

## **AISLAMIENTO Y CARACTERÍSTICAS EN CULTIVO DE *MARSSONINA BRUNNEA***

Diez, J.; González, M.

Universidad de Valladolid. Unidad de Entomología y Patología Forestales.  
Departamento de Producción Vegetal y Silvopascicultura. Escuela Técnica Superior de Ingenierías  
Agrarias (E.T.S.I.I.A.A.). Av. de Madrid 57, 34007. PALENCIA.  
Correo electrónico: jdcasero@pvs.uva.es

### **RESUMEN**

*Marssonina brunnea* es la forma anamórfica de *Drepanopeziza punctiformis*, y suele causar defoliaciones importantes en las plantaciones de chopo de Europa y Norteamérica. En el siguiente trabajo se ha caracterizado el crecimiento de este hongo en distintos medios y distintas temperaturas con la finalidad de optimizar su crecimiento en el laboratorio, paso fundamental para los ensayos de inoculación con el hongo que se tiene previsto realizar en posteriores trabajos. El medio de cultivo en el que experimentó un mayor crecimiento fue el PDA, y temperatura óptima de crecimiento 25°C.

**PALABRAS CLAVE:** *Marssonina brunnea*, *Drepanopeziza punctiformis*, *patología forestal*, *enfermedades fúngicas*

### **SUMMARY**

*Marssonina brunnea* is the anamorphic state of *Drepanopeziza punctiformis*, that may produce great defoliation damage in poplar plantations of Europe and North-America. In this paper, growth of the fungus under lab conditions with different media and temperatures is characterised, looking for their fit conditions for spore production useful for future inoculation procedures. The optimum media and temperature for growth were the PDA media and 25°C respectively.

**KEY WORDS:** *Marssonina brunnea*, *Drepanopeziza punctiformis*, *forest pathology*, *fungal diseases*.

### **INTRODUCCIÓN**

*Marssonina brunnea* (forma perfecta, *Drepanopeziza punctiformis*) es uno de los hongos defoliadores más importantes de chopos del continente europeo. Fue introducido desde América del Norte hacia 1958 (Phillips & Burdekin, 1992), y en la actualidad presenta una distribución casi general en nuestro país.

Los síntomas de la enfermedad no sólo aparecen en las hojas, sino también en los peciolo y ramillos. En las hojas forma unas manchas circulares diminutas (de menos de 1 mm de diámetro) de color pardo, que en el caso de peciolo y ramillos toman posteriormente forma longitudinal. Alrededor de cada mancha el limbo se torna amarillo, y si la enfermedad avanza, las hojas terminan por caer. Las defoliaciones se suelen producir en verano y pueden llegar a ser totales.

Eventualmente, los ataques pueden llevar a la muerte de ramas dispersas e incluso a la muerte de árboles jóvenes como consecuencia directa del hongo o de parásitos de debilidad que infectan posteriormente al árbol. *M. brunnea* suele aparecer asociada a *Venturia populina* y *Taphrina populina*, siendo a veces difícil dilucidar cual es el hongo causante de los daños (Diez, 2001; no publicado aún).

La aparición de la enfermedad depende de las condiciones climáticas, provocándose graves daños cuando los valores térmicos oscilan entre 20 y 25° C y la precipitación en 24-48 horas alcanza valores de 30 a 40 mm. En España se conoce la enfermedad desde principios de los 80, pero sus daños, salvo en situaciones excepcionales, no parecen haber sido excesivamente graves.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Para aislar *M. brunnea* de las hojas infectadas se utilizaron 2 materiales distintos, trozos de tejido foliar colonizados por el patógeno, previamente desinfectadas con Hipoclorito al 2%, y una dilución en agua destilada de los conidios del hongo. Ambos se situaron en medio PDA para promover el crecimiento del micelio.

Una vez aislado el hongo, su crecimiento se evaluó sobre 4 medios sintéticos, AA (ágar-agua), MEA (extracto de malta), PDA (patata dextrosa ágar) y medio de Salemink modificado por Scala et al. (1994). Una vez esterilizado el medio de cultivo se distribuyó en placas de petri, a razón de 20 ml en cada placa.

Los ensayos se iniciaron colocando sobre el medio, en el centro de la placa, un trozo de micelio procedente de cultivos de mantenimiento del hongo. Una vez marcadas las placas y selladas con parafilm, se dibujaron dos ejes perpendiculares en la parte posterior de las mismas, sobre los que se realizaron las mediciones del crecimiento.

Para determinar la temperatura óptima de crecimiento del aislamiento de *M. brunnea* se utilizó el PDA, ya que fue en este medio donde el hongo creció más rápidamente. Las temperaturas elegidas fueron 5, 10, 15, 20, 25 y 30° C

En los ensayos se utilizaron 3 placas por aislamiento y medio. Cada valor, en décimas de mm, representa la media de los 12 radios de las placas.

Todos los ensayos se llevaron a cabo dentro de una cámara de flujo laminar para evitar contaminaciones.

## **RESULTADOS**

El mejor método para el aislamiento de *M. brunnea* fue la dilución de los conidios producidos por el hongo en agua destilada y su posterior siembra en medio PDA. La esterilización del tejido infectado originó un gran número de colonias de hongos contaminantes en la placa.

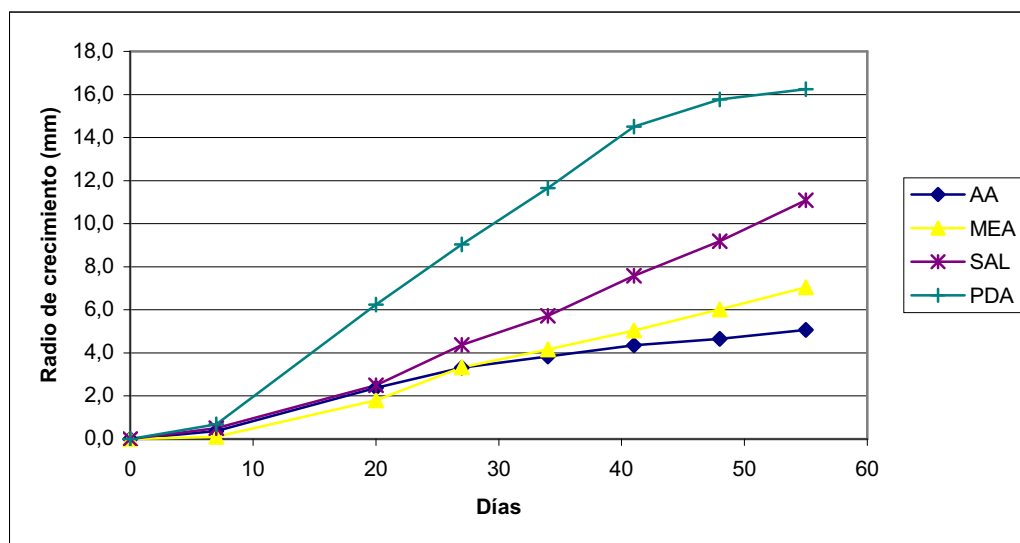
El crecimiento del patógeno en los distintos medios a 25° C fue muy bajo, y registró diferencias significativas (Figura 1). El medio PDA fue el que favoreció en mayor

medida el crecimiento del hongo, sobre todo en los primeros días, que comenzó a estabilizarse a partir del día 50.

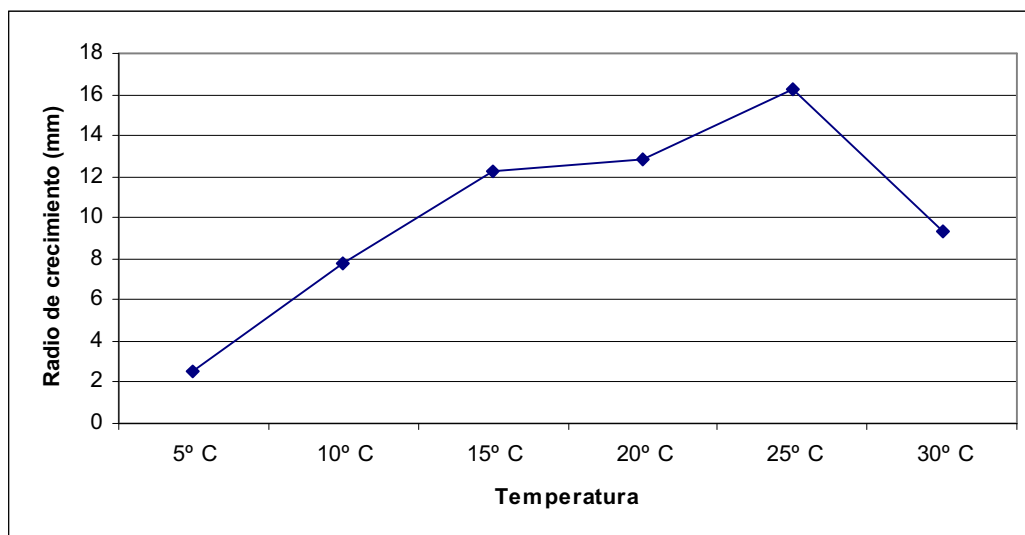
El siguiente medio en velocidad de crecimiento fue el SALEMINK, seguido del MEA y el AA, que mantuvieron su crecimiento a los 50 días de su subcultivo. El incremento de la colonia en estos medios fue muy lento, del orden de 0.105 mm/día en el AA, 0.125 mm/día en el MEA y 0.218 mm/día en el SALEMINK, frente a los 0.41 mm/día del PDA.

También se han encontrado diferencias en el aspecto de la colonia entre los medios. En el AA, *M. brunnea* creció formando una colonia blanquecina muy poco densa, con unos límites muy difuminados y difícilmente apreciables. En el resto de los medios el color de la colonia fue amarillo-anaranjado y de mayor densidad.

*M. brunnea* creció muy lentamente a 5° C. Según aumentó la temperatura, éste creció de forma más vigorosa, hasta alcanzar el máximo a 25° C. Las muestras colocadas a 30° C ralentizaron su crecimiento hasta niveles parecidos a los de los 10° C (Figura 2).



**Figura 1.** Crecimiento de *Marssonina brunnea* en distintos medios de cultivo a 25° C.



**Figura 2.** Crecimiento de *Marssonina brunnea* a distintas temperaturas en medio PDA.

## DISCUSIÓN

Las colonias crecieron de una forma más o menos lineal en las primeras fases, y tan sólo ralentizó su crecimiento, a partir del día 50, la que se encontraba en el medio de cultivo PDA, debido a que el hongo había consumido ya la mayoría del medio.

El medio donde mejor se desarrolló *M. brunnea* fue el PDA, donde formó una densa colonia. Debido a su escasa velocidad de crecimiento en este medio, también puede ser el más recomendable para el mantenimiento del hongo durante largos periodos.

En cuanto a la temperatura en la que más creció el hongo, ésta fue la de 25° C, por lo que cabe esperar que este patógeno producirá más daño en las hojas de chopo a finales de primavera y verano, época en la que las temperaturas medias en Castilla y León coinciden con su óptima, frenando su crecimiento, y por tanto su virulencia, cuanto más se alejen las temperaturas de este valor. *M. brunnea* es muy sensible a temperaturas superiores a 25° C, ya que el aumento de 5° C por encima de esta temperatura produjo una disminución del crecimiento hasta unos niveles parecidos a los de 10° C.

## BIBLIOGRAFÍA

PHILLIPS, D; BURDEKIN, D., 1992. Diseases of forest and ornamental trees. MacMillan Press LTD. 581pp.

SCALA, A.; TEGLI, S.; COMPARINI, C.; MITTEMPERGUER, I.; SCALA, F.; del SORBO, G., 1994: Influence of fungal inoculum on cerato-ulmin production; purification of cerato-ulmin and detection in elm sucker cuttings. *Petria*, 4: 57-67.