

ETIOLOGÍA DEL TIZÓN DESCENDENTE DE LAS RAMAS DE AZUCENA HÍBRIDA (*Lilium* spp.) EN VILLA GUERRERO, ESTADO DE MÉXICO

S. G. Leyva-Mir¹; Y. López-Hernández¹;
B. Tlapal-Bolaños¹; R. Flores-Martínez²

¹Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo,
Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO.
Correo-e: lsantos@correo.chapingo.mx (¹Autor responsable).

²Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo,
Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO.

RESUMEN

El tizón descendente de las ramas en azucena híbrida (*Lilium* spp.), es una enfermedad que recientemente apareció en la región de Villa Guerrero, Estado de México. El síntoma principal consiste en una necrosis descendente de los tallos, resultando en una muerte prematura de plantas, teniendo como consecuencia la ausencia de flores. El objetivo de este estudio fue identificar el agente causal de esta enfermedad. Mediante los postulados de Koch se comprobó que la enfermedad fue causada por el hongo *Botrytis cinerea*.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: necrosis, *Lilium* spp., *Botrytis cinerea*.

ETIOLOGY OF BLIGHT ON BRANCHES OF HYBRID LILY (*Lilium* spp.) IN VILLA GUERRERO, MEXICO STATE

ABSTRACT

The blight that causes dieback of Hybrid Lily (*Lilium* spp.) branches is a disease that appeared recently in the region of Villa Guerrero, Mexico State. The main symptom is necrosis that descends from the tip of the stems preventing production of flowers and premature death of the plants. The purpose of this work was to identify the causal agent of the blight on hybrid lily. With Koch's postulate, it was confirmed that the disease was caused by *Botrytis cinerea*.

ADDITIONAL KEY WORDS: necrosis, *Lilium* spp., *Botrytis cinerea*.

INTRODUCCIÓN

En México la horticultura ornamental es de las actividades con más alta rentabilidad dentro del sector agrícola. Alrededor de 270 especies de plantas se produce con fines ornamentales en los estados de México, Morelos, Puebla, Veracruz y el D.F. (INEGI, 1998).

Una especie ornamental que destaca por la variedad y belleza de sus flores son las azucenas (*Lilium* spp.) las cuales se encuentran distribuidas en toda la República Mexicana y se considera que existen alrededor de 65 especies diferentes (Rees, 1992). En México algunas de sus especies o híbridos se utilizan como plantas de ornato,

cultivándose a campo abierto, invernadero o en viveros produciendo plantas en maceta para flor, follaje, y flor cortada (INEGI, 1998).

Durante 2004 en plantaciones comerciales de Villa Guerrero, México, se recolectaron plantas de azucena afectadas por una enfermedad de origen desconocido cuyos síntomas principales fueron la presencia de una muerte descendente de ramas y la necrosis total de las hojas banderas (Figura 1), posteriormente se presentaba una defoliación total de la planta. Los daños fueron particularmente intensos antes y durante la floración. Las plantas antes de florecer no presentaron síntomas. Migheli et al., 2003 mencionan a una especie de *Botritis* como

causante de la necrosis de follaje en tulipán; Muller (2003) se refiere a *Botritis cinerea* como un hongo que causa tizón al follaje de tulipanes Yu-Yen *et al.*, 2006, señalan a *Botritis elliptica* como el agente causal de la necrosis en *Lilium*. Desconociéndose el agente causal de esta enfermedad de la azucena en Villa Guerrero, México.

En un análisis y diagnóstico patológico de áreas del follaje con síntomas de tizón en azucena híbrida no mostraron signos de que esta enfermedad fuera causada por virus, bacterias o nematodos. Por tanto, se concluyó que el posible daño podría estar relacionado con alguna especie de hongo.

En México no se encontró información acerca de las enfermedades y patógenos que afectan a las azucenas. Los objetivos del presente estudio fueron identificar y caracterizar al agente causal del tizón descendente de las ramas de azucena híbrida en Villa Guerrero, Estado de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación geográfica de la zona

Villa Guerrero está situado al suroeste del Estado de México a los 18° 56' 36" de latitud norte y 99° 38" de longitud oeste, con 1,842 metros de altitud; con una temperatura media anual entre los 15.8 a 18.8 °C. y con una precipitación media anual entre los 774 y 1,306 mm, la cual se distribuye en los meses de junio, julio, agosto y septiembre (Anónimo, 1995).

Muestreo

El muestreo se realizó durante los años 2004 y 2005, en un lote comercial de azucena híbrida *Lilium* sp. en los invernaderos Coter, en Villa Guerrero, Estado de México. Se hizo un muestreo dirigido, colectando 50 plantas que presentaban el tizón descendente de ramas de la variedad Casa Blanca, de aproximadamente 60 días de edad. Las plantas enfermas se trasladaron en bolsas de plástico al laboratorio de Micología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Asimismo, se colectaron plantas de las variedades Siberia y Lambarosa asintomáticas, con el propósito de realizar observaciones de los síntomas de tizón descendente para la búsqueda de indicios del patógeno asociado, realizándose en laboratorio en un microscopio estereoscópico.

Aislamiento del (los) microorganismo(s). En el laboratorio, en condiciones asépticas se tomaron muestras del tejido donde se observó la zona de avance del tizón. Se cortaron secciones de 0.5 cm², se desinfectó el material con hipoclorito de sodio (NaCl) al 1 % durante 60 segundos, enseguida se pasaron por agua destilada estéril para eliminar el exceso de hipoclorito, después se secó perfectamente en papel filtro estéril. El tejido seco se sembró en cajas de

Petri que contenían medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) para esperar el crecimiento del (los) microorganismo (s), (Romero, 1993).

Purificación e incremento del inóculo. Los hongos que crecieron fueron separados, realizando una preidentificación al género seleccionando los aislamientos más frecuentes. Posteriormente, con la ayuda de una aguja de disección se tomaron trocitos de agar donde estaba la parte apical del crecimiento micelial y se transfirió a otra caja de Petri con medio de cultivo PDA. Una vez que se tuvieron las colonias purificadas se procedió a incrementar el inóculo en más cajas de Petri con medio de cultivo PDA para efectuar la prueba de patogenicidad. (Romero, 1996).

Pruebas de patogenicidad. Para determinar si alguno de los hongos aislados era el agente causal del tizón descendente del tallo de azucena, se procedió a cumplir con los postulados de Koch (Romero, 1993).

Preparación del inóculo. Para preparar el inóculo se utilizaron cultivos con abundante crecimiento micelial de color grisáceo, de los cuales se extrajo el contenido de cinco de ellos (PDA + micelio) se colocaron en la licuadora, junto con 500 ml de agua destilada y se molieron durante diez minutos a mediana velocidad, para homogeneizar el inóculo, llegando a una concentración de 600,000 propágulos·ml⁻¹. Posteriormente se agregó una gota de adherente Tween 20 antes de la inoculación.

Inoculación. El método de inoculación utilizado fue por aspersión, ya que según Romero (1993) es el más efectivo para patógenos que atacan el follaje. Se asperjaron las plantas de azucena con la suspensión de micelio más agua destilada y Tween 20; utilizando una aspersora manual y tratando de dar cobertura total a todas las plantas bajo tratamiento. Después de lo anterior, las plantas fueron colocadas en una cámara húmeda para proporcionarles humedad relativa superior al 95 % por medio de un humidificador ultrasónico Samsung HU-820A, durante 72 horas.

Reaislamiento. El reaislamiento se realizó dos semanas después de la inoculación de las plantas que mostraron la sintomatología típica. La metodología fue la misma que se utilizó para el aislamiento del microorganismo.

Identificación del patógeno. Después del reaislamiento, se compararon las características del crecimiento en el medio de cultivo y las características morfológicas del patógeno con las obtenidas en el aislamiento original (Barnett y Hunter, 1972, Jarvis, 1977).

Para identificar la especie, se tomaron mediciones en el microscopio de luz utilizando el objetivo 40X al cual se le adaptó un micrómetro (American Optical) para medir el ancho y largo de 50 conidios, (Jarvis, 1977).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento del microorganismo. El hongo aislado de las plantas con síntomas del tizón descendente de las ramas (Figura 1 a y b) produjo colonias de micelio gris oscuro, (Figura 2) bajo condiciones de laboratorio en 10 días cubrió completamente la superficie de la caja Petri e inició la producción de algunos cuerpos fructíferos compactos de color negro.

Las características de color de micelio y morfología del hongo comparado con lo mencionado por Agrios (1996), Barnett y Hunter (1972) sugirieron que el hongo aislado correspondía a alguna especie del género *Botrytis*.

Pruebas de patogenicidad

Inoculación. Las plantas presentaron los síntomas de la enfermedad a los ocho días después de la inoculación a una temperatura de invernadero de 22 °C aproximadamente. Se manifestaron una serie de puntos de color gris pardo a naranja oscuro en las hojas; la infección evolucionó llegando a formar manchas de 1 a 2 cm, de forma redonda a elíptica, con el perímetro muy pronunciado, a modo de anillo, visible tanto por el haz como por el envés de la hoja, poco a poco el tejido se fue arrugando, observándose un moho gris, hasta la muerte del tejido.

Reaislamiento. El hongo que se reaisló de las plantas que produjeron síntomas típicos de la enfermedad y que fueron inoculadas por el método de aspersión, tuvo un crecimiento micelial de color gris oscuro y formó esclerocios oscuros y pequeños. Al comparar estas características con las del hongo aislado inicialmente, se deduce que *Botrytis* spp. es el patógeno que produce la enfermedad del tizón

descendente de las ramas en *Lilium* sp. variedad Casa Blanca.

Identificación del patógeno

a) Características morfológicas y color de las colonias

El crecimiento micelial del reaislamiento coincidió con las características del crecimiento micelial del aislamiento original en el color gris oscuro (Figura 2). Se observaron conidióforos largos, ramificados, con los ápices hinchados y esterigmas de los cuales emergen conidios lisos, unicelulares y ovoides (Figura 3). Estas características coincidieron con las descritas por Agrios (1996), para el género *Botrytis*.

b) El tamaño de conidios fue de 18.8 mm de largo con un c.v. de 0.50 y una varianza 0.16, y 9.6 mm de ancho, c.v. de 0.15 y varianza 0.29

Jarvis (1977) y Mendoza (1987) describen a los conidios de *Botrytis cinerea* como lisos, unicelulares, café claro, de elipsoidales a ovoides de 10.8 - 19.6 de largo X 5.9 - 9.8 mm de ancho (promedio 13.0 X 7.4 mm) y de acuerdo a los resultados obtenidos se determinó que el agente causal del tizón descendente de las ramas es *Botrytis cinerea*, y no *B. elliptica* ya que de acuerdo con Jarvis (1977), en esta última especie los conidios al principio son hialinos y más tarde de color café claro, ovales y de 24 X 16 mm en promedio, y conidióforos largos y delgados.

Según Vidalie (1992), el cultivo de *Lilium* sp. puede ser atacado por *Botrytis elliptica* y *B. cinerea*.

Por otro lado, Muller, 2003 y Migheli, et al., 2003,



FIGURA. 1. Síntomas de tizón descendente de las ramas en *Lilium* spp. en Villa Guerrero, Estado de México.



FIGURA 2. Crecimiento de *Botrytis* sp. aislado de plantas *Lilium* spp. con síntomas de tizón descendente de las ramas.



FIGURA. 3. Conidióforos y conidios de *B. cinerea* aislado de plantas de *Lilium* spp. con síntomas de tizón descendente de las ramas.

mencionan a *Botrytis elliptica* atacando a *Lilium*, ya que ésta es una especie de *Botrytis* específica de *Lilium*; sin embargo, Jarvis, W. R. 1998 y Bañón *et al.*, 1993 mencionan que también puede ser atacado por *B. cinerea*.

c) Se observaron síntomas típicos causados por *B. cinerea* a los cuatro días después de la inoculación de las flores

De acuerdo a Vidalie (1992) *B. cinerea* es un hongo más dañino en flores como *Rosa* sp., *Aster* sp., *Chrysanthemum* sp., *Gladiolus comunis*, sin embargo, Romero (1996) menciona a *B. cinerea* afectando las flores de estos vegetales.

CONCLUSIONES

El patógeno que causa el tizón descendente de las ramas de azucena en Villa Guerrero, Estado de México fue *Botrytis cinerea*.

LITERATURA CITADA

- ANÓNIMO. 1995. Anuario estadístico del Estado de México. Instituto de Estadística Geografía e Informática.
- AGRIOS, G. N. 1996. Fitopatología. 2da. Edición. Ed. Limusa, UTEHA. México. 837 p.
- BAÑÓN, S.; CIFUENTES, D.; FERNÁNDEZ, J. A.; GONZÁLEZ, A. 1993. Gerbera, Lilium, Tulipán y Rosa. Mundi-Prensa. Madrid, España. 250 p.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3era. ed. Burgess McMillan Publishing Company, New York, 241 p.
- JARVIS, W. R. 1977. *Botryotinia* and *Botrytis* species: Taxonomy, physiology and phythogenicity. Canada Department of Agriculture. Ottawa, Canada, 195 p.
- JARVIS, W. R. 1998. Control de Enfermedades en Cultivos de Invernadero. Ed. Mundi-Prensa. 334 p.
- INEGI. 1998. La horticultura ornamental en México. INEGI. México. pp: 1-81
- MIGHELI, Q.; ALOI C.; GULLINO M. L. 2003. Resistance of *Botrytis elliptica* to fungicides. Acta horticulturae 266. V. International Symposium on Flower Buds 508-512.
- MULLER P. J. 2003. Botrytis cinerea, cause of diferent diseases in tulips. Acta Horticulturae 266. pp. 411-418.
- REES A., R. 1992. Ornamental bulbs, corms and tubers. CAAB Internacional England. pp. 75-78.
- ROMERO, C. S. 1993. Hongos fitopatógenos. Patronato Universitario. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. 347 p.
- ROMERO, C. S. 1996. Plagas y enfermedades de ornamentales. Departamento de Parasitología Agrícola. UACH. Chapingo, Estado de México. 224 p.
- VIDALIE, H. 1992. Producción de flores y plantas ornamentales. Ediciones Mundi-prensa. 310 p.
- YU-YEN LU; YI-HUNG LIU; CHAO-YING CHEN. 2006. Stomatal closure, callose deposition, and increase of LsGRP1-corresponding transcript in probenazole-induce resistance against Botrytis elliptic in lily. Plant Science 172: 913-919.