

TRAMETES VERSICOLOR (L.:FR.) PILÁT CAUSANTE DE LA PUDRICIÓN BLANCA DEL MANZANO

CECILIO MENDOZA-ZAMORA¹, HÉCTOR LOZOYA-SALDAÑA², MANUEL ROSAS-ROMERO³ & EVANGELINA PÉREZ-SILVA⁴

¹Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, Edo. de México.

²PICTIPAPA. Apartado Postal 2-2, Conjunto SEDAGRO; Metepec, Edo. de México. 52142.

³Peto México Internacional, S.A. de C.V. Río Juárez 1774, Col. El Rosario, Guadalajara. Jal. 44890.

⁴Laboratorio de Micología. Instituto de Biología. UNAM. A.P. 70-233. Coyoacán. 04510. México, D.F.

ABSTRACT

TRAMETES VERSICOLOR (L.:FR.) PILÁT CAUSAL AGENT OF APPLE TREES WHITE ROT, Rev. Mex. Mic. 15: 49-58 (1999). The causal agent of apple white rot was isolated from stems, branches, roots and basidiocarps on potato-dextrose-agar and malt-agar culture media, and inoculated by various methods on young apple trees under greenhouse conditions and on sterilized wood sections under laboratory conditions. Based on the characteristics of the basidiocarps, mycelium growth *in vitro*, phenoloxidase production on malt-agar, and the absorbancy detection of these enzymes under the spectrophotometer, the fungus was identified as *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát (*Polyporus versicolor* L.:Fr. y *Coriolus versicolor* (L.:Fr) Quél). Disease symptoms included papery bark, white rot and death of trees. It was widely distributed in Zacatlán and Libres, Puebla and in Huayacocotla, Veracruz with up to 90% incidence in orchards more than 35 years old with deficient management.

Key words: *Polyporus versicolor*, white rot, incidence, phenoloxidases, apple trees.

RESUMEN

El agente causal de la pudrición blanca del manzano se aisló de tallos, ramas, raíces y basidiocarpos y fue cultivado en papa-dextrosa-agar y en malta-agar e inoculado por diversos métodos en invernadero a árboles jóvenes y en el laboratorio sobre rodajas de madera esterilizadas. Con base en las características del basidiocarpo, crecimiento del micelio *in vitro*, de la producción externa de fenoloxidasas en malta-agar, y de su detección por espectrofotometría se identificó al hongo como *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát (*Polyporus versicolor* L.:Fr. y *Coriolus versicolor* (L.:Fr) Quél). Los síntomas de la enfermedad incluyeron corteza papelosa, pudrición blanca y muerte de los árboles. Se encontró ampliamente distribuida en Zacatlán y Libres, Puebla y Huayacocotla, Veracruz con incidencia de hasta 90% en plantaciones mayores de 35 años de edad y con manejo deficiente.

Palabras clave: *Polyporus versicolor*, pudrición blanca, incidencia, fenoloxidasas, manzano.

Introducción

Las zonas productoras de manzana del Estado de Puebla representan el 12.6% de la superficie cultivada a nivel nacional, pero su producción promedio en 1991 representó sólo el 4.7% del total. (INEGI, 1994). En Puebla la principal región productora es Zacatlán, donde se cultivan 3,680 ha, seguida por la región de Libres donde la superficie está representada por 2,486 ha en promedio, principalmente de la variedad Rayada Starking. En estas regiones la producción es baja y de mala calidad debido a un manejo deficiente de el cultivo, aunado a condiciones ambientales favorables para el desarrollo de diversas enfermedades.

En Zacatlán, Puebla y en Huayacocotla, Veracruz, los principales patógenos de las partes aéreas del manzano son: *Venturia inaequalis*, *Podosphaera leucotricha*, *Erwinia amylovora*, *Corticium koleroga*, *Nectria cinnabarina* y *Valsa* spp., entre otros (Mendoza, 1993; Jiménez, 1989). Sin embargo, desde hace algunos años, se han observado árboles con síntomas de corteza papelosa y muerte regresiva de ramas, acompañadas de una pudrición blanca de la madera en ramas, tronco y raíces, que provoca la muerte de estas partes o de toda la planta; con frecuencia en los tejidos muertos se observan basidiocarpos, que por sus características morfológicas puede considerarse como una especie del género *Trametes* (= *Coriolus* = *Polyporus*).

Considerando que en diversas zonas manzaneras de México y especialmente en la región de Zacatlán y Libres, Puebla y Huayacocotla, Veracruz se han observado con frecuencia síntomas similares a los reportados por diversos autores (Wade, 1968; Darbyshire *et al.*, 1969; Kile, 1976; Dilley & Covey, 1980; Covey *et al.*, 1981; Dilley & Covey, 1981; Bergdahl & French, 1985; Covey, 1990) y que la enfermedad conocida como pudrición blanca de tallo y ramas del manzano se encuentra ampliamente distribuida en las regiones señaladas, y su incidencia y diseminación va en aumento provocando grandes pérdidas en plantaciones establecidas y en los replantes o plantaciones nuevas. La presente investigación se realizó con el objeto de: 1. Identificar al agente causal de la pudrición blanca del manzano y 2. Determinar su distribución e incidencia en tres regiones productoras con condiciones climáticas similares.

Materiales y métodos

Zonas de estudio. Este estudio se realizó en los municipios de Zacatlán y Libres en el estado de Puebla y Huayacocotla, Ver. Zacatlán está ubicado en la parte noroeste media del estado, entre los paralelos 19° 50' y 20° 18' de latitud norte y entre los meridianos 97° 55' y 98° 12', con una altitud de 2045 a 2200 msnm; el municipio de Libres se ubica a los 19° 30' de latitud norte y 97° 41' de longitud oeste, a una altitud de 2442 msnm. Huayacocotla, se localiza al noroeste del estado de Veracruz, región donde predominan dos climas, el templado subhúmedo en verano con temperatura media anual de 12 a 13°C y la precipitación media anual de 700 a 1500 mm, y el clima templado con temperatura media anual de 12 a 18°C y precipitación media anual de 1500 a 1800 mm (García, 1978).

Recolecta y aislamiento. Para determinar la etiología, se muestreó a partir de febrero de 1994 en forma dirigida árboles de la var. Rayada Starking de diferentes edades en los sitios más representativos de las regiones, recolectándose ramas, tallos y raíces con síntomas, y esporocarpos o basidiocarpos encontrados en los tejidos afectados, y se describió el avance de los síntomas en campo. El material recolectado se colocó en bolsas de polietileno y se trasladó al Laboratorio de Micología del Depto. de Parasitología de la Universidad Autónoma Chapingo. Los aislamientos se hicieron en papa-dextrosa-agar (PDA) y malta-agar (MA). Para tal fin se lavaron las partes enfermas, se les eliminó la corteza y se cortaron trocitos de aproximadamente 0.5 x 1.0 cm,

los que a su vez se lavaron nuevamente con agua destilada estéril y se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% (P.C.); también se hicieron aislamientos directos a partir de las capas miceliales presentes bajo la corteza de tallos, ramas y raíces atacadas, así como de los basidiocarpos asociados con el síntoma; además, se hicieron aislamientos del suelo cercano a las raíces dañadas, colocando partículas de suelo en agua-agar y en los medios de cultivo antes citados. Las cajas de Petri inoculadas con material para los aislamientos se incubaron en condiciones de luz y temperatura de laboratorio; las colonias de hongos que se desarrollaron se purificaron una semana después para eliminar contaminantes.

También se colocaron trozos de tallos, ramas y raíces dañadas en cámara húmeda (charolas con algodón humedecido y cubiertas con polietileno transparente) para observar el crecimiento del hongo bajo esas condiciones. Además, en invernadero, en una caja de lámina 40 x 70 x 40 cm se introdujeron raíces, tallos y ramas infectadas, y fueron semicubiertas con tierra esterilizada, la cual se humedeció cada ocho días para promover la formación de basidiocarpos.

Una vez que se obtuvieron los cultivos puros de los aislamientos *in vitro*, se compararon los cultivos provenientes de tallos, ramas, raíces, capas miceliales, suelo y basidiocarpos para determinar si había uniformidad, sobre todo con los provenientes de basidiocarpos. Posteriormente se incrementó el inóculo para probar la patogenicidad de los aislamientos.

Pruebas de patogenicidad. Arbolitos de aproximadamente 1 año de edad de la var. Rayada Starking se inocularon de las siguientes maneras: a) se hizo una incisión en el tallo a una altura de 10 cm (en el portainjertos), después se colocó un trocito de PDA o MA con micelio, se humedeció la herida y se selló con parafilm; los arbolitos inoculados se mantuvieron en una cámara húmeda (80% H.R.) por ocho días; b) se realizó en el injerto una incisión a 30 cm del suelo y el resto del proceso fue igual al del método anterior; c) se hicieron heridas en cuello y raíz con una aguja de disección esterilizada y se inocularon con el medio de cultivo invadido por micelio del hongo licuado con 100 ml de agua por cada caja de petri. El inóculo se depositó en el suelo contenido en la bolsa donde se encontraba el árbol a inocular, se cubrió con una capa de tierra de 2 cm e inmediatamente se regó hasta saturar, repitiéndose el riego cada 72 horas durante 9 días; d) se hizo una incisión en el portainjertos y en esa herida se colocó un trocito de basidiocarpo fresco de

Trametes recolectado en campo, asociado con el síntoma de pudrición blanca y corteza papelosa; se cubrió la herida con parafilm y se mantuvo a una humedad relativa de aproximadamente 80% durante 8 días. Dos meses después de la inoculación, se describieron los síntomas que aparecieron en los árboles; e) de ramas de manzano de 9 cm de diámetro se cortaron rodajas de 3 cm de espesor, a las cuales se les hicieron unas perforaciones con un taladro de 9 mm de diámetro y 1.5 cm de profundidad. Posteriormente se esterilizó la madera en el autoclave y en los orificios se insertaron trocitos de 1.2 cm de largo por 7 mm de diámetro de una vara de madera de pino esterilizados, los cuales fueron colonizados previamente con el hongo en MA; después de inoculadas, las rodajas se mantuvieron en cámara húmeda por 1.5 meses y una vez que se observó colonización de las rodajas se hicieron reaislamientos del hongo. En todos los casos se mantuvo un testigo sin inocular.

Identificación. Del micelio que se obtuvo *in vitro* se hicieron preparaciones permanentes para medir el diámetro de 50 hifas; también se hicieron cortes de los basidiocarpos para medir el diámetro y longitud de los poros (100 mediciones), se contabilizó el número de poros por mm² (en 50 conteos) y se midieron basidiocarpos provenientes de diferentes árboles.

El hongo reaislado consistentemente de los aislamientos originales y de la madera inoculada, y que presentó un crecimiento blanco *in vitro*, se identificó con las claves de Nobles (1965) considerando la prueba de producción externa de oxidasas, las características del micelio y su crecimiento.

La especie del hongo también se identificó a través de la determinación de la acción enzimática de acuerdo al método de Davidson *et al.* (1938) basado en la producción externa de fenoloxidasas, mediante la adición de ácido tánico (0.5% p/v) al medio MA. Otra prueba para determinar la especie fue por medio de espectrofotometría, utilizando los sustratos 1-naftol a 6.4 mM, Guayacol a 0.001 M y catecol a 40 mM y una solución amortiguadora de fosfato de sodio 0.1 M con pH de 5.5 y extractos centrifugados (2000 g por 5 min a 2°C) de crecimiento fungoso en MA, de madera infectada (raíz, tallo, corteza y ramas), así como de suelo, de acuerdo a la metodología de Kent y Kelman (1965); como testigo se usó suelo y madera esterilizada y medio de cultivo MA sin inocular. La medición de la absorbancia para cada una de las 10 repeticiones en cada sustrato, se hizo en un espectrofotómetro Varian Techtron®

Mod. 635. Para guayacol y catecol se mezcló 1 ml de sustrato con 1 ml de agua destilada estéril y a esto se adicionaron 3 ml de solución amortiguadora; enseguida, se agregó 1 ml de extracto. La absorbancia se midió a 465 nm para guayacol y a 395 nm para catecol. Para el caso del sustrato 1-naftol, se mezcló 1 ml con 4 ml de solución amortiguadora, agregándose 1 ml de extracto y la absorbancia se midió a 525 nm.

Los basidiocarpos asociados con la pudrición blanca y corteza papelosa, recolectados en campo y los producidos en invernadero provenientes de madera infectada se identificaron con las claves y descripciones de Fergus (1960), Guzmán (1977), Gilbertson & Ryvarden (1987), y Ryvarden (1991) considerando tamaño y características morfológicas.

Incidencia. Para determinar la incidencia se muestrearon al azar en el municipio de Huayacocotla, Ver. seis huertos, en Libres, Pue. tres y en Zacatlán, Pue. seis, considerando la totalidad de árboles de algunas plantaciones con superficie pequeña, o el 20% del total de árboles de la plantación; se consideró en todos los casos árboles con síntomas iniciales (marchitamientos y presencia de pudrición blanca y corteza papelosa), síntomas avanzados (ramas muertas con síntomas típicos) y árboles muertos con presencia de basidiocarpos y/o síntomas de pudrición blanca y corteza papelosa. Para definir la distribución se recorrió gran parte del área manzanera y se reconoció la presencia de la enfermedad por los síntomas típicos que produce.

Resultados y discusión

Síntomas y aislamientos. En la var. Rayada Starking el aspecto general de los árboles afectados es un amarillamiento parcial o total y follaje más escaso, las hojas presentan decoloración y marchitez, contrastando notablemente con los árboles sanos; posteriormente, se presentan defoliaciones y nuevas brotaciones foliares, las cuales son ligeramente más pequeñas, más cloróticas y más escasas; después el árbol o la rama atacada muestra una muerte descendente hasta un secamiento completo. En la corteza de las ramas y tallos gruesos se observan pequeñas cuarteaduras longitudinales que al crecer provocan que se formen canchales, y se observen capas blancas de micelio; en las ramas más delgadas, inicia el síntoma como un ampollamiento, y al levantarse la capa exterior de la corteza se separa de la capa interior y deja ver pequeños o grandes abolsamientos o ampollamientos; posteriormente, se rompe la corteza exterior o epidermis quedando levantada y enroscada hacia atrás, síntoma que es conocido como

corteza papelosa (Fig. 1a), y que coincide con lo reportado por Covey (1990). Al levantar la corteza, principalmente de tallos o ramas gruesas, se notan extensas capas de micelio blanco, y al disectar esas ramas se observa la madera de un color blanquecino o café muy claro, dependiendo del grado de desarrollo de la infección, hasta llegar a tener un color casi blanco (pudrición blanca) y de apariencia porosa. Estos síntomas de corteza papelosa, muerte descendente y pudrición blanca coinciden con las descripciones que hacen Darbyshire *et al.* (1969), Dilley & Covey (1980 y 1981), Covey *et al.* (1981) y Bergdahl & French (1985), para el hongo *Trametes versicolor*. (L.:Fr.) Pilát, cuyos sinónimos son *Coriolus versicolor* (L.:Fr) Quéll. y *Polyporus versicolor* L.:Fr.

Además, con frecuencia al disectar la madera, se observan líneas finas de color negro (Fig. 1b) que circundan o separan áreas blanquecinas de otras café claro o también blanquecinas, lo cual en un corte longitudinal da la apariencia de columnas de madera decolorada y de acuerdo con Williams *et al.* (1981) *Polyporus versicolor* es la única especie de hongo que causa pudrición blanca y presenta dos grupos de compatibilidad (cepas dicarióticas y cepas monocarióticas), las cuales al encontrarse en un mismo trozo de madera, forman en el punto de contacto, líneas de color café-oscuro a negro de 1 mm de grosor, al no poderse mezclar las hifas, debido a la generación de sustancias oxidativas no enzimáticas, causantes de depolimerización en la madera y que causan la inhibición del crecimiento micelial entre las cepas. Por esto y lo observado, se deduce que la misma rama o tronco puede ser infectado por dos cepas del hongo que, al encontrarse y por incompatibilidad entre ellas (antagonismo intraespecífico), forman las líneas negras típicamente producidas por *T. versicolor*, lo que también coincide con lo reportado por Rayner & Todd (1977), y es útil para diferenciar la especie cuando se da el caso de infecciones múltiples; lo cual también se observó al inocular trozos de madera (Fig. 2b).

Asimismo, bajo la corteza se pueden apreciar capas miceliales de color blanco intenso (Fig. 1c) y una vez que la rama o el árbol han muerto, y si existe suficiente humedad relativa, lo cual sucede en Zacatlán de agosto a septiembre, se forman externamente basidiocarpos en la corteza (Fig. 1d).

En las partes externas de las raíces dañadas se observan áreas café oscuro y bajo la corteza capas de micelio blanco. Dichas raíces, al igual que las partes aéreas atacadas, muestran deshidratación y pérdidas de peso, llegando a quedar completamente

porosas (Fig. 1e) y si están expuestas se aprecia la formación de basidiocarpos (Fig. 1f) morfológicamente iguales a los producidos en la parte aérea.

De tallos, ramas y raíces con los síntomas descritos, y de capas de micelio y basidiocarpos se logró aislar en PDA y MA consistentemente a un hongo de micelio blanco afelpado, denso y aplanado, con fíbulas y algunas clamidosporas, y por el reverso de la caja de Petri mostró una coloración ligeramente amarillenta; este hongo, en condiciones de luz y temperatura de laboratorio, logra llenar la caja Petri entre 12 y 14 días. En ambos medios de cultivo el crecimiento es abundante y similar. Para tener un crecimiento *in vitro* comparativo, se consideró el aislamiento obtenido de basidiocarpo y de las capas de micelio blanco, los cuales fueron idénticos, y al compararlos con los provenientes de tallos, ramas y raíces enfermas, todos presentaron las mismas características de crecimiento y color (Fig. 2a).

Del suelo también se aisló en agua-agar (AA) y se transfirió a MA obteniéndose también un hongo con las mismas características que mostraron los aislamientos de las partes aéreas y basidiocarpo, pero se aisló con menor frecuencia.

En cámaras húmedas, se desarrollaron capas de micelio blanco, del cual se aisló y se obtuvieron también colonias de color y densidad similar a las obtenidas en los aislamientos directos. En invernadero, de los trozos de madera dañada en campo, se lograron producir algunos basidiocarpos, en 42 a 48 días; de ellos se aisló un hongo similar al obtenido anteriormente.

Pruebas de patogenicidad. Los síntomas de la enfermedad se reprodujeron introduciendo en una incisión de la corteza del árbol, un trozo de medio de cultivo con micelio del hongo a una altura de 10 y 30 cm (en el portainjerto e injerto respectivamente). Se presentó una defoliación a los dos meses, con nuevas y posteriores rebrotaciones menos abundantes, muerte descendente y pequeñas capas miceliales bajo la corteza a los 3 y 4 meses después de la inoculación. No se formaron basidiocarpos; sin embargo, se logró el reaislamiento, coincidiendo éste con las características del inóculo original.

La inoculación en rodajas de madera esterilizada produjo un crecimiento rápido del hongo con el característico color blanco (Fig. 2b); pero que tardó aproximadamente 45 días en cubrir todo el trozo de madera, de donde se reaisló un hongo similar al inoculado y a los aislamientos originales provenientes de madera, micelio y basidiocarpo.



Fig. 1. *Trametes versicolor*. (a) Síntomas de corteza papelosa. (b) Corte longitudinal de una rama, observándose líneas negras características de infecciones múltiples. (c) Capas de micelio blanco bajo la corteza. (d) Grupo de basidiocarpos en formación en una rama. (e) Raíz porosa por ataque de *T. versicolor*. (f) Basidiocarpos formados en una raíz.

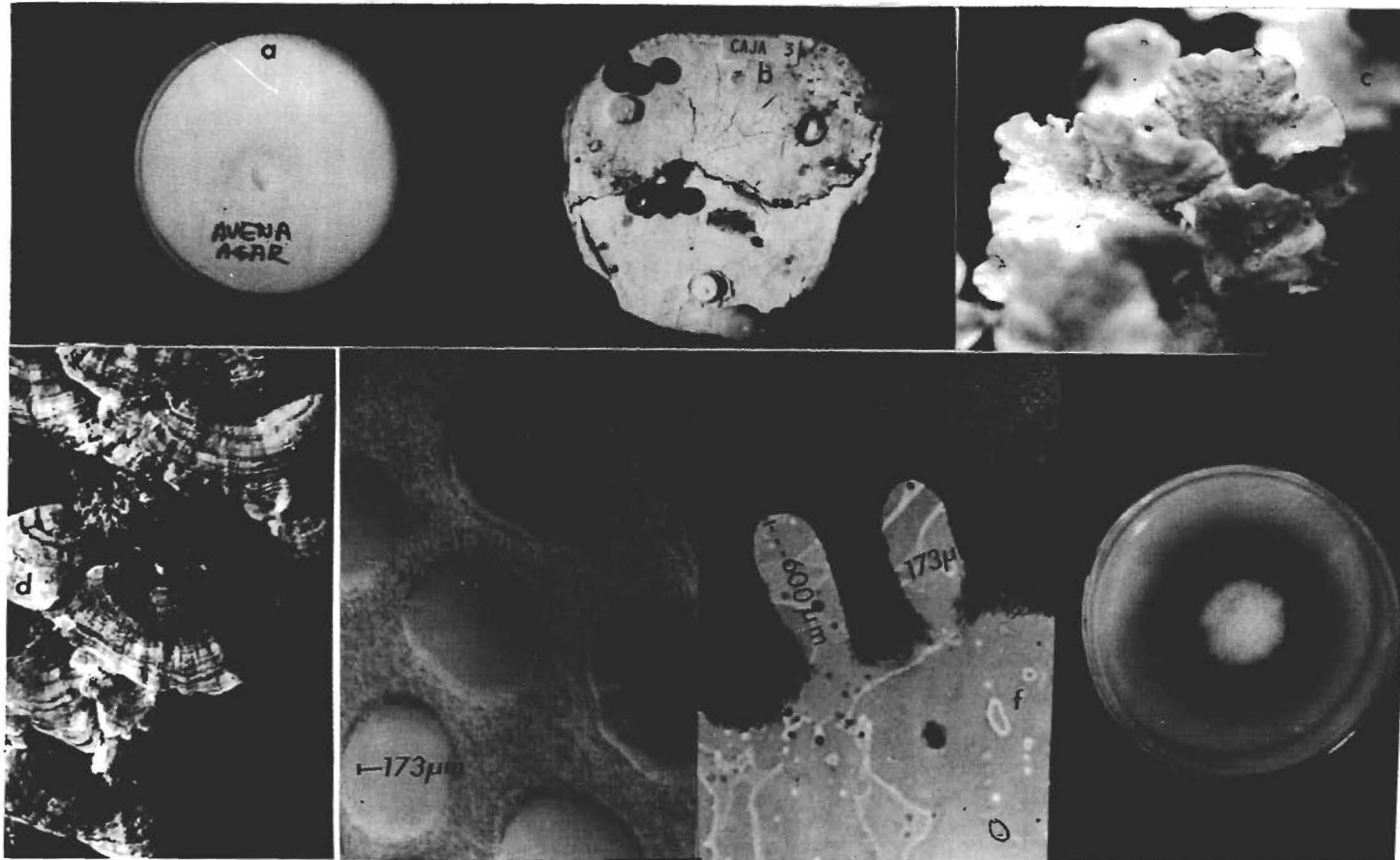


Fig. 2. *Trametes versicolor*. (a) Crecimiento micelial blanco *in vitro*. (b) Rodajas de madera inoculada con varias cepas del hongo. (c) Superficie inferior del basidiocarpio mostrando numerosos poros y coloración blanquecina. (d) Superficie superior aterciopelada de basidiocarpos en una rama, mostrando zonas concéntricas de varios colores. (e) Dimensiones promedio de los poros redondeados u ovals. (f) Profundidad de diámetro de poros del basidiocarpio (g) Prueba positiva de producción de fenoloxidasas en medio de cultivo Malta-Agar.

Identificación.

Morfología de los basidiocarpos. Las características de los basidiocarpos recolectados en campo de árboles con síntomas típicos de pudrición blanca y corteza papelosa son las siguientes: en grupos, anuales, en forma de repisa, aplanados, semicirculares, sésiles, primero de consistencia blanda y flexible, algo brillosos, posteriormente, se tornan coriáceos o leñosos; a veces ligeramente ondulados en sus márgenes que son más claros y más delgados; el grosor de los basidiocarpos es menor a 5 mm, con medidas promedio de 3.6 cm de ancho x 1.92 cm de alto, y con rangos extremos desde 1 a 6 cm de ancho x 1 a 3.5 cm de alto, lo cual coincide con lo reportado por Sepúlveda (1966), quien indica que el tamaño de los basidiocarpos es variable dependiendo de la estación del año, siendo más pequeños en verano y más grandes en otoño. Presentan abundantes poros en la superficie inferior, siendo primero de color blanco y posteriormente de amarillo a café claro (Fig. 2c); la superficie superior es aterciopelada, con zonas concéntricas de diversos colores, desde el grisáceo, gris-amarillento, gris-azuloso o verdoso, café rojizo o café anaranjado hasta el azul negruzco (Fig. 2d), descripción que coincide con la de Fergus (1960), Guzmán (1977), Gilbertson y Ryvardeen (1987) y Manion (1991) para el hongo *T. versicolor*. Este hongo presenta 5 poros por mm², blancos, lisos, redondeados o ligeramente ovales (Fig. 2e, f) midiendo de 200 - 173 µm de diámetro, poros con una longitud de 850 µm en la parte media del esporocarpo y 600 µm en el tercio externo. Las descripciones anteriores concuerdan con las de Sepúlveda (1966), Guzmán (1977) y Gilbertson y Ryvardeen (1987) y para el hongo *T. versicolor* (*P. versicolor* y *C. versicolor*). Con base en los síntomas y características de los basidiocarpos, el hongo asociado a la pudrición blanca del manzano en Zacatlán y Libres, Pue. y Huayacocotla, Ver., se identifica como *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát.

Morfología micelial y prueba de fenoloxidasas. *T. versicolor* produce micelio blanco, afelpado, con ocasionales fibulas y a veces clamidosporas; sus hifas son de hialinas a blanquecinas y miden en promedio 3 µm de diámetro, presenta septos nudosos y ramas laterales cortas, sin formar estructuras reproductivas en el medio de cultivo. Características que coinciden con las reportadas por Nobles (1965) y Gilbertson y Ryvardeen (1987) para la misma especie, por lo cual se concluye que este patógeno es el causante de la pudrición blanca del manzano en Zacatlán y Libres, Pue. y Huayacocotla, Ver., aunque se desconocen las causas que predisponen a la enfermedad.

Para confirmar la identificación se determinó la producción de fenoloxidasas de acuerdo al procedimiento de Davidson *et al.* (1938), la reacción fue positiva, presentándose una zona de difusión café obscura a rojiza oscuro (Fig. 2g), extendiéndose a una corta distancia del margen del micelio; el crecimiento de la colonia a los siete días estuvo en el rango de 30-50 mm y se ubicó en el grupo 6 indicado por Davidson *et al.* (1938), corroborándose así la identificación de *T. versicolor* (*P. versicolor* o *C. versicolor*).

Absorbancia. Se detectó la actividad de las enzimas fenoloxidasas variando el valor de la longitud de onda absorbida, obteniéndose los valores más altos con los extractos de medio de cultivo para los tres sustratos, seguido de los extractos de madera y de suelo (Cuadro 1), lo cual coincide con los valores de absorbancia dados por Kent & Kelman (1965) para *C. versicolor*.

La variación en los valores de los extractos está determinada por la concentración de la enzima, la cual influye en la velocidad de la reacción con el sustrato. La detección de una enzima está directamente relacionada con su especificidad hacia un sustrato; las enzimas fenoloxidasas tienen la capacidad de oxidar fenoles simples y transformarlos a quinonas y estos sustratos tienen a su vez la capacidad para activar dichas enzimas (Pelczar *et al.*, 1994). Según lo indica Bendall y Gregory (1963), el complejo enzimático tiene una mayor afinidad por el catecol (395 nm) que por el guayacol (465 nm) y que por el 1-naftol (525 nm).

Incidencia. La incidencia es muy variable, 0% en plantaciones jóvenes de 3-6 años, 15% en árboles de 10-12 años, 10% en árboles de 15-18 años, 22% en árboles de 25-30 años; mientras que para plantaciones de 20-25 años se encontró mayor variación según la región ya que en Libres, Pue. se encontró una incidencia de 50% mientras que en Huayacocotla, Ver. se detectó sólo 11.7%, ya que en este huerto se notaba un mejor manejo del cultivo. En general al incrementarse la edad aumenta la incidencia, de ahí que las incidencias mayores se observaron en árboles con edades superiores a los 35 años (Cuadro 2). Lo cual concuerda con lo reportado por Dilley y Covey (1980) quienes indican que la muerte regresiva en el estado de Washington se presenta normalmente en

Cuadro 1. Valores de absorbancia a diferentes longitudes para la detección de fenoloxidasas en diferentes sustratos.

Sustrato y longitud de Onda	Extracto de madera	Extracto de medio de Cultivo	Extracto de suelo
Catecol (395 nm)	0.170	0.202	0.041
Guayacol (465 nm)	0.059	0.063	0.001
1-naftol (525 nm)	0.105	0.189	0.008

Cuadro 2. Incidencia de síntomas de pudrición blanca observada en 1994 y 1995 en los 3 sitios de muestreo.

Localidad	Fecha	Número de árboles muestreados	Edad (años)	Árboles con síntomas	Incidencia (%)
Huayacocotla, Ver.					
Viborillas	Junio 1994	50	25-30	11	22.0
Viborillas	Junio 1994	167	30-35	45	26.9
Huayacocotla I	Junio 1994	145	20-25	17	11.7
Huayacocotla II	Junio 1994	25	30-35	10	40.0
Huayacocotla III	Junio 1994	54	>35	48	88.8
Carboneras	Junio 1994	50	3	0	0.0
Zacatlán, Pue.					
Ayehualulco	3 septiembre 94	80	30-35	70	87.5
Libres, Pue.					
Huerto 1	14 enero, 1995	128	20-25	64	50.0*
Huerto 2	14 enero, 1995	200	>35	180	90.0
Huerto 3	14 enero, 1995	100	5-6	0	0.0
Zacatlán, Pue.					
Huerto 1 (Escuadrón 201)	26 enero, 1995	100	30-35	56	56.0
Huerto 2	26 enero 1995	20	>35	17	85.0**
Huerto 3	26 enero 1995	20	10-12	3	15.0
Huerto 4	26 enero 1995	20	>35	10	50.0
Huerto 5	25 enero 1995	12	15-18	2	10.0

*Sólo en ramas terminales.

**Incidencia alta pero menor % de daño.

árboles maduros, observando también que la mayor incidencia de árboles muertos ocurre a las edades de 20 a 25 años. Asimismo, Kile y Wade (1974) señalan que este tipo de enfermedad es típica de árboles maduros, pero Dilley y Covey (1981) señalan que también *T. versicolor* (*C. versicolor*) se ha asociado con muerte descendente de árboles jóvenes.

El detectar altas incidencias no indica que el daño sea más grave, ya que por ejemplo, se encontró que en el huerto 1 en Libres, Pue., había un 50% de incidencia, pero había sólo daños en ramitas terminales, lo que no representaba gran riesgo para la pérdida del árbol; también en la zona de Zacatlán, Pue., en el huerto 2 se encontró una alta incidencia (85%), pero los daños oscilaron en un 10% del ramaje del árbol. Es posible que para la aparición de la enfermedad influyan las heridas causadas por la poda y por las labores de cultivo aplicadas, ya que, por lo general, no reciben tratamiento de protección, están expuestos a la sequía, a una nutrición deficiente y los cambios ambientales bruscos, tal y como lo sugiere Bergdahl y French (1985).

Además de las observaciones hechas para determinar la incidencia, se deduce que en las tres regiones manzaneras muestreadas la enfermedad está ampliamente distribuida y con incidencias variables que dependen de la edad del cultivo, del clima y del manejo de la plantación; aclarando que en estas tres regiones por lo general no se fertiliza el cultivo, se lleva a cabo un manejo muy deficiente, incluyendo malas podas o sin podas; no hay podas de saneamiento y en la mayoría de las plantaciones el manzano se asocia con otro cultivo, principalmente maíz, y bajo esa condición se maltrata el árbol y se genera otra condición de humedad ambiental en la plantación.

En general, de acuerdo a los resultados encontrados en este estudio y a los reportes de pudrición blanca, corteza papelosa y muerte de árboles de Australia y diversas zonas de los Estados Unidos se concluye que *T. versicolor* es el principal agente causal de la pudrición blanca del manzano en Zacatlán y Libres, Puebla y Huayacocotla, Veracruz; estando asociados también en menor grado con otras pudriciones causadas por *Dematophora* spp. y *Schizophyllum commune*, lo cual indica que ciertos hongos que habitan en la madera podrida tal como *T. versicolor* son también parásitos agresivos en madera viva, ya que las inoculaciones realizadas en este estudio y en otras investigaciones así lo demuestran

Agradecimientos

Los autores agradecen la valiosa colaboración y apoyo técnico del Dr. Sebastián Romero Cova y del M. en C. Antonio Segura Miranda de la Universidad Autónoma de Chapingo para el desarrollo de esta investigación.

Literatura citada

- Bendall, D.S., R.P.F. Gregory, 1963. Purification of phenol oxidases. En: J.B. Pridham. **Enzyme chemistry of phenolic compounds**. The McMillan Co., New York. p. 7-24.
- Bergdahl, D.R., D.W. French, 1985. Association of Wood decay fungi with decline and mortality of apple trees in Minnesota. **Plant Dis.** 69:887-890.
- Covey, R.P., H.J. Larsen, T.J. Fitzgerald, M.A. Dilley. 1981. *Coriophus versicolor* infection of young apple trees in Washington State. **Plant Dis.** 65:280.
- Covey, R. P. Jr., 1990. Wood Rots. In: Jones, A.L. and H.S. Aldwinckle (Eds.), **Compendium of apple and pear diseases**. APS Press. St. Paul. Minnesota. p. 43.
- Darbyshire, B., G.C. Wade, K.C. Marshall, 1969. *In vitro* studies of the role of nitrogen and sugars on the susceptibility of apple wood decay by *Tremetes versicolor*. **Phytopathology.** 59:98-102.
- Davidson, R.W., W.A. Campbell, D.J. Blaisdell, 1938. Differentiation of wood-decaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium. **J. Agr. Res.** 57:683-695.
- Dilley, M.A., R.P. Covey Jr., 1980. Survey of wood decay and associated hymenomyces in control Washington apple orchards. **Plant Dis.** 64:560-561.
- Dilley, M.A., R.P. Covey Jr., 1981. Association of *Coriophus versicolor* with a dieback disease of apple trees in Washington State. **Plant Dis.** 65:77-78.
- Fergus, C.L., 1960. **Illustrated genera of wood Decay Fungi**. Burgess Publishing Co. Minneapolis.
- García, E., 1978. **Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen**. Instituto de Geografía, UNAM. México, D.F.
- Gilbertson, R.L., L. Ryvarden, 1987. **North American Polypores. Vol. 2.** Fungi flora. Grønlands Grafiske. Oslo, Norway.
- Guzmán, H.G., 1977. **Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera**. Edit. Limusa, S.A., México, D.F.
- INEGI., 1994. **Análisis de la situación frutícola en México. VII Censo Agropecuario, 1991**. Edit. INEGI. Aguascalientes.
- Jiménez, F.E., 1989. **Etiología de las enfermedades fungosas aéreas del manzano (*Malus communis* L.) en Huayacocotla, Ver.** Tesis Profesional. UACH. Chapingo, Méx.
- Kent, K.T., A. Kelman, 1965. Lignin degradation as related to the phenoloxidases of selected wood-decaying Basidiomycetes. **Phytopathology** 55:739-745
- Kile, G.D., G.C. Wade, 1974. *Tremetes versicolor* on apple. I. Host-pathogen relationship. **Phytopathol. Z.** 81:328-338.
- Kile, G.D. 1976. The effect of season of pruning and of time since pruning upon changes in apple sapwood and its susceptibility to invasion by *Tremetes versicolor*. **Phytopathol. Z.** 87:231-240.
- Manion, P.D., 1991. **Tree disease concept**. 2nd. ed. Prentice-Hall, New Jersey.

- Mendoza, Z.C., 1993. **Diagnóstico de enfermedades fungosas.** Depto. de Parasitología, UACH. Chapingo, Méx.
- Nobles, M.K., 1965. Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomyces. **Can. J. Bot.** 43:1097-1139.
- Pelczar, M.J., R.D. Reid, E.C.S. Chan, 1994. **Microbiología.** 4ª ed. McGraw-Hill, México, D.F.
- Rayner, A.D.M., N.K. Todd, 1977. Intraspecific antagonism in natural population of wood-decaying basidiomycetes. **J. Gen. Microbiol.** 103:85-90.
- Ryvarden, L., 1991. **Genera of Polypores. Nomenclature and taxonomy.** Synopsis fungorum 5th ed. Grønlands Grafiske. Oslo.
- Sepúlveda, L.G., 1966. **Estudio preliminar sobre la familia Polyporaceae en algunas localidades de la Sierra Madre Oriental en Nuevo León.** Tesis profesional ITESM. Monterrey, N.L.
- Wade, S.C., 1968. The influence of mineral nutrition on the susceptibility of apple trees to infection by *Trametes versicolor*. **Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.** 8:436-439.
- Williams, E.N.D., N.K. Todd, A.D.M. Rayner, 1981. Spatial development of populations of *Coriolus versicolor*. **New Phytol.** 89:307-319.

Recibido: 2 de julio, 1999. Aceptado: 2 de diciembre, 1999.
Solicitud de sobretiros: Cecilio Mendoza Zamora