

Deformaciones y grietas causadas por *Verticillium fungicola* en el champiñón común en Mérida, Venezuela.

Deformations and cracks caused by *Verticillium fungicola* on mushroom in Mérida State, Venezuela.

Luis Cedeño^{1,2}
Chrystian Carrero¹

Resumen

Verticillium fungicola fue aislado e identificado como la causa de la enfermedad que altera la calidad y reduce los rendimientos del champiñón común (*Agaricus bisporus* cv. Pennsylvania-130) en la industria "Champiñones Santo Domingo, C. A", ubicada en un sector de Santo Domingo, Estado Mérida, Venezuela. El hongo induce la aparición de lesiones que deforman el píleo y agrietan el estipe de los esporóforos adultos. Estas lesiones son inicialmente marrón-claro y posteriormente se vuelven marrón-oscuro. La identificación del hongo se realizó en base a la morfología de las estructuras reproductivas y el tamaño de los conidios. En papa-dextrosa-agar, *V. fungicola* produjo colonias blancas que por el reverso se observaron amarillo-pálido. Los conidióforos fueron erectos, delgados, hialinos y presentaron uno a varios grupos de fiálides divergentes dispuestas en forma verticilada. Las fiálides se apreciaron hialinas, cilíndricas, con la base ligeramente ensanchada y la punta aguda. Los conidios fueron hialinos, unicelulares, elipsoidales y cilíndricos, y midieron 5.6 (4.0-7.0) x 1.9 (1.5-2.0) mm. Inoculaciones realizadas por aplicación de una suspensión de micelio y conidios en esporóforos sanos, indujeron la aparición de síntomas similares a los observados en los especímenes infectados naturalmente. *V. fungicola* fue aislado continuamente de los esporóforos inoculados, comprobándose los postulados de Koch. Esta es la primera vez que *V. fungicola* es reportado en Venezuela como agente causal de lesiones en el champiñón común.

Palabras claves: Champiñón común, *Agaricus bisporus*, *Verticillium fungicola*.

Recibido el 14-12-1995 ● Aceptado el 30-05-1996

1. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Apdo. 77 (La Hechicera), Universidad de Los Andes, Mérida 5102-A, Venezuela

2. Centro de Microscopía Electrónica, Apdo. 167, Universidad de Los Andes, Mérida 5101-A, Venezuela

Abstract

Verticillium fungicola was isolated and identified as the cause of deformations and cracks on sporophores of the common mushroom (*Agaricus bisporus* cv. Pennsylvania-130) produced in the "Champiñones Santo Domingo, C.A." factory, located in Santo Domingo, State of Mérida, Venezuela. Initially the fungus induced light-brown lesions on the pileus and stipe, which later turned dark-brown. The pileus became deformed and the stipe cracked, resulting in reduced sporophores quality and yield. The identification of *V. fungicola* was based on the morphological characteristics of its reproductive structures, and conidia size. On potato-dextrose-agar, the fungus produced white colonies and a pale-yellow this coloration was observed on the underside of Petri dishes. The conidiophores were hyaline, erect and showed groups of divergent phialides with a verticilliate form. The phialides were hyaline, cylindrical, with lightly inflated base and acute tip. The conidia were hyaline, unicellular, obovoid to cylindrical and measured 5.6 (4.0-7.0)x 1.9 (1.5-2.0)µm. Inoculations of Pennsylvania-130 healthy sporophores using a suspension of mycelia and conidia, induced similar symptoms to those observed in naturally infected specimens. *V. fungicola* was continuously isolated from inoculated sporophores. This is the first report of *V. fungicola* causing lesions on the common mushroom in Venezuela.

Key words: common mushroom, *Agaricus bisporus*, *Verticillium fungicola*.

Introducción

En abril de 1995, en el Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad de Los Andes, se recibió un lote de esporóforos enfermos de champiñón común [*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach cv. Pennsylvania-130], provenientes de la industria "Champiñones Santo Domingo C.A.", ubicada en un sector de Santo Domingo, Municipio Autónomo Cardenal Quintero, Estado Mérida, Venezuela. Esta empresa es la más grande de Latinoamérica y está en capacidad de producir mensualmente cerca de 60 toneladas de champiñones.

Los especímenes presentaban lesiones marrón-oscuro en el píleo y el estípe (figura 1). En el píleo las lesiones se apreciaron ligeramente hundidas. La infección severa agrieta el estípe y hace que el píleo se incline. La enfermedad tiene importancia económica por cuanto altera la calidad de los champiñones y en consecuencia, reduce los rendimientos. En consideración a la magnitud de los daños observados, se condujo una investigación con los propósitos de aislar, identificar y evaluar la patogenicidad del agente causal de la enfermedad.

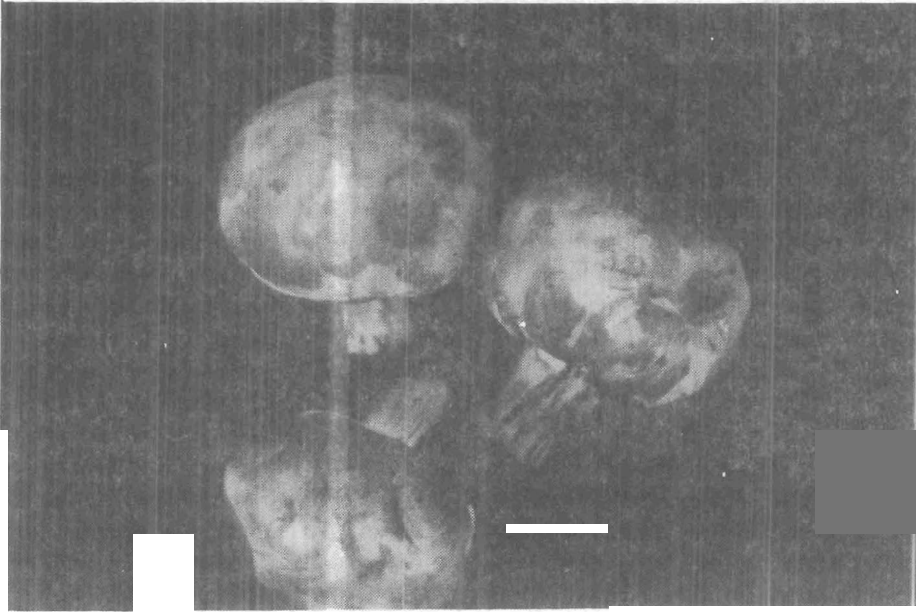


Figura 1. Esporóforos maduros de *Agaricus bisporus* con los síntomas de la enfermedad causada por *Verticillium fungicola*.

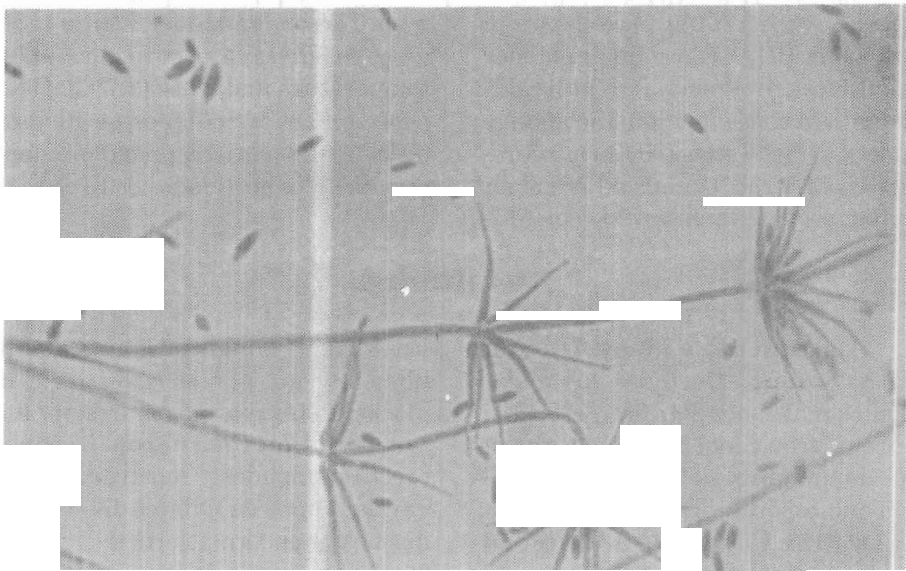


Figura 2. Conidióforos y conidios de *Verticillium fungicola* teñidos con lactofucsina ácida 0.25 %.

Materiales y métodos

Aislamiento e identificación del patógeno. Los esporóforos infectados naturalmente fueron lavados abundantemente con agua de chorro, desinfectados superficialmente por 1 min en una solución preparada con hipoclorito de sodio (0.5 %), ácido láctico (0.1 %) y Tween-20 (0.1 %); lavados tres veces con agua destilada estéril y secados en papel estéril. Seguidamente, del margen de las lesiones existentes en el púleo y el estípe, se cortaron fragmentos de 2 mm² que se transfirieron asépticamente a placas de agar-agua 2 % acidificado con ácido láctico (AAA). Las placas se incubaron en condiciones normales del laboratorio (22 °C) y bajo un régimen de 12 h de oscuridad y 12 h de iluminación con luz fluorescente. Posteriormente los aislamientos emergentes fueron subcultivados en AAA y papa-dextrosa-agar (Difco PDA), con el fin de obtener los cultivos puros que serían utilizados en las pruebas de identificación y patogenicidad. Las estructuras reproductivas fueron examinadas en un microscopio Zeiss modelo Axioplan MC-

80. Las mediciones se hicieron con un ocular micrométrico y el lente objetivo de inmersión en aceite.

Inoculación y reaislamiento.

En las pruebas de patogenicidad se usaron esporóforos sanos producidos en las mismas condiciones de la industria. Previo a la inoculación, los champiñones fueron lavados con agua de chorro, sumergidos en la solución desinfectante descrita anteriormente, lavados con agua destilada estéril y colocados en gradillas metálicas estériles. La inoculación se hizo con una suspensión de micelio y conidios preparada con agua destilada estéril y cultivos producidos por 14 días en PDA (20mL/placa). Los esporóforos control sólo recibieron agua destilada estéril. La suspensión se aplicó con un atomizador eléctrico de bajo volumen. Inmediatamente los champiñones fueron protegidos con plástico negro e incubados a temperatura ambiente (22 °C). De los especímenes inoculados se hicieron aislamientos para comprobar el cumplimiento de los postulados de Koch.

Resultados

Aislamiento e identificación del patógeno. De todos los aislamientos realizados del púleo y el estípe, se obtuvieron consistentemente colonias de un hongo del género *Verticillium* que esporuló abundantemente en AAA y PDA. El sustrato AAA resultó ser el más útil para la observación de las masas mucilaginosas que forman los conidios en las puntas de las fiálides.

En PDA el hongo produjo colonias blancas que por el reverso de las placas se observaron amarillo-pálido. Los conidióforos fueron hialinos, erectos, delgados y mostraron uno a varios grupos de fiálides divergentes dispuestas en forma verticilada (figura 2). El número promedio de fiálides en el verticilio terminal fue de 7.3 (6-10, más común 7-8). Las fiálides se

observaron hialinas, unicelulares, cilíndricas, de base ligeramente ensanchada y punta aguda y tuvieron una longitud promedio de 18.2 mm. Los conidios fueron hialinos, unicelulares, elipsoidales y cilíndricos, y midieron 5.6 (4.0-7.0) x 1.9 (1.5-2.0) mm. En ninguno de los medios utilizados se observaron clamidosporas.

Inoculación y reaislamiento.

A las 48 h después de realizada la inoculación, todos los esporóforos inoculados presentaban lesiones marrón-claro en el píleo y estaban abundantemente cubiertos por un

moho de aspecto blanco-grisáceo. Tres días más tarde, las lesiones se apreciaron marrón-oscuro y moderadamente hundidas. En los esporóforos severamente infectados, el píleo se apreció deforme y algunos estipes presentaban grietas longitudinales. Los síntomas y signos fueron semejantes a los observados en los champiñones infectados naturalmente. En los esporóforos usados como control no se observaron síntomas de infección. *V. fungicola* fue aislado constantemente de los esporóforos inoculados, comprobándose los postulados de Koch.

Discusión

En base a la morfología de las estructuras reproductivas y el tamaño de los conidios, el hongo aislado se identificó como *V. fungicola* (Preuss) Hasebrauk (4, 5). Las pruebas de patogenicidad y reaislamiento demostraron que *V. fungicola* es el causante de la enfermedad que daña los esporóforos del champiñón común en Mérida, siendo esta la primera vez que se señala su presencia en Venezuela.

La enfermedad es internacionalmente conocida como la "burbuja seca" del champiñón común (4), que también ataca el champiñón ostra (*Pleurotus ostratus* Jacq. ex. Fr.) (3), provocando daños de significativa repercusión económica. En la industria champiñonera de Canadá, *V. fungicola* causa pérdidas anuales que se aproximan a los siete millones de dólares (4). Su importancia motivó la realización de investigaciones conducentes al desarrollo de un medio de cultivo selectivo (4), para detectar la presencia del

patógeno en los ambientes, insectos y materiales de uso común en las champiñoneras.

En el champiñón común, *V. fungicola* causa tres tipos de síntomas que están relacionados con el estado de desarrollo (4). La infección temprana inhibe el crecimiento de los primordios o botones y hace que los mismos se transformen en una bola seca de 0.5-1 cm de diámetro. De esta manifestación se deriva el nombre vulgar de la enfermedad. En el estado de desarrollo más avanzado, el hongo produce lesiones en el estípe que hacen que el píleo se incline. Las infecciones tardías inducen lesiones marrón-claro en el píleo que posteriormente, se vuelven marrón-oscuro y ligeramente hundidas. En esta última etapa, los síntomas se confunden con los de la pústula bacteriana causada por *Pseudomonas tolaasii* Paine (4).

Llama la atención que en la "Champiñonera Santo Domingo, C. A.",

regularmente se realizan aplicaciones del fungicida Bravo-500 (clorotalonil), el cual es señalado en la literatura como uno de los más efectivos contra *V. fungicola* (1, 2). Al respecto es importante mencionar, que Bonnen (1) reportó haber detectado resistencia en una cepa de *V. fungicola* la cual había

sido aislada años antes que esta sustancia fuera registrada como fungicida. Sin embargo, aún se desconoce si en el caso investigado la cepa aislada es resistente al clorotalonil. Varias cepas de *V. fungicola* han presentado resistencia a Benlate (benomilo) (1, 2).

Literatura citada

1. Bonnen, A. M. 1994. Fungicide resistance in *V. fungicola*, a mycopathogen of *Agaricus bisporus*. *Phytopathology* 84:1138. (Abstract).
2. Doreen, G. C., and D. M. Spencer. 1978. The interaction between mushroom strains and fungicides in the control of dry-bubble disease by *V. fungicola*. *Ann. Appl. Biol.* 90: 355-360.
3. Marlowe, A., and C. P. Romaine. 1982. Dry-bubble of oyster mushroom caused by *Verticillium fungicola*. *Plant Dis.* 66: 859-860
4. Rinker, D. L., S. Bussman, and G. Alm. 1993. A selective medium for *Verticillium fungicola*. *Can. Plant Pathol.* 15: 123-124
5. Rogerson, C. T., and S. L. Stephenson. 1993. Myxomiceticolous fungi. *Mycologia* 85: 456-469.