

# **Sphaeropsis sapinea ASOCIADO CON QUEMA DEL COGOLLO, MUERTE REGRESIVA Y CÁNCER EN TRONCOS, RAMAS Y RAÍCES DEL PINO CARIBE EN VENEZUELA**

Luis Cedeño, Chrystian Carrero, Wilfredo Franco y Armando Torres Lezama

## RESUMEN

Desde hace 30 años las sabanas del sur de Anzoátegui y Monagas, Venezuela, han sido plantadas con pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*). Hasta diciembre del 2000 el pino abarcaba una extensión de 615.000ha, la cual representa la mayor área del trópico con una plantación forestal mono-específica. Durante 1997 y 1998, cientos de miles de árboles murieron en esas plantaciones. Los síntomas comúnmente observados fueron quema del cogollo, muerte regresiva y cáncer en troncos, ramas y raíces. De los distintos tejidos infectados se aisló consistentemente un hongo que se identificó como *Sphaeropsis sapinea* (= *Diplodia pinea*). La identidad del patógeno se determinó en función de la morfología y el tamaño de las estructuras reproductivas. Sobre la base de las características de las colonias en

extracto de malta agar y la textura de la pared celular de los conidios, los aislamientos obtenidos fueron reconocidos como miembros del morfotipo B. Inoculaciones realizadas por heridas en tallos y brotes de plántulas sanas de pino Caribe, con gasa colonizada y discos de agar-micelio, produjeron los síntomas de cáncer y quema del cogollo observados en plantación. *S. sapinea* fue aislado consistentemente de los materiales inoculados. Los daños ocurridos fueron relacionados con predisposición por deficiencia hídrica prolongada causada por el fenómeno atmosférico de "El Niño". Después que las precipitaciones se normalizaron, no se detectaron infecciones nuevas y muchos árboles afectados lograron recuperarse y reasumir el crecimiento.

## SUMMARY

For 30 years the southern plains of Anzoátegui and Monagas States, Venezuela, have been planted with Caribbean pine (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*). Until december 2000 pine comprised an extension of 615,000ha, which represents the largest tropical area with a monospecific forestal plantation. During 1997 and 1998 hundreds of thousands pine trees died in these plantations. Shoot blight, dieback and canker on trunks, branches and roots were the most common symptoms. From different infected tissues a fungus identified as *Sphaeropsis sapinea* (= *Diplodia pinea*) was consistently isolated. Pathogen identity was determined from morphology and size of reproductive struc-

tures. Based on colony morphology and conidia cell wall texture the isolates were recognized as members of morphotype B. Inoculations on wounded stems and twigs of Caribbean pine seedlings, using colonized gauze and mycelium-agar plugs, produced the canker and shoot blight symptoms observed in the field. *S. sapinea* was consistently isolated from inoculated materials. The damages observed were related to predisposition by prolonged water deficiency caused by the atmospheric phenomenon of "El Niño". After rain normalization new infections were not detected and many previously affected trees recuperated and reassumed growth.

## Introducción

Desde hace 30 años las sabanas del sur de los estados Monagas y Anzoátegui, han sido plantadas con pino Caribe (*Pinus caribaea* Morelet var. *hondurensis* Barr & Golf.). En el desarrollo de esta actividad

participan empresas de los sectores público (CVG-PROFORCA) y privado. Hasta diciembre de 2000, la plantación abarcaba una extensión de 615.000ha, lo que representa la mayor área del trópico con una especie forestal mono-específica (Wilfredo

Franco, comunicación personal). Entre los hechos económicos y sociales más notables derivados de esta acción destacan la reforestación de áreas que frecuentemente eran objeto de quema, la generación de empleos directos e indirectos, y la fundación de pequeñas y

medianas industrias. Actualmente existen en la región empresas de aserrado y fabricación de tableros y se ha proyectado establecer industrias para la producción de resina sintética, etanol, cartón y papel para periódico (El Mundo, 2000).

## PALABRAS CLAVE / *Diplodia pinea* / Pino Caribe / *Pinus caribaea* var. *hondurensis* / *Sphaeropsis sapinea* /

Recibido: 30/01/2001. Modificado: 5/04/2001. Aceptado: 9/04/2001

Luis Cedeño. Ingeniero Agrónomo, Universidad de Oriente, UDO. M.Sc. en Fitopatología, Universidad de Georgia, USA. Profesor Titular, Laboratorio de Fitopatología, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Universidad de Los Andes, ULA. Dirección: Laboratorio de Fitopatología, Instituto de Investigaciones Agropecuarias

IAP-ULA, Apartado 77, La Hechicera, Mérida 5101-A, Venezuela.  
e-mail: lurace@telcel.net.ve  
Chrystian Carrero. Ingeniero Agrónomo, Universidad del Zulia. M.Sc. en Manejo de Bosques, ULA. Profesor Asistente, Laboratorio de Fitopatología, IAP-ULA.

Wilfredo Franco. Ingeniero Forestal, ULA. Ph.D. en Ciencias Forestales, Universidad de Göttingen, Alemania. Profesor Titular, Grupo de Investigación en Biodiversidad y Desarrollo Sustentable de Ecosistemas Forestales (BIODESUS), Instituto de Investigaciones para el Desarrollo Forestal (INDE-

FOR), Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales-ULA.  
Armando Torres-Lezama. Ingeniero Forestal, ULA. Ph.D. en Ecología, Universidad de California, Profesor Titular, BIODESUS, INDEFOR, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales-ULA.

## RESUMO

Faz 30 anos as savanas do sul de Anzoátegui e Monagas, Venezuela, tem sido plantadas com pinho Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*). Até dezembro do ano 2000 o pinho abarcava uma extensão de 615.000ha, a qual representa a maior área do trópico com uma plantação florestal mono-específica. Durante 1997 e 1998, centos de miles de árvores morreram nessas plantações. Os sintomas comuns observados foram queima do cogolo, morte regressiva e câncer em troncos, ramas e raízes. Dos distintos tecidos infetados isolou-se consistentemente um fungo que se identificou como *Sphaeropsis sapinea* (=Diplodia pinea). A identidade do patógeno determinou-se em função da morfologia e o tamanho das estruturas reprodutivas. Sobre a base das características das colônias em extrato de malta agar

e a textura da parede celular dos conídios, os isolamentos obtidos foram reconhecidos como membros do morfotipo B. Inoculações realizadas por feridas em talhos e brotos de plântulas saudáveis de pinho Caribe, com gaze colonizada e discos de agar-micelio, produziram os sintomas de câncer e queima do cogolo observados em plantação. *S. sapinea* foi isolada consistentemente dos materiais inoculados. Os danos ocorridos foram relacionados com predisposição por deficiência hídrica prolongada causada pelo fenômeno atmosférico de "El Niño". Depois que as tempestades se normalizaram, não foram detectadas infecções novas e muitas árvores afetadas conseguiram recuperar-se e reassumir o crescimento.

Durante 1997 y 1998, cientos de miles de árboles murieron en las plantaciones en referencia (Wilfredo Franco, comunicación personal). En general, la mortalidad tuvo mayor incidencia en árboles de 6 años o más jóvenes. Las plantaciones se encuentran en tipo climático seco y suelos con características granulométricas y de estratificación que determinan una capacidad de retención de humedad muy baja. Los daños ocurridos sirvieron de motivación para que, en julio de 1998 y mayo de 1999, se efectuaran inspecciones fitosanitarias en bancales de vivero y rodales ubicados en los sectores Uverito (Monagas), y Colorado y Los Hachos (Anzoátegui), a los fines de iniciar las investigaciones tendientes a determinar la causa del problema.

Las observaciones realizadas en 1998 revelaron que en los viveros de Uverito la mayoría de las plántulas presentaban quema total o parcial en las acículas. En los rodales se encontraron numerosos árboles con muerte regresiva, quema en la punta del cogollo y de las ramas, cáncer en el tronco, ramas y raíces. Como consecuencia de los daños, algunos árboles habían muerto y otros estaban moribundos. Los tejidos infectados más viejos se apreciaron secos y pigmentados de azul, mientras los correspondientes al margen de avance de la infección mostraban color marrón.

En virtud de la gravedad del problema, se programó un

estudio con el propósito de determinar la identidad y patogenicidad del agente causal de las anomalías descritas.

### Materiales y Métodos

#### Aislamiento e identificación

Los materiales infectados se colectaron en julio de 1998. De plántulas de 8 meses de edad se tomaron acículas completamente quemadas y acículas que sólo tenían la punta dañada, mientras que de árboles de 4, 8 y 15 años de edad se cortaron cogollos con muerte regresiva y segmentos de troncos, ramas y raíces con lesiones cancerosas. De la interfase tejido sano-tejido enfermo se seleccionaron fragmentos de aproximadamente 2mm<sup>2</sup>, los cuales fueron lavados por 1h con agua corriente, desinfectados superficialmente por 5min en solución 0,5% de hipoclorito de sodio, lavados varias veces en agua destilada estéril (ADE), secados con papel absorbente estéril y sembrados asépticamente en placas de agua agar al 2% acidificado con ácido láctico. Las placas se incubaron a 25°C en la oscuridad. Los cultivos emergentes fueron purificados por transferencia de ápices hifales a placas con papa-dextrosa agar y conservados bajo refrigeración (4°C) en tubos que contenían papa-zanahoria agar (PZA). La identidad de los aislamientos

se estableció sobre la base de las características de las colonias producidas en placas con extracto de malta agar (EMA), incubadas durante 15 días a 25°C en la oscuridad, y de la morfología y dimensiones de picnidios y conidios formados en placas con PZA y agua agar al 2% más acículas de pino (AAAP). Previamente las acículas se esterilizaron por 48h con luz ultravioleta de onda larga (Mineralight® Lamp, Model UVGL-25, Multiband UV-254/365 NM, Upland, California, EEUU). Las placas con PZA y AAAP fueron incubadas por una semana a 25°C en la oscuridad y posteriormente colocadas a temperatura ambiente (22°C) bajo un régimen de 12h de iluminación de luz blanca fluorescente. Las dimensiones conidiales se registraron en los aislamientos Ss-98-02 (muerte regresiva del tronco), Ss-98-03 (quema en acículas), Ss-98-04 (cáncer en rama) y Ss-98-05 (cáncer en el cuello de la raíz). Las observaciones y mediciones se realizaron en un microscopio Zeiss, modelo Axioplan, con rejilla micrométrica y cámara fotográfica incorporadas. La conidiogénesis fue examinada con eritrosina diluida al 1% en hidróxido de sodio 10%.

#### Pruebas de patogenicidad

Brotes (ramitas) y tallos de plántulas de pino Caribe de 55 a 60cm de altura, las cua-

les estaban creciendo en bolsas de polietileno (2kg), fueron inoculadas por heridas con el aislamiento Ss-98-02. Los brotes tenían 8 a 23cm de longitud. Los tallos se inocularon de dos maneras. En un primer caso se usaron piezas de gasa colonizada por cultivos del hongo en placas con papa-dextrosa agar incubadas a 25°C en la oscuridad. La gasa se aplicó en heridas (1cm de longitud) causadas por laceración de la corteza ubicada a 10cm por debajo de la punta utilizando un escarpelo estéril. Seguidamente la gasa-inóculo se cubrió con algodón humedecido con ADE y este último con Parafilm® para evitar la desecación. La gasa se esterilizó de la misma manera que las acículas usadas en la preparación AAAP. Las plántulas testigos sólo recibieron gasa estéril sin el hongo. Después de la inoculación (DDI) las plántulas se transfirieron al invernadero. La gasa-inóculo se retiró a los 7 días DDI y a partir de ese momento se realizaron observaciones periódicas para evaluar el desarrollo de la enfermedad.

El otro procedimiento de inoculación, el cual también se utilizó en los brotes, consistió en aplicar discos de agar-micelio (6mm diam) extraídos de cultivos de 5 días en agua agar al 2%, en heridas (0,5cm longitud) causadas con un escarpelo estéril en la corteza localizada a 2cm por debajo de la punta del tallo y

de los brotes. El inóculo se cubrió por 3 días con algodón humedecido con ADE y Parafilm®. En los controles se aplicaron discos de agua agar no colonizados. Después de retirar el algodón y el Parafilm®, las plántulas se examinaron diariamente para observar la aparición de síntomas. Las pruebas se hicieron dos veces. A partir de los materiales inoculados se hicieron aislamientos para confirmar los postulados de Koch.

## Resultados y Discusión

### Aislamiento e identificación

De plántulas de vivero con acículas totalmente quemadas se aisló *Cylindrocladium* sp., mientras que de aquellas cuyas acículas sólo tenían la punta quemada se obtuvieron cultivos de *Sphaeropsis* sp. Los aislamientos realizados de árboles que presentaban muerte regresiva, cáncer en el tronco, ramas y raíces, consistentemente originaron colonias de *Sphaeropsis* sp. En ningún caso se aisló *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. (= *Botryodiplodia theobromae* Pat.) ni *Botryosphaeria dothidea* (Moug.: Fr.) Ces. & De Not., especies que han sido relacionadas con manifestaciones similares en *Pinus* spp. (Hodges, 1983; Holmquist, 1990).

La especie *Cylindrocladium* se identificó como *C. pteridis*. En pruebas preliminares de inoculación realizadas en plántulas sanas de pino Caribe, *C. pteridis* causó quema total de las acículas y pudrición en la parte basal del tallo, mientras que *Sphaeropsis* sp. produjo cáncer en el tallo y quema en la punta de las acículas. En consideración a lo anterior, la investigación se dirigió fundamentalmente hacia el propósito de establecer la identidad específica de *Sphaeropsis* sp. y determinar su relación con los daños observados en los rodales.

En EMA todos los aislamientos de *Sphaeropsis* formaron colonias de crecimen-



Figura 1. Picnidio y conidios de *Sphaeropsis sapinea*.

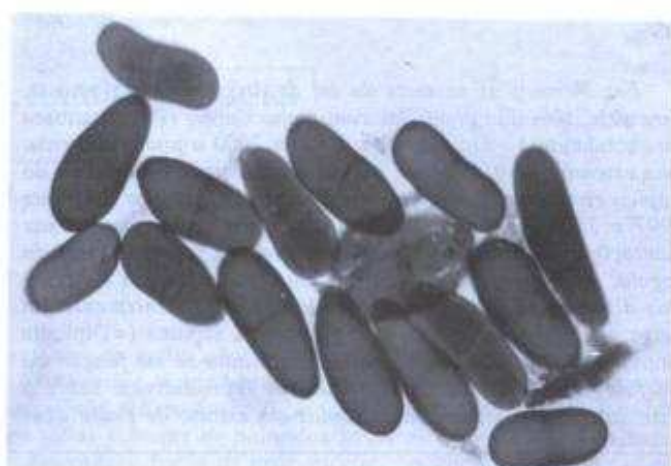


Figura 2. Conidios maduros de *Sphaeropsis sapinea* teñidos con lactofucsina 0,025%.

to lento constituidas por un micelio negro fuertemente adherido a la superficie del sustrato. A los 14 días después de la siembra, tanto en PZA como en AAAP, los aislamientos habían formado conidiomas picnidiales fértiles. En PZA los picnidios se apreciaron negros y promediaron 540,3 (450,0-675,0)  $\mu$ m de diámetro. Las células conidiógenas se observaron hialinas, de base ancha y adelgazadas hacia la punta, septadas, holoblasticas, raras veces ramificadas en la base y de 13,6 (12,0-16,0) x 3,9 (3,0-5,0)  $\mu$ m. Los conidios se presentaron inicialmente hialinos, luego de color marrón amarillento y posteriormente cambiaron a marrón oscuro; de pared celular gruesa y verrugosa en apariencia, ovales, piriformes, reniformes y elipsoidales, rectos y ligeramente curvados, aseptados cuando inmaduros, con ápice obtuso, base fuertemente truncada y de 39,8 (37,0-45,0) x 12,7 (11,0-16,0)  $\mu$ m. En cultivos viejos raras veces se visualizaron conidios pigmentados con dos o tres septos.

Los picnidios y conidios desarrollados en AAAP (Figuras 1 y 2) fueron morfológicamente semejantes a los producidos en PZA. A los 14 días de la siembra. Los picnidios del aislamiento Ss-98-02 tuvieron 446,0 (330,0-

540,0)  $\mu$ m de diámetro y en el interior se observaron conidios principalmente pigmentados y con hendiduras o huecos en la superficie de la pared celular que los hacía aparecer como verrugosos. Los conidios de los aislamientos Ss-98-02 (muerte regresiva), Ss-98-03 (quema en acículas), Ss-98-04 (cáncer en rama) y Ss-98-05 (cáncer en raíz) promediaron 41,2x13,3; 36,8x13,4; 35,7x13,4; y 40,6x13,9  $\mu$ m, respectivamente. Según estos datos hubo variaciones en la longitud, pero no en el ancho conidial; sin embargo, la morfología y las dimensiones de las estructuras reproductivas asexuales coincidieron con lo registrado en la descripción de Sutton (1980), lo cual permitió establecer que el hongo investigado es *S. sapinea* (Fr.: Fr.) Dyko & Sutton [= *Diplodia pinea* (Desmaz.) Kickx]. Este hongo ha sido ampliamente asociado con síntomas similares en coníferas, los cuales aparecen comúnmente señalados en la literatura como manifestaciones diversas de la enfermedad llamada "Deterioro progresivo" (Farr et al., 1989; Punithalingam y Waterston, 1970). En Venezuela, *S. sapinea* fue detectado por primera vez causando manchado azul en el tallo de pinos Caribe provenientes de Nirgua, estado Yaracuy (Mohali, 1997).

En función de las características de las colonias, la longitud de los conidios, la textura de la pared celular conidial y los patrones isoenzimáticos, los aislamientos de *S. sapinea* han sido separados en tres morfotipos denominados A, B (Palmer y Nicholls, 1985) y C (de Wet et al., 2000). Esta diferenciación fue establecida sobre la base de las características de las colonias, el tamaño y la textura de la pared celular de los conidios, y los patrones isoenzimáticos (de Wet et al., 2000; Swart et al., 1991; Wang y Blanchette, 1986; Wang et al., 1985). El morfotipo C fue reconocido recientemente (de Wet et al., 2000) en aislamientos provenientes de México e Indonesia. Los aislamientos del tipo A crecen más rápido que los B (Palmer et al., 1987) y, además, producen abundante micelio aéreo de aspecto veloso y color verde grisáceo; mientras que los B desarrollan micelio de color blanco u oscuro grisáceo fuertemente adherido a la superficie del sustrato. La superficie de la pared celular de los aislamientos A es lisa y la de los B presenta depresiones (Wang et al., 1985). La distinción morfométrica de los morfotipos ha sido confirmada con análisis de marcadores polimórficos del ADN amplifica-

dos al azar (RAPD) y de secuenciación de las regiones espaciadoras transcritas internas (ITS) del ADN ribosomal (Smith y Stanosz, 1995; Stanosz *et al.*, 1996; Swart *et al.*, 1991). Tomando en consideración, principalmente, las características de las colonias producidas en EMA y la textura de la pared celular de los conidios, los aislamientos objeto de investigación fueron identificados como miembros del morfotipo B.

Aunque los dos substratos utilizados en las pruebas de identificación del estudio que se reporta fueron apropiados, la preparación agar-acículas resultó ser la mejor, por cuanto a los 14 días de la siembra ya los picnidios tenían mayor cantidad de conidios pigmentados, lo cual facilita la observación de la textura de la pared celular. En atención a lo anterior, se sugiere normar el uso del AAAP como substrato estándar, a los fines de corregir la confusión existente en la información relacionada con la morfología y dimensiones de los conidios de *S. sapinea* (Swart *et al.*, 1991).

Las observaciones realizadas sugieren que la septación de los conidios pareciera no guardar relación con la pigmentación (madurez), por cuanto en cultivos viejos (30 días) en PZA, se observaron conidios pigmentados de marrón oscuro que no tenían septos y conidios hialinos (inmaduros) con septos. Apparentemente, las hendiduras que aparecen en la pared celular de los conidios del morfotipo B, sí tienen que ver con la madurez, por cuanto sólo pudieron ser apreciadas en conidios pigmentados. Al respecto, Swart *et al.* (1991) sugirieron investigar críticamente los posibles efectos de la madurez, temperatura y humedad, sobre la presencia o no de huecos en la pared celular de los conidios.

#### Pruebas de patogenicidad

Las pruebas de inoculación fueron exitosas y permitieron reproducir síntomas similares

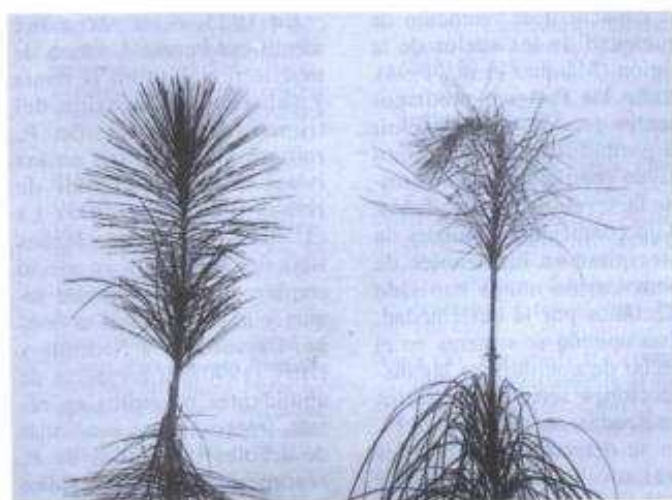


Figura 3. Síntoma de muerte de la punta en plántula inoculada con *Sphaeropsis sapinea* (derecha). Plántula testigo (izquierda).

a los observados en plantación. Tres semanas DDI, varias plántulas inoculadas en el tallo con gasa colonizada tenían el cogollo quemado y encorvado (Figura 3). Las acículas mostraban color marrón claro y durante todo el lapso de duración de las pruebas permanecieron adheridas a la punta. Cuando algunos tallos infectados fueron seccionados longitudinalmente, se comprobó que los tejidos del leño mostraban pigmentación azul y la médula estaba invadida por crecimiento micelial profuso (Figura 4). En las plántulas, cuyos tallos tenían mayor diámetro, el hongo sólo produjo lesiones cancerosas que no ocasionaron estrangulamiento.

En los tallos inoculados con discos de agar-micelio aparecieron lesiones cancerosas de color marrón y margen marrón rojizo, las cuales no causaron estrangulamiento. Al momento de dar por concluidas las pruebas de patogenicidad, las acículas de la punta no mostraban cambios aparentes. En los brotes inoculados con discos de agar-micelio, los primeros síntomas comenzaron a manifestarse a las dos semanas DDI. La infección se había extendido hasta 1 cm hacia la punta y hacia abajo, pero únicamente en el tercio inferior de la punta había

acículas muertas y moribundas. Dos semanas más tarde, todos los brotes tenían la punta encorvada y presentaban acículas muertas y moribundas. Las acículas del tercio inferior mostraban color marrón claro, mientras que las de tercios medio y superior se observaron de color verde pálido a verde grisáceo. A las 6 semanas DDI, las puntas estaban muertas y todas las acículas habían cambiado a marrón rojizo. Las puntas muertas tenían el aspecto que identifica el síntoma conocido en la zona afectada como "Fogonazo". Los tallos y brotes usados como testigo no desarrollaron síntomas de enfermedad. A partir de todos los materiales inoculados, se aisló exclusivamente *S. sapinea*, demostrándose que este hongo causa los mismos daños observados en los pinos Caribe de Anzoátegui y Monagas.

*S. sapinea* ha sido reconocido como un destructivo patógeno de especies coníferas en distintas partes del mundo (Blodgett *et al.*, 1997b; Chou, 1976a, 1976b, 1987; Currie y Toes, 1978; Márquez *et al.*, 1994; Peterson, 1977; Wingfield y Knox-Davis, 1980). En Nueva Zelanda, Australia y Sur Africa (Chou, 1976a, 1976b; Currie y Toes, 1978; Swart y Wingfield,



Figura 4. Sección longitudinal del tallo de la plántula infectada que aparece en la Figura 3. El leño presenta pigmentación azul y la médula se observa invadida por el micelio del *Sphaeropsis sapinea*.

1991; Zwolinski *et al.*, 1990a, 1990b), fue asociado con importantes daños económicos en especies exóticas de *Pinus*. Comúnmente ha sido calificado como un patógeno oportunista debido a que, por lo general, produce infección a través de heridas de origen mecánico o causadas por granizo, heladas o insectos y también en árboles con estrés provocado por déficit hídrico y alta densidad de plantación en suelos de condición nutricional pobre y drenaje rápido o invadidos por malezas (Bachi y Peterson, 1985; Blodgett *et al.*, 1997b; Chou, 1987; Chou y MacKenzie, 1988; de Wet *et al.*, 2000; Nicholls y Ostry, 1990; Punithalingam y Waterson, 1970; Waterman, 1943). Peterson (1977), sin embargo, reportó haber logrado infecciones exitosas sin la presencia de heridas, lo que contradice la opinión de que *S. sapinea* es estrictamente un patógeno que infecta tejidos lesionados.

El hongo ataca todos los órganos de *Pinus* spp., desde el estado de plántula hasta que se convierten en árboles

maduros (Blodgett *et al.*, 1997b; Wingfield y Knox-Davis, 1980). En plántulas de *Pinus resinosa* Aiton ha sido relacionado con quema en la punta de las acículas (Peterson, 1977), quema del cogollo y pudrición del cuello (Palmer y Nicholls, 1985; Stanosz y Cummings Carlson, 1996). En árboles causa muerte regresiva, quema del cogollo y de la punta de las ramas, marchitez de la corona, cáncer en troncos, ramas y raíces, quema de los brotes y manchado azul de la albura (Chou, 1987; Gibson, 1979; Mohali, 1997; Nicholls y Ostry, 1990; Punithalingam y Waterson, 1970; Stanosz y Cummings Carlson, 1996; Swart y Wingfield, 1991; Waterman, 1943).

Los daños ocurridos en las plantaciones de Anzoátegui y Monagas fueron relacionados con alteraciones climatológicas ocasionadas por el fenómeno atmosférico "El Niño", el cual ocurrió durante el lapso junio 96 - marzo 98, alcanzando su máxima expresión en junio 97 (Rigoberto Andressen, comunicación personal). Característicamente la presencia de "El Niño" ocasiona precipitaciones deficientes, aumentos en la temperatura y disminución de la humedad relativa. Es importante señalar que el déficit hídrico resulta en deficiencia nutricional, condición que probablemente aumentó la predisposición de los árboles a infección por *S. sapinea*. Igualmente conviene destacar que algunos de los rodales de pino Caribe tienen más de 20 años y que sólo en dos ocasiones coincidentes con periodos inmediatos posteriores a lapsos de insuficiencia hídrica (1987-88 y 1996-98), han ocurrido brotes severos de los síntomas descritos. Esta última información permitió concluir que el déficit hídrico fue el principal factor que favoreció el ataque de *S. sapinea* en las plantaciones de pino Caribe. Lo anterior conllevó a descartar, en el presente caso, la alta densidad de plantación, la pobreza nutricional y esca-

sa capacidad de retención de humedad de los suelos de la región (Márquez *et al.*, 1994), como los factores predisponentes primarios, sin excluir la posibilidad que los mismos hayan contribuido a incrementar la severidad de los daños. Bajo condiciones normales de precipitación los árboles de pino Caribe nunca han sido afectados por la enfermedad. Esta opinión se sustenta en el hecho de que durante las inspecciones aéreas y terrestres realizadas en julio de 1999, no se detectaron infecciones recientes y sólo se visualizaron cadáveres de árboles que habían muerto después del período de sequía prolongada. A causa de la reaparición de las lluvias por efectos de "La Niña" (junio 1998 - mediados de 2000), muchos de los árboles infectados lograron recuperarse y reanudar el crecimiento.

El estrés hídrico ha sido el factor más comúnmente relacionado con daños causados por *S. sapinea* en coníferas (Blodgett y Stanosz, 1995; Blodgett *et al.*, 1997a; Chou, 1987; Madar *et al.*, 1989; Nicholls y Ostry, 1990; Stanosz y Cummings Carlson, 1996). Los pinos responden al estrés hídrico cerrando los estomas y disminuyendo la tasa de muchos procesos fisiológicos (Blodgett *et al.*, 1997a), lo cual parece afectar la rapidez con que ocurre y se desarrolla la respuesta defensiva del hospedante a la colonización por *S. sapinea*. En *P. resinosa* el estrés hídrico resultó en menor flujo de resina (Blodgett *et al.*, 1997a), indicando una disminución en el potencial del hospedante para inhibir física y químicamente el patógeno. En una plantación de 9 años de *P. radiata* (Chou, 1987), la alta incidencia de marchitez de la corona, a causa de la infección del tronco por *S. sapinea* fue asociada con sequía prolongada, ya que en condiciones normales de precipitación los árboles de esta especie siempre se mostraron resistentes al ataque de este patógeno.

En 1975, *S. sapinea* fue identificado como la causa de muerte regresiva en la punta y subsecuente invasión del tronco de árboles de *P. radiata* y *P. pinaster* en las islas Molokai y Lanai de Hawaii (Bega *et al.* 1978). La extensiva invasión en ambas islas fue atribuida a un efecto combinado de 3-4 años de sequía y la invasión por el hongo. De acuerdo a Nicholls y Ostry (1990), la presencia de abundantes picnidios en ramas, troncos, conos y acículas de árboles infectados de *P. resinosa* y *P. banksiana* Lamb., constituyeron evidencia del potencial de *S. sapinea* para alcanzar rápidamente niveles epidémicos, cuando las condiciones ambientales favorecen la infección y el desarrollo de la enfermedad.

#### REFERENCIAS

- Bachi PR, Peterson JL (1985) Enhancement of *Sphaeropsis sapinea* stem invasion of pine by water deficits. *Plant Dis.* 69: 798-799.
- Bega RV, Smith Jr. RS, Martinez AP, Davis CJ (1978) Severe damage to *Pinus radiata* and *P. pinaster* by *Diplodia pinea* and *Lophodermium* spp. on Molokai and Lanai in Hawaii. *Plant Dis. Repr.* 62: 329-331.
- Blodgett JT, Stanosz GR (1995) *Sphaeropsis sapinea* and host water stress in a red pine plantation in central Wisconsin. (Abstr.) *Phytopathology* 85: 1044.
- Blodgett JT, Kruger EL, Stanosz GR (1997a) Effects of moderate stress on disease development by *Sphaeropsis sapinea* on red pine. *Phytopathology* 87: 422-428.
- Blodgett JT, Kruger EL, Stanosz GR (1997b) *Sphaeropsis sapinea* and water stress in a red pine plantation in Central Wisconsin. *Phytopathology* 87: 429-434.
- Chou CKS (1976a) A shoot dieback in *Pinus radiata* caused by *Diplodia pinea*: I. Symptoms, disease development and isolation of pathogen. *N. Z. J. For. Sci.* 6: 72-79.
- Chou CKS (1976b) A shoot dieback in *Pinus radiata* caused by *Diplodia pinea*. II. Inoculation studies. *N. Z. J. For. Sci.* 6: 409-420.
- Chou CKS (1987) Crown wilt of *Pinus radiata* associated with *Diplodia pinea* infection of woody stems. *Eur. J. For. Path.* 17: 398-411.
- Chou CKS, MacKenzie M (1988) Effect of pruning intensity and season on *Diplodia pinea* infection of *Pinus radiata* stem through pruning wounds. *Eur. J. For. Pathol.* 18: 437-444.
- Currie D, Toes D (1978) Stem volume loss due to severe *Diplodia* in a young *Pinus radiata* stand. *N. Z. J. For.* 23: 143-148.
- de Wet J, Wingfield MJ, Coutinho TA, Wingfield BD (2000) Characterization of *Sphaeropsis sapinea* isolates from South Africa, Mexico and Indonesia. *Plant Dis.* 84: 151-156.
- Farr DF, Bills GF, Chamuris GD, Rossman AY (1989) *Fungi on plants and plant products in the United States*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 1252 pp.
- Gibson IAS (1979) *Diseases of forest trees widely planted as exotics in the tropics and southern hemisphere. Part II. The genus Pinus*. Commonw. Mycol. Inst., Kew, Surrey, England. 135 pp.
- Hodges CS (1983) Pine mortality in Hawaii associated with *Botryosphaeria dothidea*. *Plant Dis.* 67: 555-556.
- Holmquist O (1990) El síndrome de la muerte súbita del pino caribe. *Celulosa y Papel de Venezuela* 3: 9-12.
- Madar Z, Solel Z, Kimchi M (1989) Effect of water stress in cypress on the development of cankers caused by *Diplodia pinea* f. sp. *cupressi* and *Seiridium cardinale*. *Plant Dis.* 73: 484-486.
- Márquez O, Hernández Gil R, Franco W, Visaez F (1994) Factores edáficos y estado nutricional de plantaciones de *Pinus caribaea* en relación a la muerte regresiva en Uverito, estado Monagas. *Venezuelas* 2: 15-18.
- Mohali, S (1997) Primer reporte en Venezuela de *Sphaeropsis sapinea*, agente causal del manchado azul en pino Caribe. *Fitopatol. Venez.* 10: 23.
- Nicholls TH, Ostry ME (1990) *Sphaeropsis sapinea* cankers on stressed red and jack pines in Minnesota and Wisconsin. *Plant Dis.* 74: 54-56.
- Palmer MA, Nicholls TH (1985) Shoot blight and collar rot of *Pinus resinosa* caused by *Sphaeropsis sapinea* in forest tree nurseries. *Plant Dis.* 69: 739-740.

- Palmer MA, Stewart EL, Wingfield MJ (1987) Variation among isolates of *Sphaeropsis sapinea* in the north central United States. *Phytopathology* 77: 944-948.
- Peterson GW (1977) Infection, epidemiology, and control of Diplodia blight of Austrian, ponderosa, and Scots pines. *Phytopathology* 67: 944-948.
- Peterson, GW, Wysong DS (1968) Diplodia tip blight of pines in Central Great Plains: Damage and control. *Plant Dis. Repr.* 52: 359-360.
- Punithalingam E, Waterston JM (1970) *Diplodia pinea*. *Descriptions of plant pathogenic fungi and bacteria* N° 2. Commonw. Mycol. Inst., Kew, Surrey, England.
- Smith DR, Stanosz GR (1995) Confirmation of two distinct populations of *Sphaeropsis sapinea* in the north central United States using RAPDs. *Phytopathology* 85: 699-704.
- Stanosz GR, Cummings Carlson J (1996) Association of mortality of recently planted seedlings and established saplings in red pine plantations with *Sphaeropsis collar* rot. *Plant Dis.* 80: 750-753.
- Stanosz GR, Smith DR, Guthmiller MA (1996) Characterization of *Sphaeropsis sapinea* from the west central United States by means of random amplified polymorphic DNA marker analysis. *Plant Dis.* 80: 1175-1178.
- Sutton BC (1980) *Sphaeropsis sapinea*. En *The Coelomycetes, fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata*. Commonw. Mycol. Inst., Kew, Surrey, England. pp. 120-121.
- Swart WJ, Wingfield MJ (1991) Biology and control of *Sphaeropsis sapinea* on Pinus species in South Africa. *Plant Dis.* 75: 761-765.
- Swart WJ, Wingfield MJ, Palmer MA, Blanchette RA (1991) Variation among South African isolates of *Sphaeropsis sapinea*. *Phytopathology* 81: 489-493.
- Wang CG, Blanchette RA (1986) Ultrastructural aspects of the conidium cell wall of *Sphaeropsis sapinea*. *Mycologia* 78: 960-963.
- Wang CG, Blanchette RA, Jackson WA, Palmer MA (1985) Differences in conidial morphology among isolates of *Sphaeropsis sapinea*. *Plant Dis.* 69: 838-841.
- Wingfield MJ, Knox-Davis PS (1980) Association of *Diplodia pinea* with a root disease of pines in South Africa. *Plant Dis.* 64: 221 - 223.
- Waterman AM (1943) *Diplodia pinea*, the cause of a disease of hard pine. *Phytopathology* 33: 1018-1031.
- Zwolinski JB, Swart WJ, Wingfield MJ (1990a) Intensity of dieback induced by *Sphaeropsis sapinea* in relation to site conditions. *Eur. J. For. Pathol.* 20: 167-174.
- Zwolinski JB, Swart WJ, Wingfield MJ (1990b) Economic impact of post-hail outbreak of dieback induced by *Sphaeropsis sapinea*. *Eur. J. For. Pathol.* 20: 405-411.

Ahora usted puede efectuar  
su pago de suscripción, separatas o pago por página,  
por medio de VISA ó MASTER CARD.

Simplemente envíenos su nombre y dirección,  
número y fecha de vencimiento  
a nuestra dirección:

INTERCIENCIA  
Apartado 51842,  
Caracas 1050-A, Venezuela.

interciencia@ivic.ve

www.interciencia.org