

Enfermedades de madera en cerezo: Patogenicidad, control y detección precoz



Daina Grinbergs

Ing. Agrónoma, Dra. Laboratorio de Fitopatología de Frutales INIA Quilamapu



Javier Chilian

Lic. en Genética, Dr. Laboratorio de Fitopatología de Frutales INIA Quilamapu



Andrés France

Ing. Agrónomo, Ph.D. Fitopatólogo Asesor.

El cerezo es un frutal que se ha expandido y ha crecido en producción durante los últimos años en Chile, alcanzando cerca de las 49.000 hectáreas en 2021 y transformando a nuestro país en el mayor exportador de cerezas a nivel mundial.

Uno de los principales problemas que actualmente presentan los huertos, es la muerte prematura de las plantas o parte de ellas, lo que frecuentemente es antecedido por una reducción del rendimiento. Según estudios iniciados en 2020 por el Laboratorio de Fitopatología de Frutales de INIA Quilamapu, los hongos de madera son uno de los principales factores que afectan la pérdida de plantas en los huertos de cerezo del centro y sur de Chile.

Estos hongos pueden permanecer latentes por largos períodos, después de los cuales se desarrollan las enfermedades. Estas últimas se caracterizan por producir síntomas como canchales, necrosis interna de la madera, muerte regresiva de ramas y pérdida de plantas, pudiendo terminar con huertos completos.

Además, en algunas especies es posible observar fácilmente sus cuerpos

Los frutos dobles y sutura profunda es una problemática que afecta a productores de cerezas de Chile y de otras partes del mundo.

reproductivos (Figura 1), los que emergen a la superficie y liberan esporas en períodos húmedos y lluviosos, como en otoño-invierno. Estas esporas se diseminan a través del viento y caen sobre heridas en la madera, como cortes de poda, por ejemplo, germinan, infectan y van creciendo por dentro del árbol, hasta producir la muerte de la rama y más adelante del árbol completo.

Para determinar cuáles son los agentes que causan estas patologías y cuáles son los que producen los efectos más severos en cerezo, y así posteriormente poder diseñar medidas de manejo eficientes, se realizaron colectas desde el 2020. Se colectó madera con síntomas desde huertos comerciales ubicados principalmente en la región de Ñuble (FIA¹ EST-2019-0739), y además en O'Higgins, Maule y La Araucanía. Se

aislaron los hongos que crecían desde madera enferma, en medio de cultivo, posteriormente, fueron identificados a través de su morfología macro y microscópica, y a través de técnicas moleculares. (Figura 2)

Después de analizar 320 muestras, de distintas localidades, variedades de cerezo y edades de plantas, se realizaron 2.230 identificaciones preliminares y se almacenaron 234 aislamientos. En base a este estudio, se determinó que las especies más prevalentes corresponden a los hongos *Calosphaeria*, causante de la calosphaeriosis, *Cytospora*, que causa el cancro común y *Chondrostereum*, agente causal del plateado. Además, a inicios de 2021 se encontró por primera vez en Chile al hongo *Eutypa lata* afectando cerezos, el que produce la enfermedad conocida



Figura 1. Síntomas y cuerpos reproductivos hongos de madera en cerezo. **A)** peritecios de *Calosphaeria* y **B)** picnidios con cirros de esporas de *Cytospora*.

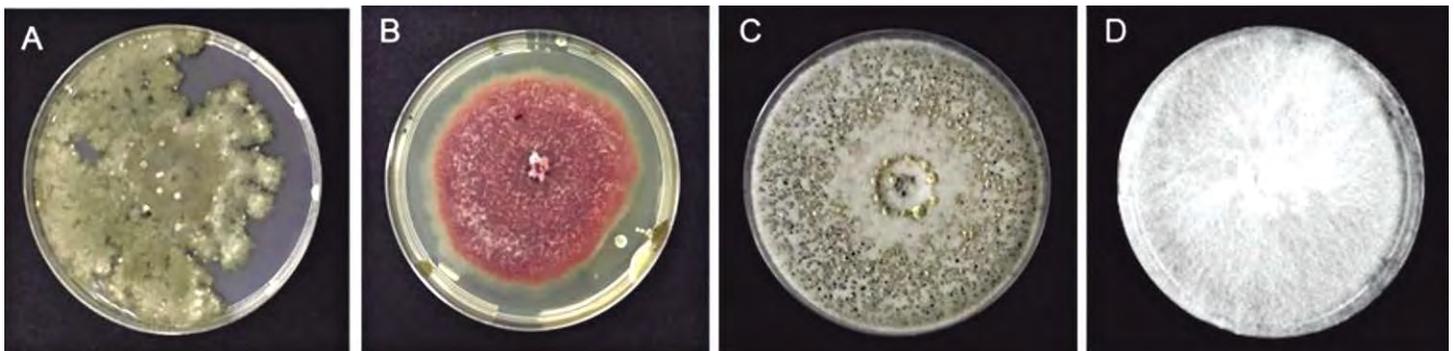


Figura 2. Aislamientos de hongos patógenos de madera. **A)** *Cytospora leucostoma* (HMCE26), **B)** *Calosphaeria pulchella* (HMCE65a), **C)** *Eutypa lata* (HMCE30a) y **D)** *Chondrostereum purpureum* (HMCE8).

como eutipiosis (Figura 3).

Fue posible asociar a *Chondrostereum* con muestras presentando un manchado de madera de color café en el centro de ramas y troncos principales, y sin avanzar hacia la corteza (Figura 4A). *Calosphaeria* en cambio, produce una necrosis interna de color muy oscuro, que progresa y sale a la superficie (Figura 4B), produciendo canchales con desprendimiento de la corteza y usualmente con presencia de cuerpos reproductivos. *Cytospora*, por otra parte, produce una necrosis interna de color oliváceo oscuro, que avanza hacia la corteza

de la madera, produciendo canchales (Figura 4C). Finalmente, *Eutypa* fue asociado a necrosis internas en forma de cuña (Figura 4D). Es importante mencionar que esta relación se pudo encontrar sólo en un número reducido de muestras (32%), porque en la mayoría de ellas se presentaban más de un tipo de síntoma y además fue posible aislar a más de un patógeno desde la muestra, incluso a las cuatro especies. Para determinar la patogenicidad (capacidad de producir enfermedad) y virulencia (intensidad de la enfermedad) de los hongos aislados, se inocularon ramillas enraizadas de cerezo variedad Kordia. Estas

se inocularon con trozos de micelio de distintos aislamientos representativos de las cuatro especies y lugares de colectas, y se cubrieron con film plástico para evitar su deshidratación. Las plantas fueron incubadas por 60 días a 23°C, después de los cuales las ramas fueron cortadas longitudinalmente y las manchas producidas por los hongos fueron medidas. Las longitudes fueron comparadas de manera de establecer cuales aislamientos eran los más virulentos. Como resultado se obtuvo que todos los aislamientos fueron patogénicos, siendo capaces de necrosar entre el 30 y el 90% del largo de la ramilla. Los aislamientos

de *Calosphaeria* y *Eutypa* fueron los que necrosaron en mayor medida.

Dos aislamientos virulentos de cada especie fueron inoculados en plantas sanas de vivero de 3 años, variedad Lapins, esta vez con una suspensión de esporas (1×10^5) sobre el corte fresco de una ramilla, de manera de simular de mejor forma lo que ocurre en la naturaleza. Los cortes inoculados fueron cubiertos con bolsas de papel (Figura 5A), para evitar que sean infectados por otros patógenos, y las plantas incubadas fueron colocadas en sombreadero. Después de 144 días de incubación (octubre 2021 a marzo de 2022), se midió el avance de la necrosis interna producida por los hongos. Además, desde las ramas se colectó aserrín, desde el cual se realizó directamente la identificación molecular de los hongos de interés: *Calosphaeria*, *Cytospora*, *Chondrostereum* y *Eutypa*. De esta manera se comprobó que los hongos que avanzaban y manchaban la madera se trataban de los mismos que fueron inoculados.

El resultado de esta evaluación arrojó que todos los aislamientos inoculados fueron patogénicos y causaron síntomas necróticos en las ramas inoculadas (Figura 5B y 5C). La virulencia fue variable dependiendo de la especie y aislamiento, avanzando entre 13,8 y 9,8 cm, siendo *Eutypa* (13,8 cm) y *Calosphaeria* (11,7 cm) los más virulentos (Figura 5D).

Es importante recordar que estos hongos fueron aislados desde huertos comerciales ubicados en la zona productiva de cerezo, e inoculados con esporas, de la misma

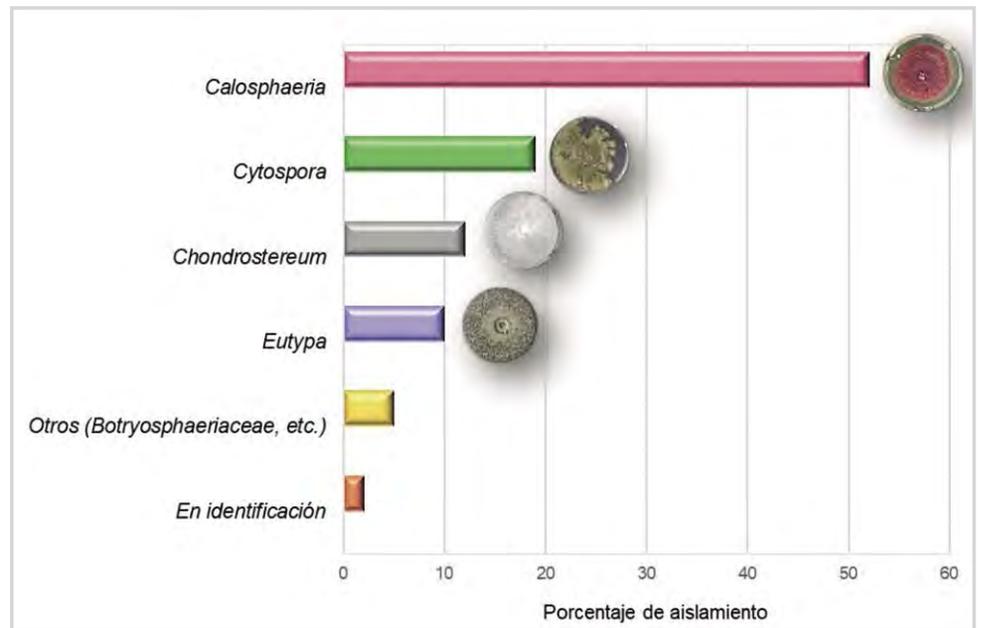


Figura 3. Frecuencia de identificación de patógenos fúngicos aislados de muestras presentando síntomas de enfermedades de madera, colectadas en las regiones de Ñuble, O'Higgins, Maule y La Araucanía.

manera que ocurre, bajo condiciones reales, en meses con precipitaciones. Luego, si las podas se realizan en períodos lluviosos, que coinciden con las alzas en el vuelo de esporas de estos hongos, y además las heridas no están protegidas, existe una alta probabilidad de que sean infectadas con hongos de madera.

Prevención y control

Con el objetivo de implementar métodos de prevención y control para infecciones por hongos de madera, el Laboratorio de

Fitopatología de Frutales de INIA Quilmapu está trabajando en diferentes estrategias. Se están realizando ensayos de eficacia de productos químicos y biológicos disponibles en el mercado, tanto pinturas como productos asperjables. Además, se están desarrollando productos de origen biológico que controlan estos hongos dentro de la madera y además estimulan la respuesta inmune de la planta (Fondef² IDeA ID19110315). Por otra parte, se están diseñando métodos para la detección precoz de hongos de madera, tanto para el diagnóstico rápido de laboratorio como test de campo.



Figura 4. Asociación de síntomas en madera y especies de hongos aislados. A) Plateado, B) calosphaeriosis, C) cancro común y D) eutipiosis.



Figura 5. A) Inoculación de plantas. B) Necrosis causada por *Eutypa lata* y C) *Calosphaeria pulchella*. D) Virulencia de *Eutypa lata*, *Calosphaeria pulchella*, *Chondrostereum purpureum* y *Cytospora leucostoma* en cerezos var. Lapins, después de 144 días en sombreadero (LSD, $P < 0,05$).

Eficacia de las pinturas de poda

De manera de determinar la eficacia de pinturas protectoras de poda disponibles en el mercado, se realizaron ensayos para evaluar su capacidad de impedir la colonización y avance de los hongos en la madera.

Se seleccionaron tres huertos de cerezo en la región de Ñuble, de las variedades Regina y Sweetheart, donde previamente se había detectado la presencia de los patógenos. Se utilizaron plantas sin presencia de canchros ni necrosis de madera, donde se realizaron cortes en ramillas seguido por la aplicación de protectores de poda comerciales en base a: tebuconazol, piraclostrobina, biológico, clorotalonil, bioestimulante y pinoleno, además de un control (agua) (Figura 6A). Después de nueve meses, las ramas aplicadas fueron cortadas (25 cm), partidas longitudinalmente y la necrosis interna fue

medida y comparada (Figura 6B). Además, se realizó el aislamiento y análisis molecular de las ramas, para comprobar la presencia o ausencia de los hongos.

En general, ninguna pasta fue capaz de impedir la colonización, ni detener totalmente la necrosis por patógenos de madera. Sin embargo, hubo tratamientos que redujeron el avance de los síntomas necróticos hasta en un 70% en comparación al control, como los productos en base a pinoleno, tebuconazol, piraclostrobina y el bioestimulante. El ensayo se está realizando nuevamente esta temporada. Desafortunadamente, aún no existe una herramienta que sea completamente efectiva en el control de las enfermedades de madera. Ante esta situación, las estrategias de manejo deben estar dirigidas al control cultural, como la remoción de canchros para evitar que la enfermedad se siga propagando en el árbol y retirar el material de poda del huerto, ya que son fuente de inóculo para



Bioestimulante
de plantas

MEJOR
RENDIMIENTO



MAYOR CALIDAD



MEJOR
CONDICIÓN



syngenta®



Figura 6. A) Aplicación de productos en ensayo de eficacia de pinturas de poda y **B)** necrosis en ramillas de cerezo variedad Sweetheart después de 9 meses de incubación en terreno. Control y tratamientos.

iniciar nuevas infecciones. Además, es primordial realizar un diagnóstico temprano de las enfermedades, antes que muestren síntomas y signos. Esto es importante tanto para asegurarse de plantar nuevos huertos utilizando plantas sanas, como para monitorear plantas sospechosas en huertos establecidos, y eliminarlas antes que produzcan un daño económico en el huerto y diseminen las enfermedades.

Diagnóstico y detección

En el Laboratorio de Fitopatología de Frutales de INIA Quilimapu, además de estar desarrollando un kit de campo para la detección precoz de plateado (Fondef² IDeA ID21110377), se está trabajando en implementar técnicas para el diagnóstico rápido de otros hongos de madera, como los que afectan al cerezo. Una de las técnicas que se está desarrollando y perfeccionado es el PCR, técnica molecular altamente específica y eficiente, a través de la cual se busca identificar un fragmento específico del material genético del patógeno objetivo. Para trabajar en madera, es necesario extraer muestras de aserrín desde las plantas en evaluación, lo que se realiza con la ayuda de un taladro (Figura 7A). A partir de estas muestras se obtiene el ADN sobre el que se implementa la técnica de PCR.

En experiencias anteriores, fue posible identificar la presencia de los hongos

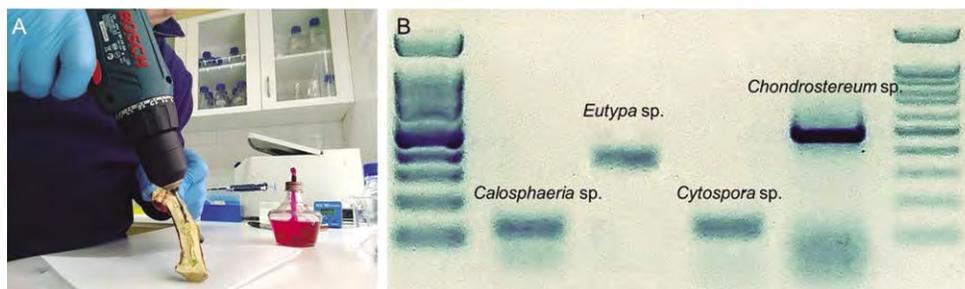


Figura 7. A) Colecta de aserrín para extracción de ADN fungoso y **B)** amplificación de ADN con partidores específicos para los cuatro hongos objetivo: *Calosphaeria*, *Eutypa*, *Cytospora* y *Chondrostereum*.

Chondrostereum y *Cytospora*, desde muestras de madera que presentaban síntomas. Continuando con esta línea de trabajo y en el entendido que el diagnóstico de distintas especies reduce el tiempo de obtención de resultados y además su costo, se avanzó en el desarrollo de los protocolos para identificar otros de los patógenos que afectan el cultivo, como son *Calosphaeria* y *Eutypa*. Con esta técnica fue posible identificar un segmento específico de ADN de *Calosphaeria* y *Eutypa*, además de *Cytospora* y *Chondrostereum* (Figura 7B). Sumado a la eficacia de detección, el método molecular demostró ser más rápido que el método tradicional, ya que con la técnica de PCR es posible obtener el resultado hasta en un plazo de 12 horas, a diferencia de los días e incluso semanas que pueden necesitarse para la identificación con las técnicas microbiológicas y posterior análisis molecular del aislamiento, que corresponde al método convencional.

Finalmente, el desarrollo de estas investigaciones e implementación de metodologías es ir en apoyo de los productores y viveristas, de manera de que en el futuro puedan disponer de información de utilidad, que los ayude a tomar decisiones de manejo oportunas. RF

Agradecimientos

- Al personal del Laboratorio de Fitopatología de Frutales de INIA Quilimapu.
- A los proyectos y fuentes de financiamiento que han permitido estas investigaciones: Fondef² IDeA ID16110272 y Fondef² IDeA ID19110315, ANID³; EST-2019-0739, FIA¹.
- A Copefrut S.A., BioInsumos Nativa y a los viveros y fruticultores asociados al Laboratorio.

¹ Fundación para la Innovación Agraria

² Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico.

³ Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo.