

Anamorfos de tipo *Cylindrocarpon* asociados a decaimiento de especies forestales en vivero

***Cylindrocarpon*-like anamorphs
associated to decay of forest species in nursery**

Muñoz, R.M.^{1*}; Lerma, M.L.¹; Castillo, P.¹; Rodríguez, C.²

¹ *Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF),
Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (ITAP),
Segunda Avenida 61, 02007, Albacete, España*

² *Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, de Montes y Biotecnología,
Universidad de Castilla-La Mancha, P.º de los Estudiantes s/n, 02006, Albacete, España*

* Autor de correspondencia: rmg.itap@dipualba.es

Resumen

En los viveros forestales son especialmente importantes las enfermedades del sistema radicular de las plantas forestales, entre las cuales se encuentran las causadas por hongos con anamorfos (formas asexuales) de *Cylindrocarpon* spp. En el Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF) del ITAP se recibieron, en agosto de 2022, siete muestras de distintas especies de un vivero forestal; concretamente de las especies *Arbutus unedo* (madroño), *Ilex aquifolium* (acebo), *Juniperus phoenicea* (sabina negral), *Morus nigra* (morera negra), *Sorbus domestica* (serbal común), *Tetraclinis articulata* (ciprés de Cartagena) y *Viburnum tinus* (durillo). En la observación directa inicial se observó necrosis de raíces en las siete especies, así como de cuello en cuatro de ellas. Dados estos síntomas, se investigó la presencia de hongos, llevando a cabo el aislamiento de hongos de tronco, cuello, raíces y raicillas de cada una de las muestras. *Cylindrocarpon* spp. fue el único hongo detectado y citado como patógeno. Los aislados obtenidos presentaban un aspecto similar en placa, con coloración marrón cobriza y conidias características. Este tipo de hongo se detectó más frecuentemente en raíces y raicillas, con una elevada incidencia en cuatro de las especies; en las dos restantes (*Sorbus domestica* y *Viburnum tinus*), se sospecha que la presencia de hongos no patógenos de crecimiento rápido (sobre todo, *Chaetomium* spp. y *Trichoderma* spp.) impidió la detección de más aislados de *Cylindrocarpon* spp. Anamorfos de *Cylindrocarpon* spp. han sido asociados con marchitamiento, podredumbre de raíces o necrosis de la corteza en viveros forestales, síntomas observados en las muestras recibidas.

Palabras claves: cuello, diagnóstico, marchitamiento, necrosis, patógenos de raíces.

Abstract

In forest nurseries, diseases of the root system are especially important, among which are those caused by fungi in anamorphs (asexual forms) of *Cylindrocarpon* spp. In August 2022, the ITAP Phytosanitary Diagnostic and Assistance Service (SEDAF) received seven samples of different species from a forest nursery; specifically, the species *Arbutus unedo* (strawberry tree), *Ilex aquifolium* (holly), *Juniperus phoenicea* (black juniper), *Morus nigra* (black mulberry), *Sorbus domestica* (common rowan), *Tetraclinis articulata* (Cartagena cypress) and *Viburnum tinus* (laurustinus). In the initial direct observation, root necrosis was observed in all seven species, as well as neck necrosis in four of them. Given these symptoms, the presence of fungi was investigated, carrying out the isolation of fungi from the trunk, neck, roots and rootlets of each of the samples. *Cylindrocarpon* spp. was the only fungus detected and cited as a pathogen. The isolates obtained had a similar appearance on plate, with brown-copperish color and characteristic conidia. This type of fungus was detected most frequently in roots and rootlets, with a high incidence in four of the species; in the remaining two (*Sorbus domestica* and *Viburnum tinus*), it is suspected that the presence of fast-growing, non-pathogenic fungi (especially *Chaetomium* spp. and *Trichoderma* spp.) prevented the detection of more isolates of *Cylindrocarpon* spp. Anamorphs of *Cylindrocarpon* spp. have been associated with wilting, root rot or bark necrosis in forest nurseries, symptoms observed in the samples received.

Keywords: decay, diagnosis, neck, necrosis, root pathogens.

1. Introducción

Los viveros forestales proporcionan plantas leñosas para el proceso de forestación, pero también son un punto clave para prevenir y controlar infecciones tempranas por hongos patógenos, garantizando así la calidad fitosanitaria de los materiales de plantación (Mora-Sala *et al.*, 2018). Entre otros patógenos, radicales, los hongos con anamorfos (formas asexuales) de *Cylindrocarpon* spp. son patógenos de plantas globalmente distribuidos con un amplio rango de especies hospedantes (Jankowiak *et al.*, 2016). Estos hongos han sido descritos como causantes de podredumbre de raíces en especies forestales (Beyer *et al.*, 1991; Sánchez *et al.*, 2002, Memkis *et al.*, 2006, Agustí-Brisach *et al.*, 2011, Abad-Campos *et al.*, 2012), así como el agente causal de podredumbre de raíces y cuello en plantas leñosas como albaricoquero (Kurt, 2022), fresa (Viglicca *et al.*, 2022) y *Viburnum tinus* (Aiello *et al.*, 2014). Estos hongos también han sido citados como causantes de podredumbre de raíces y de la zona basal de plantas leñosas, como almendro (Capote *et al.*, 2022), olivo (Nigro *et al.*, 2019) y vid (Agustí-Brisach y Armengol, 2013).

La taxonomía de estos hongos ha sido revisada varias veces. Booth (1966) dividió el género en cuatro grupos según la presencia o ausencia de microconidios y clamidosporas. Estudios posteriores transfirieron especies del grupo *Nectria* con anamorfos de *Cylindrocarpon* a *Neonectria* (Rossman *et al.*, 1999; Mantiri *et al.*, 2001; Brayford *et al.*, 2004).

En 2011, Chaverri *et al.* (2011) reconocieron cinco géneros nuevos dentro de *Neonectria*: *Campylocarpon*, *Ilyonectria*, *Neonectria* (*Cylindrocarpon* s. s.), *Rugonectria* y, and *Thelonectria*. Posteriormente, se designó un género más: *Dactylonectria* (Lombard *et al.*, 2014).

El Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF) es el servicio del ITAP (Instituto Técnico Agronómico Provincial) dedicado a la sanidad vegetal. El servicio dispone de un laboratorio equipado para llevar a cabo detecciones y diagnósticos de plagas y enfermedades de plantas; la mayoría de muestras proceden del sector agrario, aunque también se reciben muestras del sector ornamental y forestal.

En el presente trabajo se presentan los resultados de los diagnósticos efectuados a muestras procedentes de un vivero forestal con decaimiento, recibidas en agosto de 2022 y donde, de forma consistente, se detectaron anamorfos de tipo *Cylindrocarpon* asociadas a necrosis en el sistema radicular y, en algunos casos, también en el cuello.

2. Material y métodos

Las muestras consistieron en plantas en maceta procedentes de un vivero forestal de la provincia de Albacete, donde habían detectado decaimiento de plantas. Las plantas habían sido dispuestas en macetas en febrero y marzo de 2022 y, a partir de entonces, habían detectado decaimiento y muerte progresiva. Los síntomas fueron detectados en su mayoría en plantas de hoja perenne, mientras que el resto de plan-

tas caducifolias que habían tenido un manejo idéntico en el vivero no mostraron síntomas.

Los decaimientos fueron observados en las siguientes especies: *Arbutus unedo* (madroño), *Ilex aquifolium* (acebo), *Juniperus phoenicea* (sabina negral o suave), *Morus nigra* (morera negra), *Sorbus domestica* (serbal común), *Tetraclinis articulata* (ciprés de Cartagena) y *Viburnum tinus* (durillo); de cada especie se recibió una planta en agosto de 2022 con síntomas (Fig. 1).



Figura 1. Plantas recibidas para diagnóstico fitosanitario: de izquierda a derecha, *Arbutus unedo*, *Ilex aquifolium*, *Juniperus phoenicea*, *Sorbus domestica*, *Tetraclinis articulata* y *Viburnum tinus*.

Se llevó a cabo una observación directa inicial de síntomas, realizando cortes transversales a distintas alturas de cada planta. Asimismo, se llevó a cabo el diagnóstico de hongos mediante aislamiento en placas Petri con medio de cultivo patata dextrosa agar (PDA), suplementado con sulfato de estreptomicina (0.5 g litro⁻¹ de sulfato de estreptomicina) (PDAS) a partir de tronco, cuello, raíces y raicillas de cada una de las muestras. Previamente, el cuello, raíces y raicillas se lavaron con agua corriente del grifo, y se tomaron fragmentos con zonas de avance de necrosis si estas estaban presentes, que fueron desinfectados superficialmente en una solución de hipoclorito de sodio al 1.5 %, durante 2 minutos los trozos de tronco, cuello y las raíces y durante 1 minuto los de raicillas; posteriormente se lavaron dos veces con agua destilada estéril.

En cada placa se sembraron cinco trozos de material vegetal de cada zona (cuatro placas por muestra). Las placas se incubaron a 22 grados. Los hongos detectados fueron repicados a una placa con medio (PDA) y, posteriormente, identificados macro y microscópicamente.

Para cada hongo detectado se calculó la tasa de aislamiento (n.º aislados / n.º explantos sembrados) x 100); asimismo, se determinó el porcentaje de presencia de ese

hongo en los explantos sembrados de cada zona de aislamiento (n.º explantos con presencia del hongo / n.º explantos sembrados) x100).

3. Resultados

En la observación directa inicial, en todas las muestras se detectaron necrosis en raíces en todas las muestras, así como necrosis en el cuello en cuatro de ellas (Tab. 1; Fig.2).

Asimismo, no se detectó presencia de plagas o enfermedades que pudieran asociarse directamente a los síntomas observados.

Tabla 1. Síntomas observados en las muestras recibidas.

Especie	Necrosis externa cuello	Necrosis interna cuello	Necrosis externa raíces	Necrosis interna raíces
<i>Arbutus unedo</i>	Sí	Sí	Sí	Sí
<i>Ilex aquifolium</i>	Sí	No	Sí	No
<i>Juniperus phoenicea</i>	No	No	Sí	Sí
<i>Morus nigra</i>	Sí ^a	No	Sí ^b	Sí ^b
<i>Sorbus domestica</i>	Sí	No	Sí	No
<i>Tetraclinis articulata</i>	No	No	Sí	Sí
<i>Viburnum tinus</i>	No	No	Sí	Sí

^a Necrosis leve.

^b Necrosis en extremos de raíces.



Figura 2. De izquierda a derecha: necrosis de raíces en *Morus nigra* y *Sorbus domestica* y necrosis de cuello en *Arbutus unedo*.

Cylindrocarpon spp. fue el hongo más detectado. Los aislados obtenidos presentaban un aspecto similar en placa, con coloración marrón cobriza y conidias características (Fig. 3, Fig. 4).

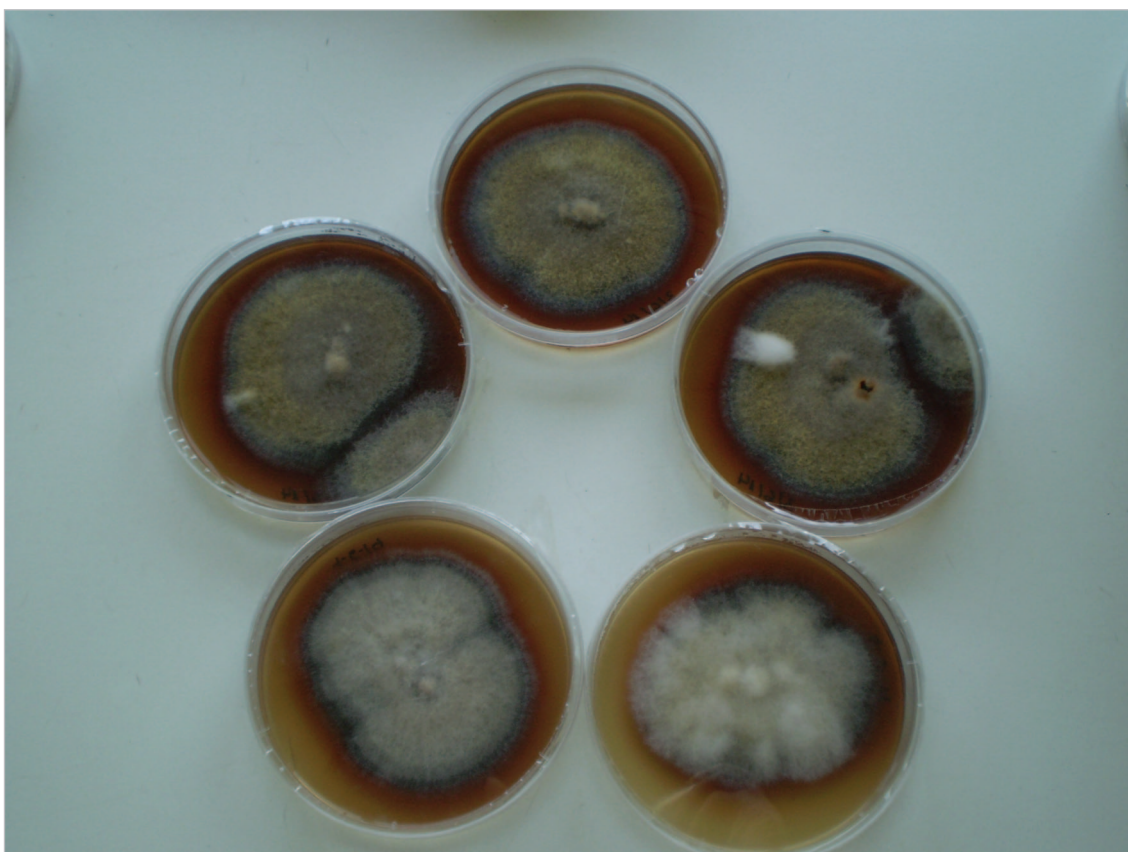


Figura 3. Aislados de *Cylindrocarpon* spp. en medio PDA.

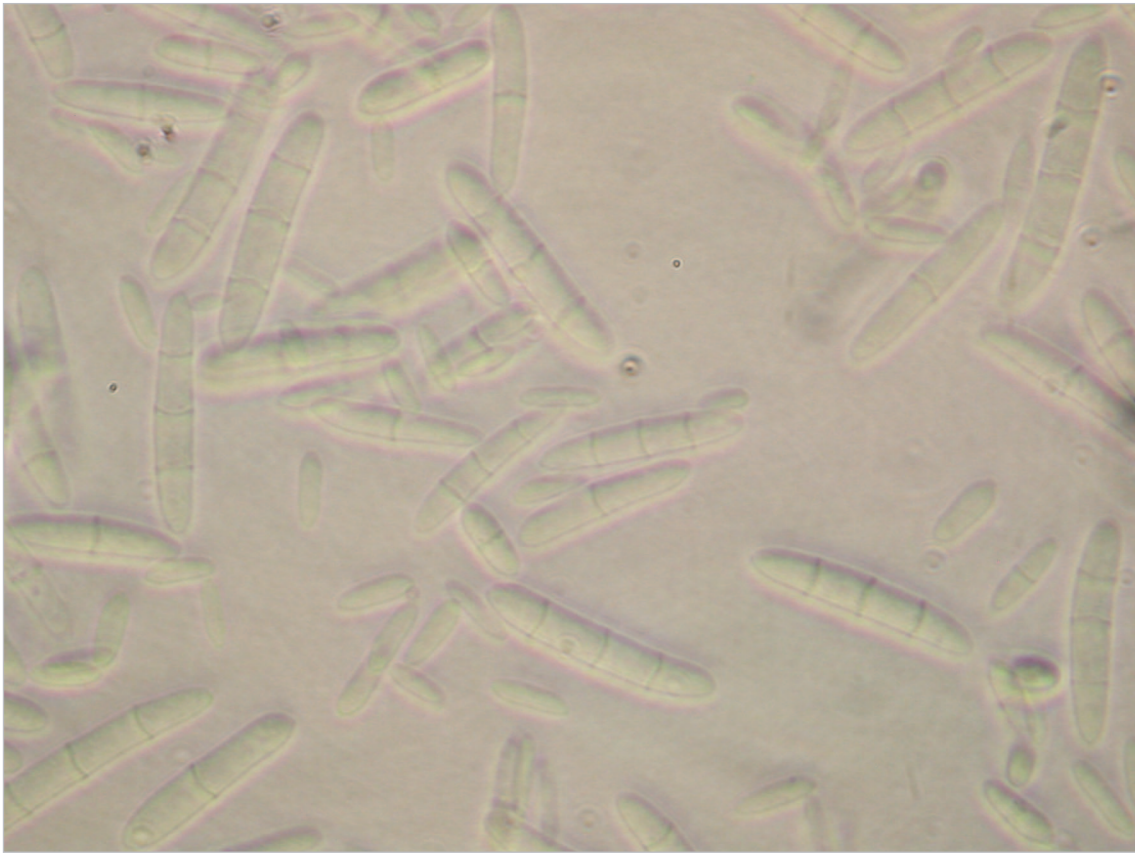


Figura 4. Imagen microscópica de esporas de *Cylindrocarpon* spp. a 400 aumentos.

Este tipo de hongo se detectó de forma consistente en todas las muestras, salvo en *Sorbus domestica* y *Viburnum tinus*; en estas especies, se sospecha que la presencia de *Trichoderma* spp. y *Cheotomium* spp., hongos no patógenos de crecimiento rápido, impidió la detección de más aislados de *Cylindrocarpon* spp. (observaciones del laboratorio) (Fig.5). Asimismo, en algunos explantos se sospechó de la presencia de *Cylindrocarpon* spp., pero no pudo ser aislado al crecer junto a otros hongos (Fig.5).

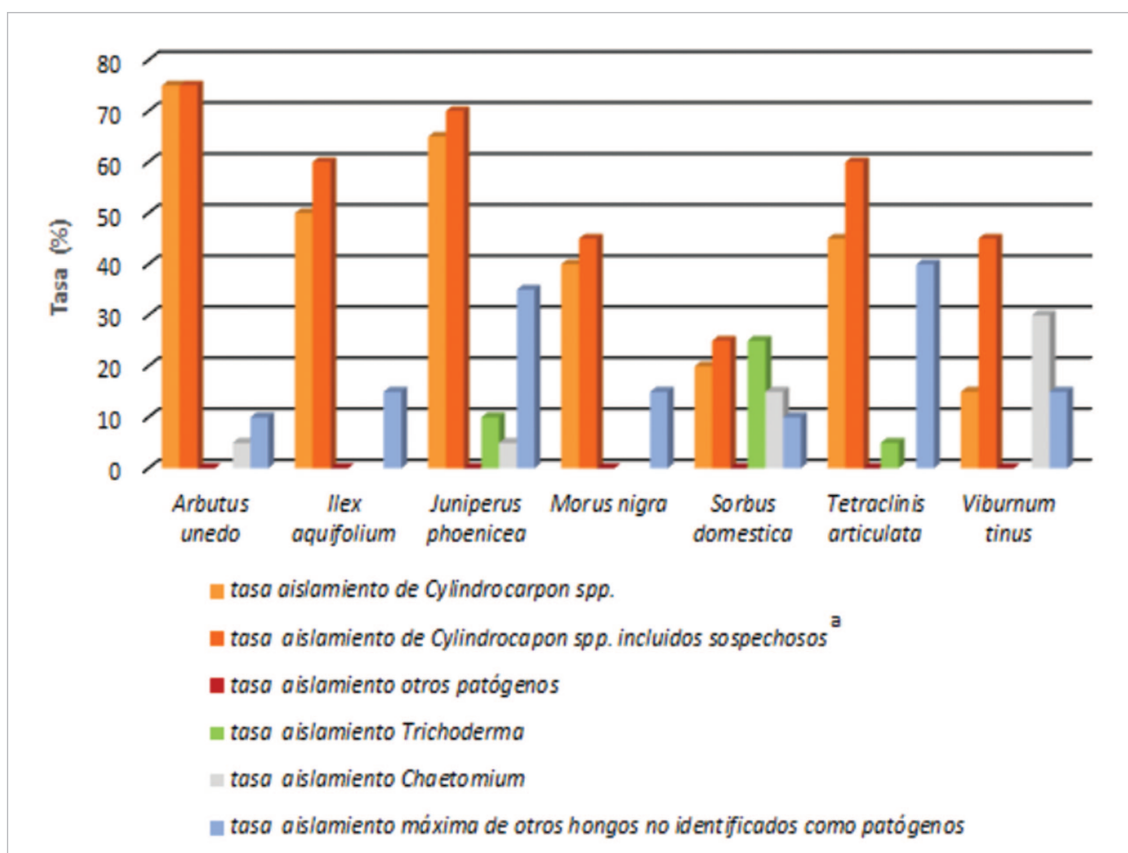


Figura 5. Tasa de aislamiento de *Cylindrocarpon* spp. y otros hongos en las muestras. (^a se incluyen hongos con morfología de *Cylindrocarpon* spp. que no pudieron ser aislados al crecer junto a otros).

Cylindrocarpon spp. se detectó más frecuentemente en raíces y raicillas, aunque también fue detectado en el cuello de cinco especies; el porcentaje de presencia de *Cylindrocarpon* spp. fue elevado (igual o superior al 80 %) en cuello, raíces y raicillas de *Arbutus unedo* y *Juniperus phoenicea*, en raíces de *Ilex aquifolium* y *Tetraclinis articulata*, y en raicillas de *Morus nigra*; en *Viburnum tinus*, se detectó *Cylindrocarpon* en el 60 % de los trozos de raíces y en el 40 % de los de cuello y raicillas de *Sorbus domestica* (Fig. 6). Al contabilizar los sospechosos de *Cylindrocarpon* spp., la presencia de este hongo aumenta considerablemente en *Tetraclinis articulata* y *Viburnum tinus*, además de alcanzar el 60% de presencia en el cuello de *Sorbus domestica* (Fig.7).

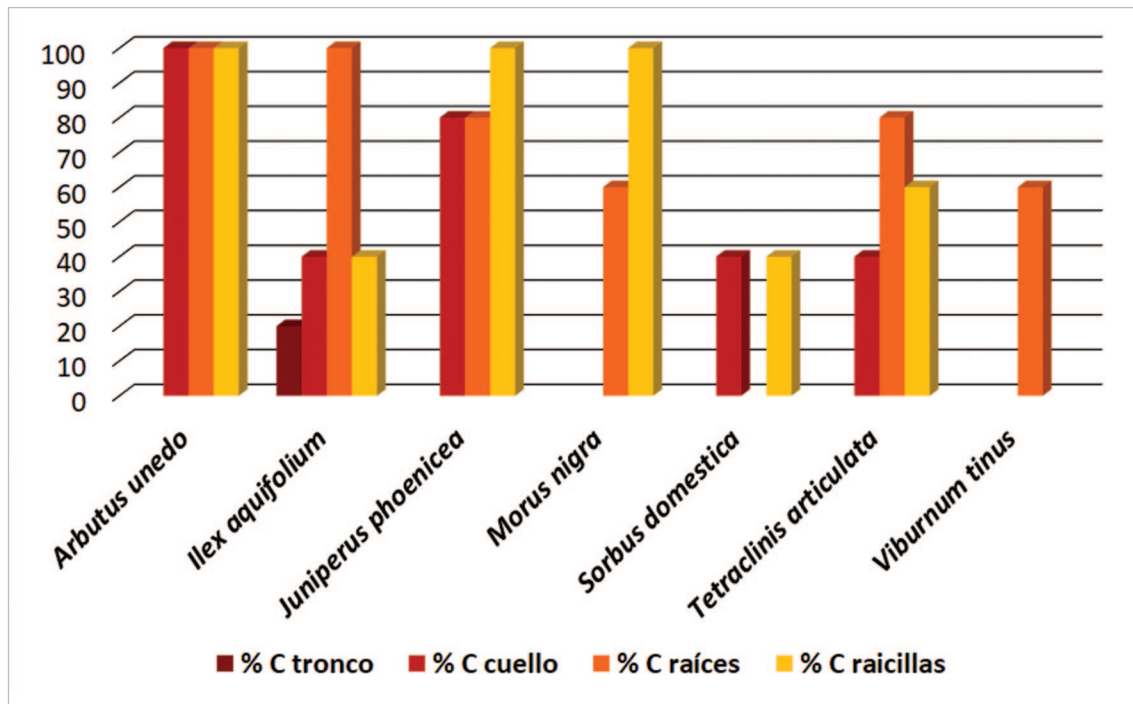


Figura 6. Porcentaje de aislamiento de *Cylindrocarpon* spp. en las distintas zonas de aislamiento de cada especie.

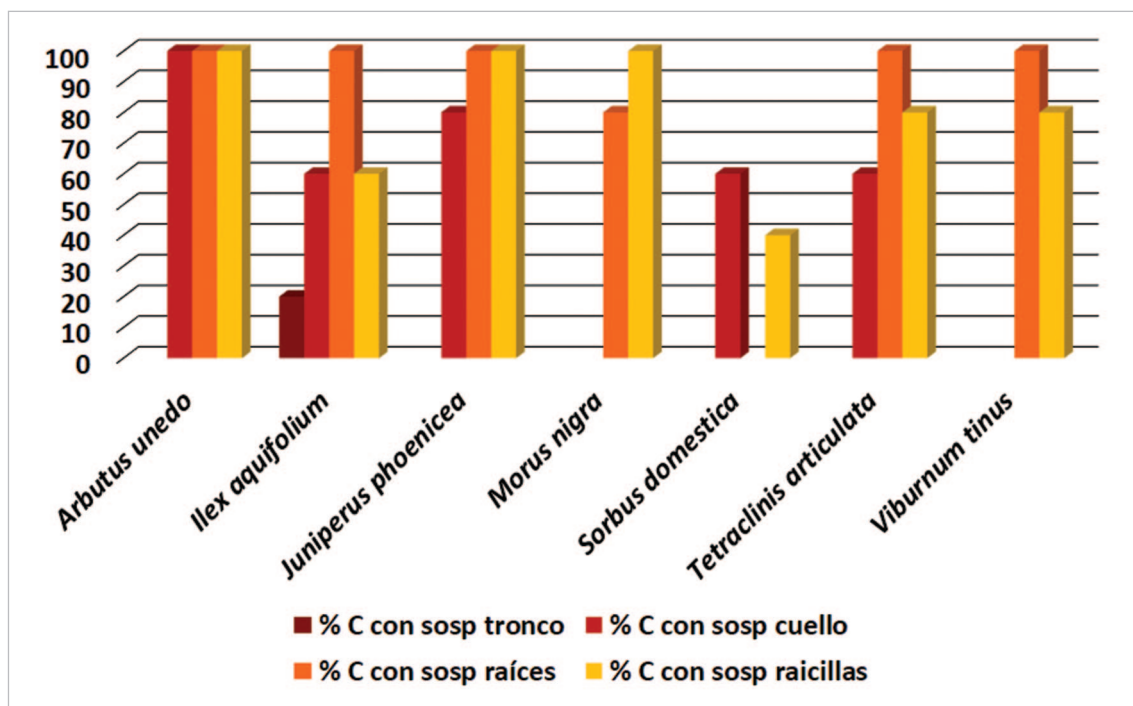


Figura 7. Porcentaje de aislamiento de *Cylindrocarpon* spp. en las distintas zonas de aislamiento de cada especie, incluyendo hongos con morfología de *Cylindrocarpon* spp. que no pudieron ser aislados al crecer junto a otros.

4. Discusión

Anamorfos de *Cylindrocarpon* spp. han sido asociados con marchitamiento, podredumbre de raíces o necrosis de la corteza en viveros forestales (Jankowiak *et al.*, 2016), síntomas observados en las muestras recibidas. Asimismo, este tipo de hongo había sido citado como agente causal de muerte de raíces en viveros forestales en países escandinavos (Beyer *et al.*, 1991; Menkis *et al.*, 2006); en España, además, Mora-Sala *et al.* (2018) demostraron la prevalencia de este tipo de hongos asociados con decaimiento de plántulas de distintas especies en viveros forestales de España, incluyendo de los géneros *Arbutus*, *Juniperus*, *Sorbus* y *Viburnum*, presentes asimismo en este estudio. Aiello *et al.* (2015) también describieron anamorfos de *Cylindrocarpon* como causantes de podredumbre de raíces en *Viburnus tinus*.

Tradicionalmente, estos hongos han sido considerados saprofitos o patógenos débiles (Booth, 1996); en la actualidad, no obstante, se ha demostrado que pueden causar chancros, podredumbre de raíces y decaimiento de plantas herbáceas y leñosas de elevada importancia económica (Capote *et al.*, 2022).

Aunque los hongos identificados como *Cylindrocarpon* spp. eran muy similares, la correcta identificación de especies debe efectuarse con técnicas moleculares (Lombard *et al.*, 2014); por tanto, estudios posteriores deberían llevarse a cabo para identificar las especies y analizar su implicación en los daños observados.

En relación con el origen de la infección en vivero, Capote *et al.* (2022) señalan que deben investigarse las fuentes de inóculo de estos hongos, analizando tanto el suelo como el material vegetal e incluso el agua de riego.

Llevar a cabo estudios para determinar el origen de las infecciones y, posteriormente, evaluar distintos métodos de control, son aspectos clave para evitar los daños producidos por *Cylindrocarpon* spp. en el futuro.

5. Conclusiones

Los diagnósticos efectuados permitieron identificar a anamorfos de *Cylindrocarpon* como hongos asociados a las necrosis de raíces, e incluso de cuello, observadas, y como consecuencia, a los decaimientos en el vivero de las especies *Arbutus unedo* (madroño), *Ilex aquifolium* (acebo), *Juniperus phoenicea* (sabina negral), *Morus nigra* (morera negra), *Sorbus domestica* (serbal común), *Tetraclinis articulata* (ciprés de Cartagena) y *Viburnum tinus* (durillo).

6. Bibliografía

Abad-Campos, P.; Giménez, A.; Piazza, S.; León, M.; García-Jiménez, J.; Pérez-Sierra, A.M.; 2012. Detección de *Phytophthora* spp. y patógenos fúngicos en viveros forestales de la Comunidad Valenciana. *Cuad. Soc. Esp. Cienc. For.* 36, 99-104. https://secforestales.org/publicaciones/index.php/cuadernos_secf/article/view/10265/10169

- Agustí-Brisach C.; Pérez-Sierra, A.; García-Figueres, F.; Montón, C.; Armengol, J.; 2011. First report of damping-off caused by *Cylindrocarpon pauciseptatum* on *Pinus radiata* in Spain. *Plant Dis.* 95 (7), 874. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-11-0125>
- Agustí-Brisach, C.; Armengol, J.; 2013. Black-foot disease of grapevine: An update on taxonomy, epidemiology and management strategies. *Phytopathol. Mediterr.* 52, 245-261.
- Aiello, D.; Guarnaccia, V.; Epifani, F.; Perrone, G.; Polizzi, G.; 2015. '*Cylindrocarpon*' and *Ilyonectria* Species Causing Root and Crown Rot Disease of Potted Laurusinus Plants in Italy. *J. Phytopathol.* 163, 7-8, 675-680. <https://doi.org/10.1111/jph.12306>
- Beyer-Ericson, I.; Damm, E.; Unestam, T.; 1991. An overview of root dieback and its causes in Swedish forest nursery. *European Journal of Forest Pathology* 21: 439-443. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1991.tb00781.x>
- Booth, C. 1966. The genus *Cylindrocarpon*. *Mycol. Pap.* 104, 1-56.
- Brayford, D.; Honda, B.M.; Mantiri, F.R.; Samuels, G.J.; 2004. *Neonectria* and *Cylindrocarpon*: the *Nectria mammoidea* group and species lacking microconidia. *Mycol.* 96 (3), 572-597. <https://doi.org/10.1080/15572536.2005.11832955>
- Capote, N.; Del Río, A.A.; Herencia, J.F.; Arroyo, F.T.; 2022. Molecular and Pathogenic Characterization of *Cylindrocarpon*-like anamorphs causing root and basal rot of almonds. *Plants (Basel)* 11(7), 984. <https://doi.org/10.3390/plants11070984>
- Jankowiak, R.; Stepniewska, H.; Szwagrzyk, J.; Bilanski, P.; Gratzner, G.; 2016. Characterization of *Cylindrocarpon*-like species associated with litter in the old-growth beech forests of Central Europe. *For.Pathol.* 46 (6), 582-594. <https://doi.org/10.1111/efp.12275>
- Kurt, S.; Uysal, A.; Kara, M.; Soyulu, S.; Soyulu, E.M.; 2022. Characterization of *Cylindrocarpon*-like anamorphs causing root and basal rot of apricot and in vitro activities of some fungicides. *J. Agric. Food Environ. Sci.* 76 (4), 43-51. <https://doi.org/10.55302/JAFES22764043k>
- Lombard, L.; Van der Merwe, N.A.; Groenewald, J.Z.; Crous, P.W.; 2014. Lineages in *Nectriaceae*: Re-evaluating the generic status of *Ilyonectria* and allied genera. *Phytopathol. Mediterr.* 53 (3), 515-532. <http://www.jstor.org/stable/43871803>
- Mantiri, F.R.; Samuels, G.J.; Rahe, G.E.; Honda, B.; 2001. Phylogenetic relationships in *Neonectria* species having *Cylindrocarpon* anamorphs inferred from mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Can. J. Botany* 79 (3), 334-340. <https://doi.org/10.1139/b01-002>
- Menkis, A.; Vasiliauskas, R.; Taylor, A.F.S.; Stenström, E.; Stenlid, J.; Finlay, R.D.; 2006. Fungi in decayed roots of conifer seedlings from forest nurseries, afforested clearcuts and abandoned farmland. *Plant Pathol.* 55, 117-129. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01295.x>
- Mora-Sala, B.; Cabral, A.; León, M.; Agustí-Brisach, C.; Armengol, J.; Abad-Campos, P.; 2018. Identification, and Characterization of *Cylindrocarpon*-Like Asexual Morphs in Spanish Forest Nurseries. *Plant Dis.* 102 (11), 2083-2100. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-18-0171-RE>
- Nigro, F.; Antelmi, I.; Sion, V.; Parente, P.; Pacifico, A.; 2019. First Report of *Dactylonectria torrisensis* Causing Foot and Root Rot of Olive Trees. *Plant Dis.* 103, 768. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1381-PDN>
- Rossman, A.Y.; Samuels, G.J.; Rogerson, C.T.; Lowen, R.; 1999. Genera of the *Bionectriaceae*, *Hypocreaceae*, and *Nectriaceae* (*Hypocreales*, *Ascomycetes*). *Stud. Mycol.* 42, 1-248.
- Sánchez, M.E.; Lora, F.; Trapero, A.; 2002. First report of *Cylindrocarpon destructans* as a Root Rot Pathogen of Mediterranean *Quercus* Species in Spain. *Plant Dis.* 86 (6), 693. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.6.693C>

Vigliecca, M.; González, P.; Machín, A.; Vicente, E.; Silvera-Pérez, E.; 2022. First report of root and crown rot caused by *Dactylonectria novozelandica* on strawberry in Uruguay. *Agrocienc. Urug.* 26 (2), e962. <https://doi.org/10.31285/AGRO.26.962>