

Enfermedad de Postcosecha

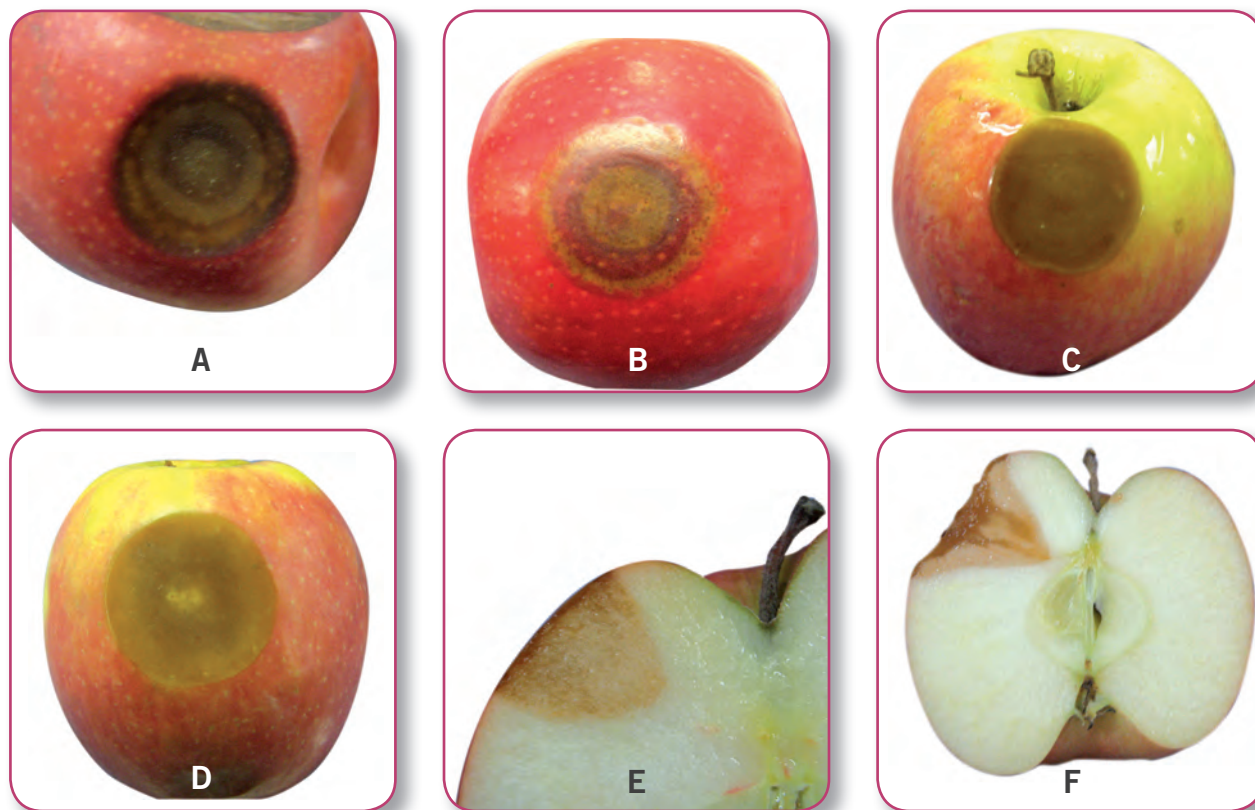
Identificación y Control de “Ojo de Buey”

En Manzanas Cripps Pink

Sylvana Soto A.
Ingeniero Agrónomo, M.Sc. Dr.
sylvana.soto@inia.cl
INIA- La Platina

Marlene Rosales V.
Bioquímico, Ph.D.
Pontificia Universidad Católica de Chile

Mauricio Lolas C.
Ingeniero Agrónomo, MS. Ph.D.
Universidad de Talca



► **Figura 1.** Lesiones causadas por “Ojo de Buey” (*Neofabraea alba*) en manzanas “Cripps Pink”. **A.** Pudrición pardo oscuro con halos concéntricos. **B.** Pudrición parda con halos concéntricos. **C.** Pudrición parda sin halos concéntricos. **D.** Pudrición amarilla sin halos concéntricos. **E.** Profundización en forma circular de la pudrición. **F.** Profundización en forma de cono de la pudrición.



Las principales enfermedades de postcosecha de manzanas en Chile son el Moho Azul y Moho Gris, causadas por *Penicillium Expansum* Link. y *Botrytis Cinerea* Pers.:Fr., respectivamente. Sin embargo, desde el año 2001, la producción nacional de manzanas, en especial de cultivares tardíos como “Cripps Pink” (Pink Lady®), se han visto afectadas por enfermedades asociadas a las lenticelas. Una de ellas es la conocida como “Ojo de Buey” (Bull’s Eye Rot), producida por *Neofabraea* spp.

La infección primaria de este patógeno ocurre en el huerto, previo a la cosecha, y se mantiene latente, apareciendo después de tres meses en almacenaje refrigerado a 0 °C (Spotts, 1990).

Las especies de *Neofabraea* pueden dañar la fruta y, en algunos casos, producen canchales en ramillas. El desarrollo de la pudrición es lento. Bajo condiciones húmedas aparecen fructificaciones (acérvulos) en una matriz cerosa desde donde se generan las conidias (Verkley, 1999).

Existen 3 especies del género *Neofabraea* que se asocian a la pudrición llamada “Ojo de Buey” en manzanas. Estas especies corresponden a: *N. malicorticis* H. S. Jacks, encontrada principalmente en las zonas húmedas del Noroeste del Pacífico, formando daños en madera conocidos como antracnosis; *N. perennans* Kienholz asociada a canchales perennes, presente en Norte América y Europa; y *N. alba* (E.J. Guthrie) Verkley que ha sido identificada como el agente causal del “Ojo de Buey” principalmente en Europa continental. Esta última especie no se ha asociado a la producción de canchales, pero se puede encontrar como saprófita en madera dañada de manzanos.

Identificación molecular del agente causal del “Ojo de Buey” en Chile ◀

El agente causal del “Ojo de Buey” de la manzana en Chile, se identificó morfológicamente como *N. alba* (Henríquez, 2005). Sin embargo, en prospecciones realizadas en la zona centro del país, se ha observado una expresión sintomatológica diferenciada, lo cual permitió postular la posible presencia de más de una especie de *Neofabraea* asociada a la pudrición del “Ojo de Buey” en manzanas, tal como se ha descrito en otras zonas productoras de este frutal en el mundo.

Para ello, entre abril y mayo de 2008 y 2009, se obtuvo 409 aislados de *Neofabraea* a partir de manzanas “Cripps Pink”, provenientes de 38 huertos ubicados en diferentes zonas agroclimáticas productoras de manzanas de Chile (33°20' - 38°06'S, 70°52' - 72°51'O, Cuadro 1). Para esto, se cosechó cinco cajas de aproximadamente 80 frutos cada una por huerto, las cuales se almacenaron durante cinco meses a $0 \pm 1^\circ\text{C}$, más siete días a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Esto con el fin de proporcionar las condiciones ambientales óptimas para el desarrollo del “Ojo de Buey” en postcosecha.

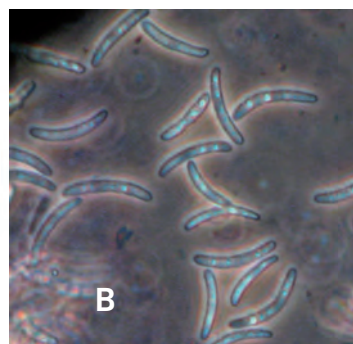
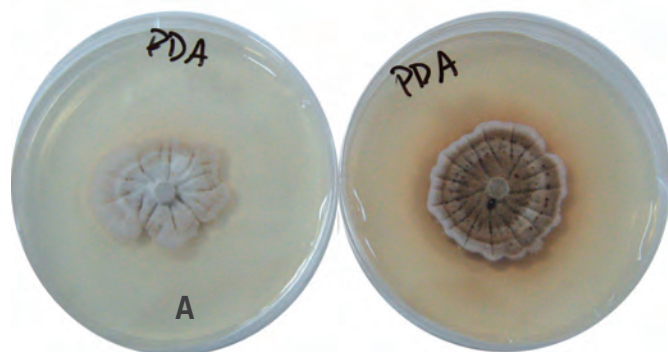
La fruta con “Ojo de Buey” se clasificó según el color de los tejidos externos afectados en amarillo, pardo, y pardo oscuro (Figura 1). Además, las lesiones observadas se caracterizaron por: la presencia de halos concéntricos, forma de profundizar en la pulpa, aspecto de la zona de avance y facilidad para separar del tejido sano.

Las colonias obtenidas en el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (APD), se caracterizaron en: forma, color, crecimiento aéreo y diámetro luego de 20 días a $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Además, se determinó la presencia o ausencia de esporulación en los cultivos en APD y, previo al aislamiento, se caracterizó morfológicamente los acérvulos y conidias desarrollados en frutos naturalmente infectados.

La prevalencia de “Ojo de Buey” varió entre 0 y 76,2% y entre 0 y 58,7% en 2008 y 2009, respectivamente. Sólo en el huerto ubicado en Buin no hubo presencia de “Ojo de Buey”, mientras que un huerto ubicado en Parral mostró la mayor prevalencia de esta enfermedad en ambas temporadas.

Las pudriciones asociadas a “Ojo de Buey” se diferenciaron por la presencia o ausencia de halos de crecimiento concéntricos, por un avance interno en forma circular o de cono, y por el color superficial de la pudrición obtenida, las que mayoritariamente fueron pardas (69,7%) seguida por pardas oscuras (24,9%) y amarillas (5,4%) (Figura 1). La pudrición se caracterizó además por presentar márgenes definidos y fáciles de separar en el tejido enfermo del sano.

Los aislamientos de *Neofabraea* presentaron colonias circulares, planas, con escaso crecimiento aéreo, inicialmente de color blanco y luego pardo rosadas, con presencia de un micelio septado, hialino y compacto



▶ **Figura 2.** Características morfológicas de *Neofabraea alba* proveniente de manzana “Cripps Pink”.

A. Colonia creciendo en Agar Papa Dextrosa por 20 días a $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

B. Macronidas unicelulares hialinas, fusiiformes con presencia de gúttulas.

Localidad	N° huertos	N° muestras	Prevalencia ¹ (%)	
			2008	2009
Casablanca	1	6	0,0	1,1
Buin	1	0	0,0	0,0
Quinta de Tilcoco	1	6	0,3	0,0
San Fernando	3	27	6,9	1,1
Chimbarongo	6	53	21,3	2,2
Teno	2	12	48,9	2,2
Rauco	1	8	4,4	0,0
Sagrada Familia	2	16	9,9	0,0
Curicó	1	14	1,2	0,0
Molina	6	77	15,7	2,3
San Clemente	1	15	60,8	-
Colbún	1	8	44,4	1,3
Villa Alegre	1	10	63,4	4,0
Linares	2	40	61,1	17,3
Longaví	2	30	60,1	23,3
Parral	3	41	48,9	24,4
San Carlos	1	10	1,5	4,4
Angol	2	26	42,1	1,3
Lumaco	1	10	9,2	1,3

► **Cuadro 1.** Localización de las zonas productoras de manzanas “Cripps Pink” muestreadas durante los años 2008 y 2009, y prevalencia de “Ojo de Buey” (*Neofabraea alba*) durante ambas temporadas.

¹ Prevalencia promedio por localidad de “Ojo de buey” después de cinco meses de almacenaje a $0 \pm 1^\circ\text{C}$ más siete días a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).
- Datos no obtenidos.

(Figura 2). El diámetro promedio de las colonias fue $49 \pm 9,2$ mm en APD después de 20 días a $20 \pm 2^\circ\text{C}$. No hubo evidencias de esporulación en APD. No obstante, en acérvulos desarrollados naturalmente en frutos infectados, se observó macroconidias (Figura 2) unicelulares, hialinas, fusiformes a alantoides, con extremos redondeadas, de $18,3 \pm 1,6$ μm de largo y ancho $2,5 \pm 0,5$ μm promedio. Los acérvulos son subepidérmicos de $1 \pm 0,5$ mm de diámetro de color crema, cerosos sin setas. Tanto las colonias de *N. alba in vitro* y las macroconidias encontradas *in vivo* fueron similares a las descritas por Verkley (1999).

Para la identificación molecular de las especies de *Neofabraea* existentes en Chile, se empleó partidores universales para hongos (de Jong *et al.*, 2001). A partir de los aislados de diferentes huertos con distintas características de la pudrición, se obtuvieron secuencias nucleotídicas, las que se compararon con la base de datos de secuencias del GenBank (NCBI). Los aislados chilenos de *Neofabraea* demostraron similitudes superiores al 98% con respecto de las secuencias correspondiente a *N. alba* de referencia del GenBank.

Los resultados obtenidos en este estudio demostraron la existencia de *N. alba* asociada a la pudrición del “Ojo de Buey” en manzana. No hubo evidencia molecular que sugiera la existencia de las especies *N. malicorticis* y *N. perennans*, comúnmente encontradas como agente causal de esta enfermedad en otros países productores de manzana. En función de estos antecedentes, se debe destacar la importancia cuarentenaria que adquieren estas especies para Chile, siendo necesario prevenir su

introducción al país junto con la eventual importación de manzanas y plantas.

Es de interés indicar que *N. alba* se detectó en 37 de 38 huertos de manzanas “Cripps Pink” ubicados en una amplia zona geográfica de Chile, con variadas condiciones agroclimáticas. No obstante, la prevalencia fue mayor en zonas caracterizadas por una precipitación promedio anual mayor, posiblemente debido a que las conidias son liberadas y dispersadas por las lluvias.

Estrategias de control de precosecha para el control de postcosecha ◀

Para el control de *Neofabraea* spp., se ha recomendado la eliminación de los restos de poda, frutos de raleo y fruta madura dejada después de la cosecha. De este modo se reduce la presión del inóculo. Las aplicaciones de fungicidas en postcosecha pueden ser eficaces, siempre y cuando el hongo se encuentre superficialmente en las lenticelas del fruto.

En abril de 2009, se realizó una aplicación 15 días previos a la cosecha en un huerto de “Cripps Pink” ubicado en la comuna de Longaví, evaluando 120, 160 y 200 ml/HI de hidróxido de cobre 35% de cobre metálico (KOCIDE® 2000) y 300 ml/HI fosfito de potasio (Phostrol) (Cuadro 2).

El 2010 se realizó dos aplicaciones en abril, 15 y 30 días previos a la cosecha, evaluando 100, 120 y 160 ml/HI de hidróxido de cobre y 300 ml/HI fosfito de potasio. En ambas temporadas, se dejó árboles sin aplicar a modo de



Tratamiento	Dosis		Prevalencia ¹ (%)	
	Producto formulado (g ó ml/Hl)	Ingrediente activo (g/Hl)	2009	2010
Testigo			37,0 b ²	22,6 b
Hidróxido de cobre	100	35	-	12,5 a
	120	42	14,5 a	5,2 a
	160	56	10,6 a	4,5 a
	200	70	9,2 a	-
Fosfito de potasio	300	109	10,3 a	10,4 a

1 Prevalencia de "Ojo de Buey" después de cinco meses de almacenaje refrigerado 0°C ± 1 más siete días a 20 °C ± 2.

2 Promedios seguidos por las mismas letras en una columna no se diferencian estadísticamente, Prueba Tukey (P < 0,05).

- Datos no obtenidos.

testigo. Las aplicaciones se efectuaron con una bomba de carretilla de 150 l (IMPAC S.A.), a través de un pitón. El gasto fue equivalente a 1500 l/ha.

Los tratamientos fueron cosechados el 5 y 2 mayo para 2009 y 2010, respectivamente. Se seleccionó frutos en madurez de cosecha (firmeza 18-20 lb) de la zona media del árbol, sin daños aparentes, con más del 70% de color de cubrimiento. Para la realización del ensayo se utilizó un diseño de bloques completamente al azar, con cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo compuesta por cinco árboles, de los cuales se recolectó 80 frutos de los tres árboles centrales por repetición.

La fruta luego de ser cosechada, se conservó en almacenaje refrigerado, en atmósfera convencional a 0 ± 1 °C durante cinco meses siendo mantenida luego por 7 días a 20 ± 2 °C. Al final de este periodo, se registró la prevalencia de "Ojo de Buey".

Los datos de prevalencias obtenidos en los distintos ensayos, se expresaron como porcentajes, los cuales se estudiaron para varianzas, luego de transformarlos a valores angulares (arccoseno/√%). Los promedios se separaron de acuerdo con la prueba Tukey (P < 0,05).

Los frutos de los árboles testigo, que sólo recibieron agua, presentaron un 37,7 y 22,3% de prevalencia de "Ojo de Buey", durante 2009 y 2010 respectivamente (Cuadro 2). En la primera temporada, los tratamientos de hidróxido de cobre a distintas dosis de aplicación, presentaron un rango de prevalencia entre 14,5 y 9,2%, mientras que durante la segunda temporada la prevalencia varió entre 12,4 y 4,5% de "Ojo de Buey". Todas las dosis de hidróxido de cobre y fosfito de potasio redujeron la prevalencia del "Ojo de Buey" manifiestamente (P < 0,01) en relación al testigo sin tratar. No hubo diferencias significativas entre fungicidas.

Del mismo modo, los tratamientos con fosfito de potasio presentaron una prevalencia de 10,3 y 4,5% durante el 2009 y 2010 respectivamente, y no se diferenciaron significativamente en eficacia al hidróxido de cobre en distintas dosis.

► **Cuadro 2.** Prevalencia de "Ojo de Buey" (*Neofabraea alba*) en manzanas variedad "Cripps Pink" sometidas a distintos tratamientos de precosecha con sales inorgánicas.

En función de los resultados de este trabajo, la utilización de hidróxido de cobre y fosfito de potasio previo a la cosecha, es una alternativa para el control de "Ojo de Buey". En los ensayos efectuados en el huerto de la variedad "Cripps Pink", la fruta sometida a aplicaciones de precosecha protegió a la fruta de la acción de este hongo, disminuyendo significativamente la manifestación de la enfermedad "Ojo de Buey", pero sólo se logró controlar hasta un 80%.

Atendiendo a la alta presión de "Ojo de Buey" de hasta un 37% en los testigos sin tratar, se considera que la eficacia de hidróxido de cobre fue muy buena. Las aplicaciones de precosecha tendrían como ventaja asperjar el tronco y ramas del árbol conjuntamente con la fruta, lo cual permitiría reducir el potencial de inóculo del huerto. Por lo tanto, el control preventivo antes de la cosecha con hidróxido de cobre y fosfito de potasio, es una medida que disminuye significativamente la prevalencia de la enfermedad.

Literatura Citada

De Jong, S.; Lévesque, C.; Verkley, G.; Abeln, E.; Rahe, J. and Braun G. 2001. Phylogenetic relationships among *Neofabraea* species causing tree cankers and bull's-eye rot of apple based on DNA sequencing of ITS nuclear rDNA, mitochondrial rDNA, and the β -tubulin gene. *Mycology Research* 105: 658-669.

Gariépy, T. ; Lévesque, C. ; de Jong, S. and Rahe, J. 2003. Species specific identification of the *Neofabraea* pathogen complex associated with pome fruits using PCR and multiplex DNA amplification. *Mycology Research* 107: 528-536.

Henríquez, J. 2005. First report of apple rot caused by *Neofabraea alba* in Chile. *Plant Disease* 89: 1360.

Spotts, R. 1990. Bull's eye rot p. 56. In: Jones A. L. and Aldwinckle H.S. (eds.) *Compendium of Apple and Pear Diseases*; American Phytopathological Society. St. Paul, MN. 100 p.

Verkley, G. 1999. A monograph of the genus *Pezicula* and its anamorphs. *Studies in Mycology* 44: 180 p.