

UNA NUEVA ESPECIE DE *PHOMA* AGENTE CAUSAL DE LA «MANCHA ALQUITRANADA DEL FRESNO AMERICANO»

C. A. CORDO y P. A. MERLO

Cátedra de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de La Plata,
C.C.31(1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

De lesiones foliáceas encontradas en *Fraxinus pennsylvanica* Marsh. se aisló una nueva especie de *Phoma* en APD donde produjo algunas conidias castaño-claro entre la mayoría de conidias hialinas y dictioclamidosporas simples o seriadas. Las lesiones sobre folíolos son castaño-oscuro, irregulares, desarrolladas entre las nervaduras y desde el margen al centro de la lámina foliar. Esta lesiones se reprodujeron artificialmente sobre plantas de fresno americano de 1 año.

Para la identificación del patógeno se enviaron muestras de hojas enfermas, con fructificaciones, y cultivos en APD al Commonwealth Mycological Institute, Kew, U.K. Los caracteres de las colonias y el tipo de conidias no coincidieron con ninguna de las especies de *Phoma* descritas en el mundo. Por ello se propuso a ésta como una nueva especie, específica del género *Fraxinus*.

Esta enfermedad ha sido observada en plantas masculinas de fresno americano en las ciudades de La Plata, Ensenada y alrededores de Villa Elisa. Produce defoliación temprana en el verano, dando lugar al debilitamiento generalizado del árbol con detrimento de la calidad y cantidad de madera.

PALABRAS CLAVE: *Fraxinus pennsylvanica* Marsh.

Phoma platensis nov. sp.

Defoliación

Mancha foliar

INTRODUCCION

Desde el año 1986 se viene observando una defoliación temprana en árboles de fresno americano (*Fraxinus americana* L., *F. pennsylvanica* Marsh.). Las manchas sobre las hojas comienzan a desarrollarse hacia la mitad de la estación primaveral y se agudizan en veranos lluviosos, llegando a ocasionar al fin del mes de enero una pérdida foliar avanzada (Figs. 1 y 2) (del 60%, y en casos extremos a defoliación total). En algunos casos los árboles afectados restituyen las hojas, que vuelven a ser atacadas. Este proceso conduce al detrimento de la longevidad y la formación de madera.

Saccardo (1884) describió algunas especies de *Phoma* parasitando *F. excelsior* L. [*Phoma pterophila* (Nits) Fuck. y *P. samararum* Desm. Crypt., sobre frutos; *P. controversa* (Nits) Sacc., *P. fraxinea* Sacc., Mich. y *P. minima* Schulz et Sacc. en ramas corticales]; así como algunas especies de *Phyllosticta* [*P. fraxini* Ell. et Mn, *P. viridis* Ell. et Kell., *P. variegata*, *P. fraxinifolia* y *P. fraxinicola* (Cun.) Ellis et

Recibido: 17-3-90.

Aceptado para su publicación: 17-10-91.

Redactor asociado: R. Jiménez Díaz.

Everth.] parasitando hojas de *F. excelsior* y *F. viride*. Además, Boerema y Loeraker (1985) citaron sobre troncos y ramas de *F. excelsior* la presencia de chancros producidos por *Phoma enteroleuca* var. *inflouescens*, y Dennis (1946) citó a *P. aceris-negundinis* afectando frutos. Por otra parte, alguno de los caracteres morfológicos observados en la especie en estudio se asemejan a los de *Phoma sorghina* (Sacc.) Boerema, Dorenbosch et Vankesteren (1981).

Hasta el presente no ha sido descripta ninguna otra especie del género *Phoma* que produzca síntomas como los observados en los ejemplares de fresno en estudio. Por ello, considerando la importancia económica que tiene esta especie forestal como maderable (utilizado en carpintería fina y otras importantes aplicaciones) y su gran plasticidad de cultivo, se decidió investigar la enfermedad que tan severamente le afecta.

MATERIAL Y METODOS

El patógeno se aisló de ejemplares enfermos, utilizando las técnicas fitopatológicas rutinarias. Para tal fin se tomaron trozos de hojas con síntomas y previa desinfección superficial se cultivaron en agar patata dextrosa (APD) y agar harina de avena (AHA) (Commonwealth Mycological Institute, 1968). Se realizaron microcultivos, pruebas de germinación de esporas y mediciones micrométricas de éstas, así como cortes histológicos de tejido fresco para su observación microscópica.

Se inocularon artificialmente, en invernadero, ejemplares de fresno americano obtenidos de semillas desinfectadas, con una suspensión de conidias y micelio ajustada a 1×10^7 conidias/ml. La inoculación se realizó en el estado de 3°-4° par de hojas, y se aplicó una pulverización de agua destilada sobre los ejemplares utili-



Fig. 1.—Fresno de 7 años, defoliado en un 80 p. 100, a fines de la primavera
Eighty porcentaje of defoliation in a 7-year-old American ash

Fig. 2.—Defoliación temprana en planta adulta
Early defoliation in adult plant



zados como testigo. Tras la inoculación, las plantas inoculadas se mantuvieron en cámara húmeda durante 72 horas. Finalizado este período las plantas continuaron sometidas a condiciones de invernadero. La temperatura media en el transcurso de la investigación fue de 24°C y la humedad relativa media de 78 p. 100. El patógeno se reaisló de las plantas inoculadas con la metodología descrita anteriormente.

Se remitieron al C.A.B. International Mycological Institute of England, muestras de hojas infectadas y cultivos del patógeno en APD y AHA, solicitando el estudio taxonómico de la especie en cuestión.



Fig. 3.—Síntoma necrótico de la «mancha alquitranada del Fresno» en láminas y pecíolos de hoja.
Necrotic symptoms affecting leaf blades and petioles of American ash.

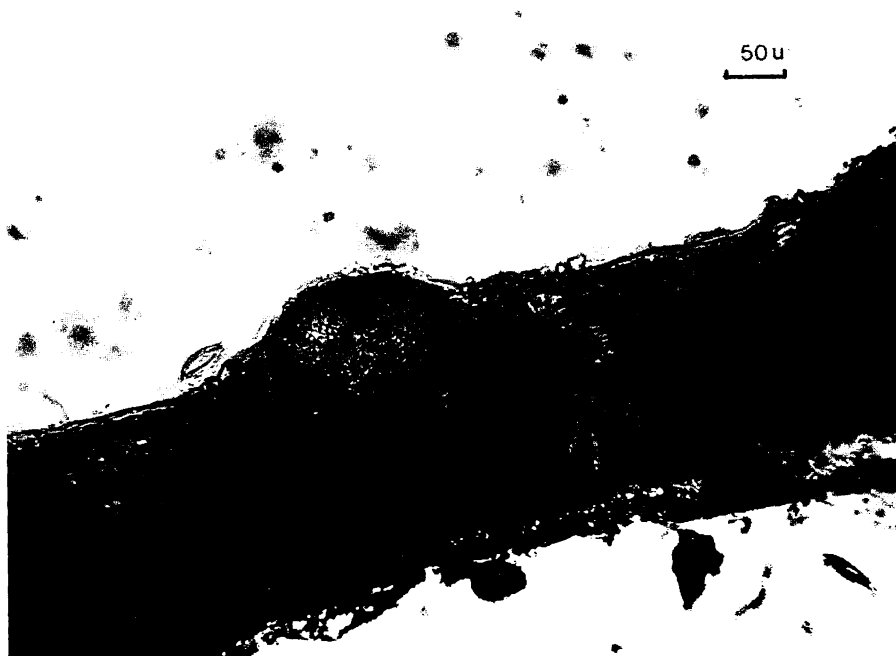


Fig. 4.—Corte transversal de hoja de fresno americano con picnidios subepidérmicos de *Phoma platensis*, Cordo & Merlo.
Transversal cross section of American ash blades with subepidermal picnidia of Phoma platensis, Cordo & Merlo.

RESULTADOS

Los primeros síntomas se observaron a los 4 días después de la inoculación, sobre los cotiledones y en el primer y segundo par de hojas. Dichos síntomas se presentaron como lesiones marginales que luego se extendieron hacia el centro de la lámina foliar. Inicialmente las lesiones eran manchas verde-oscuro, acuosas, translucidiéndose al envés. Unos días más tarde las manchas adquirieron aspecto bronceado. En hojas adultas se desarrollaron manchas necróticas, circulares a irregulares, reticuladas, confluentes, quedando limitadas por las nerviaduras secundarias y conexiones internerviales, y las porciones afectadas estuvieron circundadas por tejido clorótico. El tamaño de las manchas fue indefinido, pudiendo abarcar toda la hoja, especialmente en el estado avanzado de la enfermedad. En otros casos, las manchas parecieron difundirse desde la nerviadura central y las secundarias hacia la región parenquimática, pudiendo confluir en toda la lámina foliar. El aspecto de la mancha era alquitranado, costroso, de color negro-brillante. Cuando la nerviadura central y el pecíolo estaban atacados las lesiones eran alargadas, de extensión axial y castaño-oscuro a negras (Fig. 3). Sobre las manchas foliares y en ambas caras de la lámina foliar, se observaron los picnidios del agente que son subepidérmicos, anfigenos, globosos, con mayor

frecuencia en la cara abaxial, de pared pseudoparenquimatosa, con poro y sin cuello, de $101,25 \times 120 \mu\text{m}$ (Fig. 4).

Los síntomas obtenidos en los ejemplares inoculados artificialmente fueron similares en todos los aspectos a los observados en infecciones naturales. Los testigos pulverizados con agua destilada no presentaron lesiones.

El agente etiológico aislado, tanto del material original como del inoculado artificialmente, corresponde por sus caracteres morfológicos, culturales y biométricos a una especie del género *Phoma*. El estudio biométrico realizado en el C.A.B. International Mycological Institute estableció que la descripción de esta especie en cuestión difiere de todas las descripciones publicadas sobre especies de *Phoma* en *Fraxinus*. Los aislamientos estudiados no coincidieron ni en morfología ni en dimensiones de conidias a los descritos para otras especies de *Phoma* hasta el momento. La presencia de algunas dictioclamidosporas pequeñas, simples o seriadas, en el cultivo original, y algunas conidias castaño-claro, entre las predominantemente hialinas (Fig. 5). sugiere que esta especie es muy próxima a *P. sorghina* aunque los aislamientos obtenidos de fresno difirieron por los caracteres generales de las colonias.

— *Phoma platensis* CORDO & MERLO.

— *Phoma platensis* nov. sp.: Pycnidia subepidermica, amphigena, praecipue hypophylla, atra, super máculas necróticas, globosas, pariete pseudoparenchymatoso, cum poro et sine collo, $101,25$ u. alto \times 120 u. diam.



Fig. 5A.—Conidias hialinas (a); conidias castaño-claro (b) y clamidosporas seriadas (c) de *Phoma platensis* nov. sp.

Hyaline conidia (a); light brown conidia (b) and seriate chlamydospore of Phoma platensis nov. sp.



Fig. 5B.—Clamidospora simple terminal de *P. platensis* nov. sp.
Terminal, simple chlamydospore of Phoma platensis nov. sp.

— Conidia hyalina, oblonga-ellipsoidalia (3,75-5,25) $4,5 \times (1,5-3) 2,25 \mu\text{m}$ vel pallide castaneae, isodiamétrica (4,68-5,62) $5,14 \mu\text{m}$.

— Dictyoclamydosporae, atrocastaneae, solitariae $11,25 \times 7 \mu\text{m}$ vel 2-4 sériatae, terminales vel intercalares.

El estudio de los cultivos desarrollados en APD determinó la formación de colonias circulares, color verde oliva (Rayner, 1970) (124 greenish black) y superficie lisa; con anillos de crecimiento concéntrico, de aspecto aterciopelado, con micelio superficial arratonado (118 mouse grey), afieltrado, denso, que se corresponde con la superficie de la colonia color verde oliva. La elevación es difusa, el borde entero, el margen hialino de activo crecimiento y de micelio profundo. La esporulación es abundante y los picnidios son de desarrollo parcialmente sumergido en el medio.

El estudio cultural en AHA determinó la formación de colonias circulares, color verde oliva (107-108 grey olivaceus-olivaceus black) y superficie lisa; con sectorizaciones más claras y radios transversales al centro de la colonia. Las colonias son de aspecto aterciopelado, con micelio superficial arratonado, afieltrado laxo que coincide con micelio profundo de color verde oliva. Los picnidios son superficiales, globosos, con cuello (1-2) de $50-70,2 \times 45,9-72,9 \mu\text{m}$, de paredes oscuras, escleroplectenquimatosas. En el extremo del cuello se forman cirros mucosos, rosados, de conidias hialinas, oblongo-elipsoidales; y dimensiones (3,75-5,25) $4,5 \times (1,5-3,0) 2,25 \mu\text{m}$; conidias castaño-claro, isodiamétricas de 4,68-5,62 μm de diámetro y dictioclamidosporas castaño-oscuro, simples o seriadas, terminales, o intercalares de 5 a 7 células.

DISCUSION

Los daños producidos por esta enfermedad son muy importantes en cualquier edad de la planta. La defoliación prematura (diciembre-enero) y la restitución subsiguiente, conducen a la disminución del crecimiento y longevidad de la planta, con su correspondencia en el rendimiento de madera. Considerando el uso tan difundido de la madera de fresno y la incidencia económica de la enfermedad en la industria, era importante conocer el agente causal de dicha enfermedad, especialmente por tratarse de una afección foliar, descrita por primera vez en especies de fresno en el mundo.

Las características morfológicas y biométricas del hongo de esta descripción, no coinciden con ninguna de las especies de *Phoma* señaladas por Saccardo para *F. excelsior* y *F. ornus*, que fueron encontradas únicamente en corteza de ramas y frutos. Tampoco se acercan a las de las diferentes especies del género *Phyllosticta*, descritas por el mismo autor, tanto etiológica como sintomatológicamente.

La especie más afín por su morfología es *P. sorghina*, por haberse observado en cultivos de esta última dictioclamidosporas y esporas de color castaño e isodiamétricas. Otra diferencia para considerar es la especificidad de ambas especies (*P. sorghina* y la *Phoma* descrita en este trabajo), en cuanto a la gama de plantas huéspedes. Cada una de dichas especies infecta familias huéspedes distintas (Oleaceae y Gramineae).

Con relación a los caracteres culturales de las colonias desarrolladas en APD y AHA, se observaron diferencias de color. En *P. sorghina* se describieron como blancas, grisáceas a rosadas, con micelio aéreo abundante y reverso de color rosado. Las colonias descritas en este trabajo son de color verde-oliva, con micelio superficial arratonado y reverso con similar color al del micelio aéreo.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta que los síntomas observados en las plantas inoculadas coincidieron con los presentes en el material infectado naturalmente, y que los caracteres morfológicos de la especie estudiada no concordaron con los de las ya descritas en el mundo (Dr. E. Punithalingam, C.A.B. International Mycological Institute, England) se decidió proponer una nueva especie: *Phoma platensis*, nov. sp., como parásito de hojas y pecíolo de fresno americano (*F. americana* L., *F. pennsylvanica* Marsh.) y designar a esta enfermedad por las características de sus síntomas como «MANCHA ALQUITRANADA DEL FRESNO».

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos muy especialmente al Dr. E. Punithalingam (C.A.B. International Mycological Institute, England) las sugerencias vertidas a través del estudio taxonómico efectuado: y al Prof. Marcos G. Ruvituso que tan gentilmente realizó la versión latina de la descripción taxonómica del hongo.

SUMMARY

A new species of *Phoma* causal agent of the tar spot disease of American ash

A new specie of *Phoma* was isolated on PDA from foliar lesions found in *Fraxinus pennsylvanica* Marsh. It produced few light brown conidia within the total hialine conidia and simple or complex chlamidospores. Lesions on leaves were dark brown irregular, and developed from the margins to mid-leaf and between veins. They were artificially reproduced in artificial inoculation of 1-year old plants of American ash.

To identify the pathogen, affected leaf samples with fructifications and cultures on PDA were sent to the Commonwealth Mycological Institute (Kew, United Kingdom). Characters of the colonies and types of conidia do not coincide with any of the *Phoma* species already described. Consequently, this one was proposed as a new species, specific of the genus *Fraxinus*.

The disease could be observed on male plants of American ash in the cities of La Plata and Ensenada and the surroundings of Villa Elisa. It causes early defoliation in summer leading to general weakening of the tree in detriment of wood quality and amount.

KEY WORDS: *Fraxinus pennsylvanica* Marsh.
Phoma platensis nov. sp.
Defoliation
Leaf spot

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- BOEREMA G. H., 1976. The *Phoma* species studied in culture by Dr. R. W. G. Dennis. Tr. Br. Mycol. Soc., 67: 289-319.
- BOEREMA G. H., VAN KESTEREN H. A., LOERAKKER W. M., 1981. Notes on *Phoma*. Tr. Br. Mycol. Soc., 77: 61-74.
- BOEREMA G. H., LOERAKKER W. M., 1985. Notes on *Phoma*. Tr. Br. Mycol. Soc., 84: 289-302.
- C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria: n° 825, 1985. Commonwealth Mycological Institute, Ferry Lane, Kew Surrey, England.
- DENNIS R. W. G., 1946. Notes on some British fungi ascribed to *Phoma* and related genera. Tr. Br. Mycol. Soc., 29: 11-42.
- COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE. 1968. Plant Pathologist's pocketbook. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 267.
- RAYNER R. W., 1970. A Mycological Colour Chart. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey.
- SACCARDO P. A., 1884. Sylloge Sphaeropidearum et Melanconearum omnium hucusque cognitorum. Sylloge Fungorum 3, pgs. 81 y 153.