y cirros típicos de *C. chrysosperma* durante la realización del ensayo (Foto 4). En la Figura 3 puede observarse la dinámica de aparición de los cuerpos de fructificación en las estaquillas a lo largo del ensayo.

A los 185 días de realizada la inoculación (mes de agosto) pudo apreciarse diferencias significativas en la longitud de la lesión originada por *C. chrysosperma* entre las estaquillas de algunos clones (Cuadro 1). Los clones que menos síntomas desarrollaron fueron Campeador, Triplo y Lux con un crecimiento del chancro inferior a los 3 cm. Los genotipos I-214, I-488, Agathe F,

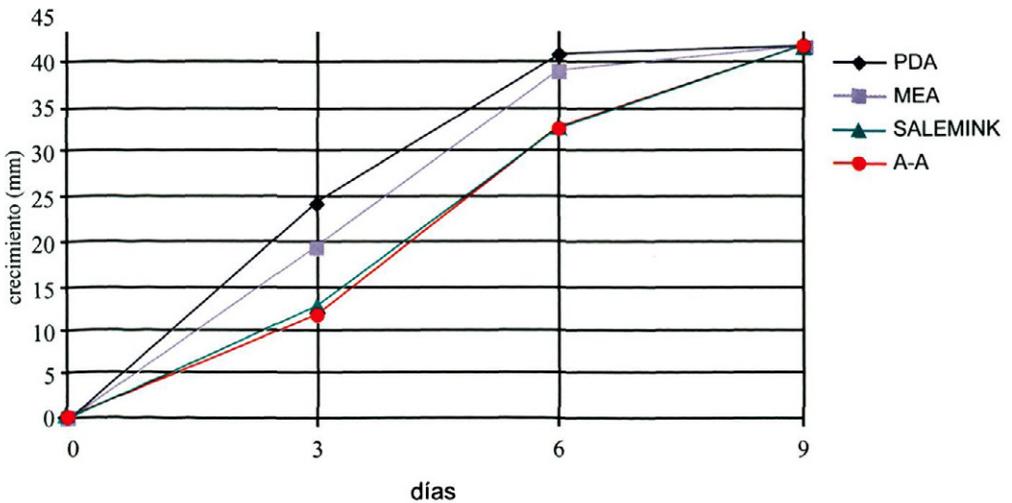


Foto 2. Micelio de *Cytospora chrysosperma* en medio PDA



Foto 3. Estaquilla muerta con el típico síntoma de necrosis en la corteza tras la infección por *Cytospora chrysosperma*. A su derecha una estaquilla control totalmente sana.

Fig. 1. Crecimiento (mm/día) de *Cytospora chrysosperma* durante los 9 días siguientes a su subcultivo en los medios Agar Dextrosa y Patata (PDA), Agar Extracto de Malta (MEA), Salemink, y Agar agua (AA)



114/69 y Canada Blanco mostraron un avance del hongo intermedio, de 3 a 6 cm, mientras que en Luisa Avanzo, Flevo e I-MC el crecimiento fue superior a 6 cm en todos los casos.

*C. chrysosperma* causó la muerte de 33 estaquillas inoculadas (Cuadro 1). El clon más afectado fue Canada Blanco, con 5 estaquillas perdidas, y el menos Triplo con una sola. *C. chrysosperma* también causó la baja de 10 estaquillas control.

La inoculación de las esporas de *C. chrysosperma* en árboles adultos de los clones I-214, I-488, Triplo y Flevo no provocó síntoma alguno a los 24 meses de ser llevada a cabo.

La formulación antifúngica con mejor efecto fungiestático sobre *C. chrysosperma* "in vitro" fue carbendazima 50% WP, aunque su efecto fungicida solo se observó a la máxima concentración (100 ppm, Cuadro 2). También fueron muy efectivos el benomilo 50 % WP y el bromuconazol 10% SC, Foto 5). Ambos fueron fungiestáticos a partir de una concentración de 1 ppm y fungicidas a partir de una concentración 10 veces superior.



Foto 4. Cirros aparecidos en una estaquilla tras su conolización por *Cytospora chrysosperma*.

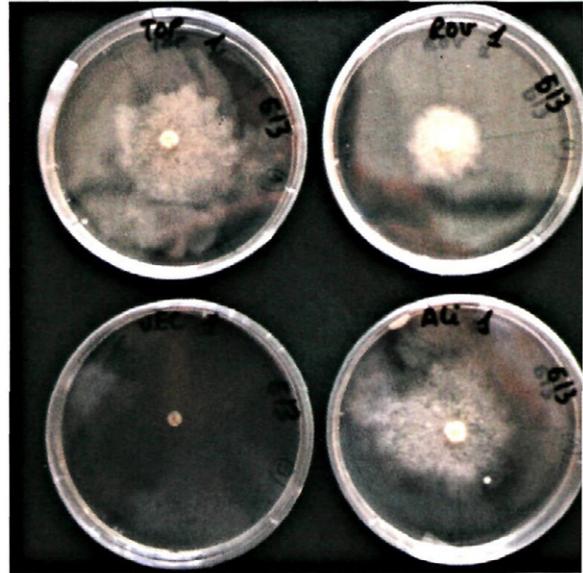


Foto 5. Crecimiento de *Cytospora Chrysosperma* en medio PDA suplementado con 1 ppm de las formulaciones Bromuconazol 10% SC, Iprodione 50% WP, Metiltiofanato 70% WP y Fosetil-AL 80% WP.

Fig. 2. Crecimiento medio del chancro, ocasionado por *Cytospora chrysosperma*, en los 11 clones de chopo a lo largo del ensayo

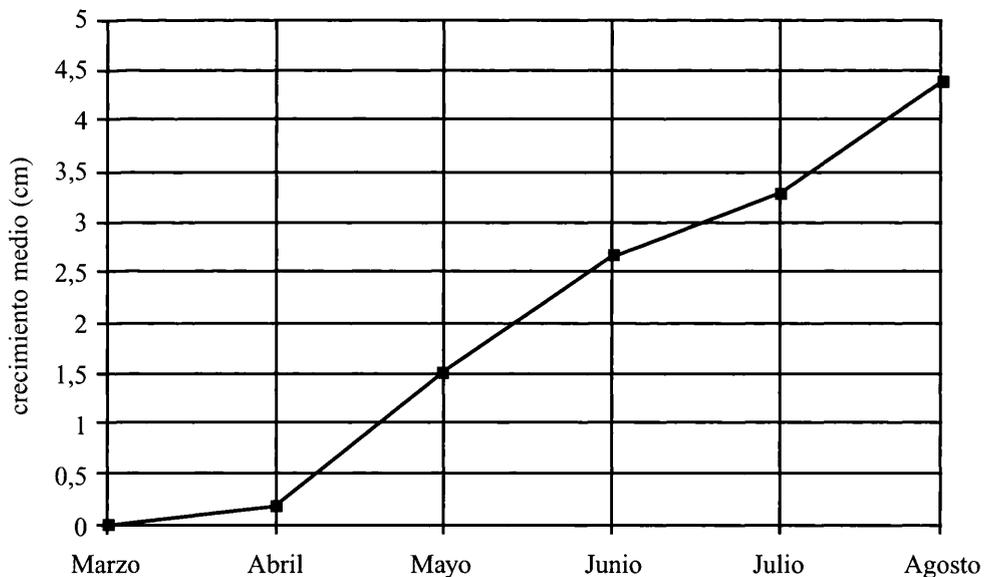
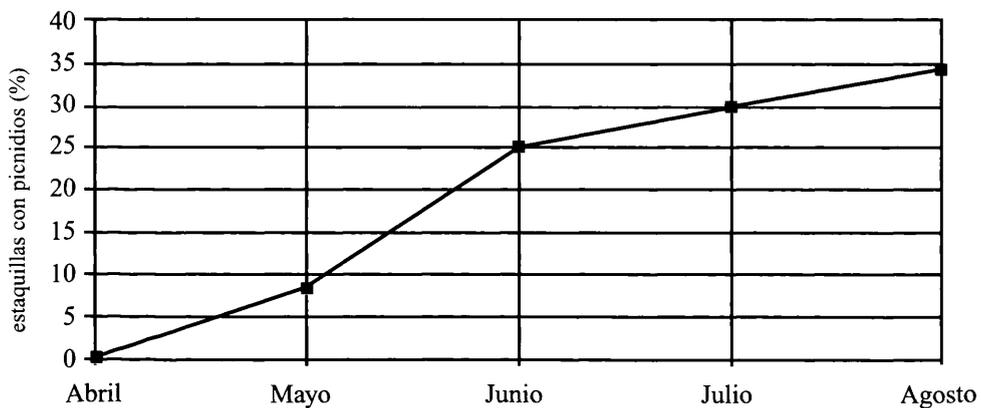


Fig. 3. Número de estaquillas en las que aparecieron picnidios (en porcentaje con respecto al total) en los meses posteriores a la inoculación.



## DISCUSIÓN

*Cytospora chrysosperma* es un hongo fácil de aislar a partir de los cirros, y que crece rápidamente al ser cultivado sobre medios de cultivo sintéticos. Este micete es capaz de colonizar los tejidos vivos de la corteza de las estaquillas, pudiendo llegar a causar daños de consideración en plantaciones realizadas a partir de este material previamente infectado. Similares resultados también han sido observados por otros autores (Worrall, 1983; Sinclair et al., 1987).

La clasificación jerárquica de algunos clones, como Triplo, se mantuvo en las tres variables analizadas (longitud media del chancro en las estaquillas en el laboratorio y en campo, y número de marras en las estaquillas inoculadas). Sin embargo, en otros como Agathe F, la longitud del chancro fue baja en los ensayos de laboratorio, media en los ensayos de campo, mientras que tuvo un número de marras muy alto. Esto determina una relación moderada entre la longitud del chancro ocasionada por *C. chrysosperma* en los ensayos de laboratorio y en las parcelas (Coeficiente de Correlación=0,57), y entre cada uno de estos dos parámetros con el número de estaquillas muertas de cada clon en la parcela (Coeficiente de Correlación=0,54 y 0,63, respectivamente). Esta moderada correlación encontrada entre los ensayos en campo y los de laboratorio probablemente sea debida al diferente peso que tengan, dentro de cada clon, los mecanismos de defensa preexistentes (estructuras de las paredes celulares, deficiencias en el contenido en nutrientes, etc., que siguen reteniendo el avance del hongo en las estaquillas no plantadas) o los inducidos (formación de fitoalexinas, degradación de enzimas del hongo, etc., que únicamente funcionan en la planta viva). Aunque sin embargo, debido al corto periodo de tiempo en el que se obtuvieron resultados en los ensayos en laboratorio (7 días), las estaquillas podrían haber mantenido activos parte de sus mecanismos de defensa inducidos.

La aparición de *C. chrysosperma* en once estaquillas control pone de manifiesto la existencia de una moderada probabilidad de infección natural en las plantaciones a partir de estaquillas en los viveros. Este hecho justifica la aplicación de fungicidas efectivos como carbendazima 50% WP, benomilo 50% WP o bromuconazol 10% SC, tras la obtención de las estaquillas para su propagación en los viveros, con el fin de prevenir la infección por el hongo. Si bien, sería necesario determinar en posteriores ensayos sobre material vegetal, la concentración óptima de aplicación.

Los resultados del ensayo permitirían situar como clones candidatos a ser utilizados para la producción de planta en viveros sobre terrenos inadecuados, con fuertes probabilidades de provocar estrés en la planta, a los genotipos más resistentes a la colonización por *C. chrysosperma*, como Triplo. Por el contrario, en los viveros donde se cultiven los clones que se han mostrado muy susceptibles a la infección por el hongo, como el I-MC, se han de extremar al máximo los cuidados culturales para evitar estados de debilidad que posibiliten una infección y posterior invasión de este hongo en los tejidos.

Sin embargo, los resultados obtenidos en los ensayos con las estaquillas en los genotipos I-214, I-488, Flevo y Triplo, difieren de los obtenidos con ejemplares adultos, donde las inoculaciones con las esporas del hongo no lograron reproducir sintomatología alguna. Parece ser por lo tanto, que el éxito de una infección por *Cytospora chrysosperma* depende del estado de desarrollo de la planta, no siendo posible extrapolar los resultados obtenidos con el material juvenil a los ejemplares adultos.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Jesús Rueda, jefe del Departamento del Chopo de la Junta de Castilla y León, la cesión de las estaquillas de los clones utilizados en el presente trabajo.

## ABSTRACT

ALONSO, D.; PAJARES, J. Y DIEZ, J., 2000: Evaluación del poder patogénico de *Cytospora chrysosperma* en clones de chopo. *Bol. San. Veg. Plagas*

*Cytospora chrysosperma* inoculation over 11 poplar clones caused varying bark necrosis and canker. Triplo was one of the genotypes more resistant to fungal colonisation while with I-MC the resulting necrosis was higher. The high percentage of cuttings naturally infected justified the use of fungicides in the poplar material for nursery plantation.

**Key words:** *Cytospora chrysosperma*, *Valsa sordida*, poplar, *Populus* sp., *Cytospora* dieback.

## REFERENCIAS

- IBRAGIMOV, I. A., 1964: Tsitosporoz topolei i voprosy ikh ot zabolevaniya. Abstract in Rev. Appl. Mycol., 44, n° 2630, 1965
- LANIER, L.; JOLY, P.; BONDOUX, P.; BELLEMERE, A., 1978: Mycologie et pathologie forestières. I. Mycologie forestiere. Masson. Paris. 487p.
- MC INTYRE, G. A., JACOBI, W. R., RAMALEY, A. W., 1996: Factors affecting *Cytospora* canker occurrence on aspen. Journal of Arboriculture, 22 (5): 229-233.
- PALAZÓN, I. J., PALAZÓN, C. F., 1983: Ensayo de fungicidas "in vitro". Primer curso internacional sobre la protección fitosanitaria en plantaciones frutales, CRIDA, Zaragoza, España. 16p.
- PHILLIPS, D. H., BURDEKIN, D. A., 1992: Diseases of Forest and Ornamental trees. Mc Millan. London. 581p.
- SCALA, A.; TEGLI, S.; COMPARINI, C.; MITTEMPERGUER, I.; SCALA, F.; DEL SORBO, G., 1994: Influence of fungal inoculum on cerato-ulmin production; purification of cerato-ulmin and detection in elm sucker cuttings. Petria, 4: 57-67.
- SINCLAIR, W. A., LYON H. H., JOHNSON W., 1987: Diseases of trees and shrubs. Cornell University Press, Ithaca. 564p.
- WALLA, J. A., STACK, R. W., 1980: Dip treatment for control of blackstem on *Populus* cuttings. Plant Diseases, 64: 1092-5.
- WORRALL, J., 1983: *Cytospora* canker of poplar and willows. California Plant Pathology, 64:4-5

(Recepción: 03 agosto 2000)  
(Aceptación: 18 octubre 2000)