

## AUSENCIA DE LA VERRUGOSIS DEL AGUACATE EN NUEVA ZELANDA

K. Everett<sup>1</sup>, R.A. Fullerton<sup>1</sup>, M.A. Manning<sup>1</sup>, J. Rees-George<sup>1</sup> y W.F.T. Hartill<sup>2</sup>

<sup>1</sup>HortResearch, Private Bag 92169, Mt Albert, Auckland New Zealand.

<sup>2</sup>8 Wood Bay Road, Titirangi, Auckland, New Zealand

electrónico: [Keverett@hortresearch.co.nz](mailto:Keverett@hortresearch.co.nz)

La sarna o verrugosis del aguacate es una enfermedad cosmética, causada por el hongo *Sphaceloma perseae*. Esta enfermedad fue señalada por primera vez en Nueva Zelanda en 1991. Sin embargo, dicho registro no fue confirmado por las autoridades fitosanitarias de Nueva Zelanda y por esta razón no fue incluida en la lista de plagas. En Noviembre del 2006, Bioseguridad-Australia se informó de dicho registro y cuestionó el acceso de aguacates importados desde Nueva Zelanda. La presencia de esta enfermedad no esta registrada en Australia y como consecuencia de esta situación se volvió a revisar dicho reporte. En este sentido, se estudiaron la morfología de las esporas y secuencias del ADN. Todo lo cual ha indicado que el registro originalmente descrito no era *S. perseae* sino *Phaeosphaeria* sp. (anamorfismo de *Phaeoseptoria* sp.), un hongo comúnmente encontrado en los pastos. Este hongo no está señalado como causante de ninguna enfermedad en aguacate y además no se observó el desarrollo de síntomas en frutos jóvenes de aguacate inoculados con *Phaeosphaeria* sp. Adicionalmente, se compararon muestras de herbario de cáscara seca de frutas provenientes del registro original de Nueva Zelanda con muestras auténticas de herbario procedentes de Florida, quedando claramente demostradas las diferencias en relación a los síntomas. La fotografía publicada con los síntomas registrados en Nueva Zelanda fue similar a las presentadas por Australia las cuales se asemejan a cicatrices causadas por el viento. Sobre la base de estos resultados, el registro de la sarna o verrugosis del aguacate es considerado erróneo y por lo tanto esta enfermedad no esta presente en Nueva Zelanda.

Palabras Clave: *Sphaceloma perseae*, *Phaeosphaeria* sp., *Phaeoseptoria* sp.

## AVOCADO SCAB IS NOT PRESENT IN NEW ZEALAND

K. Everett<sup>1</sup>, R.A. Fullerton<sup>1</sup>, M.A. Manning<sup>1</sup>, J. Rees-George<sup>1</sup> and W.F.T. Hartill<sup>2</sup>

<sup>1</sup>HortResearch, Private Bag 92169, Mt Albert, Auckland New Zealand.

<sup>2</sup>8 Wood Bay Road, Titirangi, Auckland, New Zealand

Email: [Keverett@hortresearch.co.nz](mailto:Keverett@hortresearch.co.nz)

Avocado scab is a superficial cosmetic disease of avocados caused by the fungus *Sphaceloma perseae*. Avocado scab was reported as being present in New Zealand in 1991. That record was not validated by New Zealand Phytosanitary Authorities and was therefore not on the avocado pest list. Biosecurity Australia became aware of the record in November 2006 at which time it became a market access issue for New Zealand avocados exported to Australia. Australia does not have this disease. As a consequence the record was re-examined. Using cultural characteristics, spore morphology and DNA sequencing it was shown that the culture upon which the record was based was not *S. perseae*, but was *Phaeosphaeria* sp. (anamorph *Phaeoseptoria*

sp.) a fungus common on grasses. This fungus has not been reported to cause disease of avocados, and no symptoms developed following inoculation of young fruitlets. A comparison of herbarium samples of dried skin from the New Zealand specimen upon which the record was based with authenticated herbarium specimens from Florida showed a clear difference in symptomatology. Symptoms in a photograph published with the New Zealand record were similar to those of wind rub reported in Australia. On the basis of these results, the record of avocado scab was shown to be erroneous and the disease is not present in New Zealand.

Keywords: *Sphaceloma perseae*, *Phaeosphaeria* sp., *Phaeoseptoria* sp

## 1. Introducción

La verrugosis del aguacate (*Sphaceloma perseae* Jenkins) fue senalada por primera vez en un vivero de Florida, USA en 1918 (Stevens, 1918). También se ha reportado su presencia en Africa (Guinea, Marruecos, Sur Africa, Zambia y Zimbawe), Asia (Filipinas, Taiwán), Central América y el Caribe (Antillas, Costa Rica, Cuba, Republica Dominicana, Guadalupe, Guatemala, Haití Honduras, Jamaica, Nicaragua, Panamá, Puerto Rico, El Salvador) y en Sur América (Argentina, Brasil, Guyana, Perú y Venezuela) (Anon., 1986). En 1991 su presencia fue registrada Nueva Zelanda (Hartill, 1991). El registro estuvo basado en la identificación de aislamientos del hongo procedentes de cicatrices en frutos de aguacate. Como soporte de este señalamiento, dos especímenes de cáscara seca de aguacate con síntomas típicos y cultivo seco del hongo fueron depositados en el Herbario de Nueva Zelanda (PDD; Landcare Research, Manaaki Whenua). Al mismo tiempo, una muestra del aislamiento congelada y seca fue depositada en la colección Internacional de Micro-organismos y Plantas (ICMP; Landcare Research, Manaaki Whenua). Los síntomas también fueron fotografiados y publicados por Hartill (1991).

La Verrugosis del aguacate causa lesiones en ambos lados de la superficie de las hojas jóvenes y en la cáscara de frutos jóvenes. En la fruta los síntomas son generalmente coloraciones que varían de marrón a negro con hasta 3mm de diámetro generalmente de forma circular (Jenkins, 1925, 1934). Las lesiones son abultadas, de color púrpura-marrón a marrón oscuro y de forma circular a oval. Las manchas son puede que estén esparcidas, pero muchas se unen y forman áreas extendidas irregulares que frecuentemente cubren totalmente la fruta (Burnett, 1974; Palmateer, 2006). En las hojas las lesiones son frecuentemente rojas y el centro frecuentemente se rompe ocasionando la formación de perforaciones o huecos. Las infecciones en el envés de la hoja comienzan en el la nervadura central y laterales. Las lesiones en las hojas son mas frecuentes en la parte mas alta del árbol (Pernezny, 2000), y el haz de las hojas es mas susceptible que el envés. Se ha observado la verrugosis del aguacate en frutos de 1 mes de formación como ruptura de la epidermis y con producción de conidias hialinas y conidioforos que forman una cobertura densa y aterciopelada de color verde oliva oscuro. En el envés de las hojas la masa de conidias es de color marrón claro a verde oliva. Cuando la fruta alcanza 4

meses de formación la capa aterciopelada se pierde gradualmente y solo los conidiosporos permanecieron (Jenkins, 1934). Después de 1 mes las hojas se vuelven más resistentes a la infección y la fruta también se torna resistente después de alcanzar la mitad del tamaño (Pernezny, 2000). Las variedades de aguacates más susceptibles a la verrugosis son Lula, Hall y la mayoría de los aguacates de semilla. Las variedades Booth 3, 5, 7, 8; Monroe; Choquette; Trapp, Waldin, y Pollock son moderadamente susceptibles. Mientras que las variedades Booth 1 y Collins son moderadamente susceptibles (Pernezny, 2000). También han sido señaladas por Jenkins (1934) síntomas de verrugosis en las variedades Fuerte, Trapo, Challege, Perfecto y Surprise. El señalamiento de la presencia de la verrugosis del aguacate en Nueva Zelanda (Hartill 1991) no fue validado por las autoridades fitosanitarias de Nueva Zelanda y consecuentemente no se encuentra en la lista de pestes del aguacate. En Diciembre del 2006, Bioseguridad-Australia mostró interés en este señalamiento e inmediatamente estableció un tratamiento adicional y requerimientos de inspección a la fruta importada de Nueva Zelanda debido a que la enfermedad no está presente en Australia. Este artículo describe el análisis de los especímenes sobre los cuales se basó el señalamiento original en Nueva Zelanda.

## 2. Materiales y Métodos

Todos los aspectos relacionados con el señalamiento de la enfermedad fueron revisados. El aislamiento del espécimen preservado congelado-seco ICPM 10613, el cual fue depositado como *Sphaceloma perseae* (Hartill 1991), obtenido de la Colección Internacional de Micro-organismos y Plantas (ICMP; Manaaki Whenua, Landcare Research, Lincoln, New Zealand (Landcare). El espécimen fue asépticamente dividido en dos. Una mitad fue esparcida, con una barra de vidrio en forma de L estéril en la superficie de un plato de Petri con medio Agar-Papa-Dextrosa (PDA). Otro aislamiento congelado seco de una especie relacionada *Elsinoe fawcettii* CC135 proveniente de nuestra propia colección también fue cultivado en Agar-Papa-Dextrosa (PDA). Ambos aislamientos fueron comparados en cultivo y la morfología de las esporas. Seguidamente utilizando Qiagen DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen Inc., Valencia, CA, USA), se extrajo ADN de la segunda mitad del aislamiento congelado-seco

El DNA extraído fue utilizado para preparar una Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con los iniciadores ITS1/ITS4 White *et al.* (1990) para amplificar el Espacio Interno Transcrito (ITS regions of the ribosomal RNA gene). Los productos de PCR fueron separados electroforéticamente y purificados haciendo uso de un juego de purificación de productos de PCR Molecular Biochemicals High Pure PCR Product Purification Kit (Roche Diagnostics). Posteriormente los productos purificados fueron enviados a la Universidad de Waikato (Hamilton, Nueva Zelanda) para ser secuenciados. Las secuencias de ADN fueron analizadas utilizando BLAST (National Center

for Biotechnology Information; NCBI USA), Vector NTI 8 (InforMax Inc. USA) y comparadas con secuencias representativas de ITS del GenBank (NCBI).

Los especímenes del herbario PDD 58048 (como cultivo seco) y PDD 58615 (como espécimen de cáscara seca) depositado por W. F. T. Hartill in 1990 fueron fotografiados y comparados con los especímenes de cáscara de verrugosis del aguacate autenticados por Anna E. Jenkins y A.A. Bitancourt in 1940 y 1941colectados en Florida y Cuba y depositados en el herbario de Landcare en Nueva Zelanda (PDD 55, 57 y 61).

Posteriormente Frutos inmaduros de aguacate de aproximadamente 1 mes de formación fueron inoculados con esporas provenientes del espécimen ICMP 10613 utilizando 100  $\mu$ l de  $10^5$  esporas/ml sobre cada fruto. Los frutos inmaduros inoculados fueron colocados en una cámara húmeda a temperatura ambiente por 6 semanas.

Frutos inmaduros de aguacate con cicatrices de aproximadamente 1 mes de formación fueron observados en el campo y los síntomas fueron fotografiados.

### 3. Resultados

El crecimiento del hongo proveniente del aislamiento ICMP 10613 cultivado en Agar-Papa-Dextrosa fue visible después de 24 horas y una semana después cubrió todo el plato de Petri. Este fue el primer indicio que el señalamiento pudo estar basado en una identificación equivocada. La morfología del espécimen, mantenido en seco (PDD 58048) fue similar al crecimiento del aislamiento almacenado congelado y seco. El incremento en el crecimiento y las características de la colonia no fueron consistentes con *Sphaceloma perseae* el cual es un hongo de crecimiento muy lento y su colonias no se expanden en el medio Agar-Papa-Dextrosa. La morfología del aislamiento *Sphaceloma perseae* es similar a otro hongo muy estrechamente relacionado *Elsinoe fawcettii*, el cual es claramente diferente a los aislamientos derivados de ICMP 10613 (Figura 1). Después de aproximadamente 2 semanas el aislamiento ICMP 10613 produjo masas oscuras de esporas, las cuales fueron rápidamente identificadas como *Phaeoseptoria* sp. (Figura 2). Esto fue confirmado por la secuenciación del ADN del (ITS). Los análisis con BLAST mostraron que la secuencia con mas alta homología con ICMP 10613 *Phaeosphaeria volkartiana* con 92% de identidad. *Phaeosphaeria* sp es el estado sexual de *Phaeoseptoria* sp. (Camara *et al.*, 2002). Este es un hongo causante de lesiones en pastos. Nunca ha sido señalado como patógeno del aguacate. Frutos inmaduros de aguacate fueron inoculados con esporas de *Phaeoseptoria* sin mostrar síntomas después de 6 semanas bajo condiciones de alta humedad, confirmando su baja patogenicidad en aguacate. Al comparar los especímenes de la verrugosis del aguacate de herbario, PDD 55, 57 y 61, depositados por A. F. Jenkins quien fue el que originalmente describió la enfermedad (Jenkins 1925, 1934) demuestra que estos especímenes estaban bien preservados y los síntomas de la enfermedad en hojas y frutos estaban claramente visibles. Los síntomas de estos especímenes auténticos fueron muy diferentes a los síntomas del espécimen de Nueva Zelanda (PDD 58048) que consiste solamente de cáscara. Ellos también difieren en los síntomas que muestra la fotografía utilizada por Hartill (1991) para ilustrar la

enfermedad (Figura 3). Adicionalmente el espécimen de Nueva Zelanda (PDD 58615) se degradó y no fue posible observar más los síntomas.

Los frutos jóvenes de aguacate con 'verrugas' proveniente de las plantaciones de Nueva Zelanda estuvieron predominantemente expuesta a los costados de los árboles. Cuando fueron examinadas al microscopio, se observó que aparentemente la cáscara había sido dañada quizás por el roce con los pecíolos adyacentes y las hojas cuando las mueve el viento. El tejido dañado no se extendió a medida que el fruto creció y se formaron fisuras profundas y quebradizas (Figura 4).

No se encontraron síntomas de verrugosis en las hojas de árboles procedentes de plantaciones de Nueva Zelanda. La ausencia de síntomas en las hojas es otra evidencia de que esta enfermedad no se encuentra presente en Nueva Zelanda.

#### 4. Discusión

Los estudios basados en la morfología del cultivo y las esporas, junto a el análisis de las secuencias de ADN demuestra que el aislamiento (ICMP 10613) procedente de fruta de aguacate de Nueva Zelanda fue incorrectamente identificado como *S. perseae*. De tal manera que debería ser identificado como *Phaeoseptoria* sp. Los síntomas en especímenes de fruta depositada en el herbario de Landcare (PDD 58048) también fueron diferentes a los especímenes de verrugosis del aguacate autenticados del herbario.

La mayoría de las frutas jóvenes inmaduras con cicatrices analizadas ubicadas en los espacios de corrientes de viento entre los árboles en Nueva Zelanda, tienen similitud con las fotografías que describen el daño por cicatrices causadas por el viento en los aguacates australianos (Vock, 2001) y sugiere que los síntomas observados y descritos por Hartill (1991) muy similares a las cicatrices causadas por el viento más que por la verrugosis del aguacate. Las cicatrices de la fruta con apariencia de quebradiza encontrada en la fruta de Nueva Zelanda y Australia puede ocurrir debido a que el daño causado en el tejido no puede expandirse en la medida que la fruta crece causando fisuras profundas. Las fisuras aparentemente son llenadas con un tejido marrón-claro corchoso mientras que el daño original en el tejido se mantiene con una apariencia oscura y suave. Mientras la fruta crece, el tejido corchoso llena los espacios entre las áreas donde originalmente el daño comenzó. El micelio aterciopelado que cubre las lesiones de los frutos jóvenes de 1 mes de formación reportado por Jenkins (1934) no fue observado en las cicatrices de los frutos jóvenes en Nueva Zelanda. Los síntomas en hojas tampoco han sido observados en las plantaciones de aguacate de Nueva Zelanda. Debido a que los síntomas típicos de la verrugosis del aguacate no han sido reportados en las plantaciones de aguacate en Nueva Zelanda.

Tampoco se encontró similitud entre la fotografía de verrugosis del aguacate publicada por Hartill (1991) con otras publicaciones más recientes (Teliz-Ortiz *et al.*, 2003).

Ante la carencia de síntomas de verrugosis del aguacate en Nueva Zelanda y las evidencias presentadas en este artículo así como también la identificación correcta del aislamiento ICMP 10613 sigue que Nueva Zelanda debería ser reclasificada como libre de la verrugosis del aguacate.

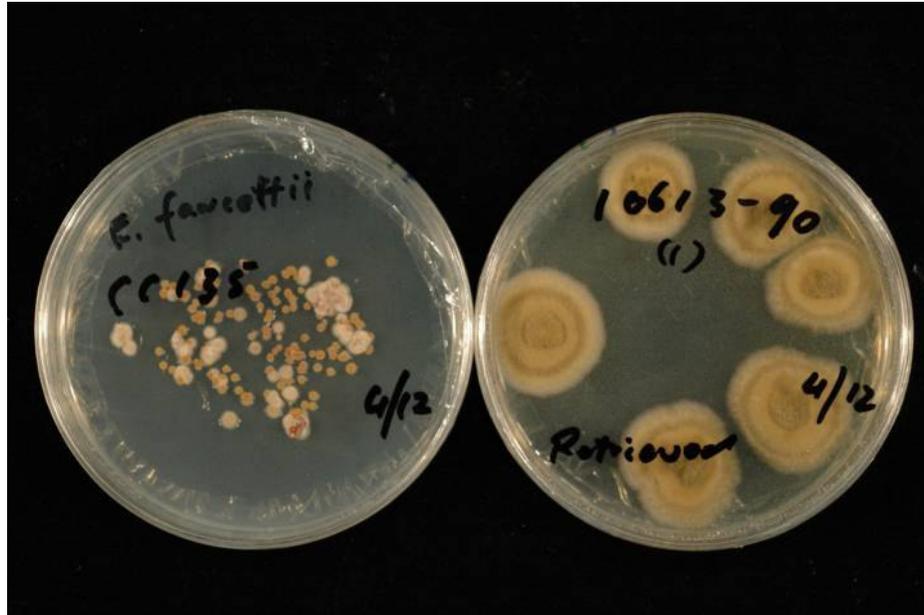


Figura 1. Morfología del aislamiento ICMP 10613 (derecha) comparado con *Elsinoe fawcettii* CC135 (izquierda). Ambos aislamientos después de 10 días de cultivo en Agar-Papa-Dextrosa.



Figura 2. Esporas producidas por el aislamiento ICMP 10613 después de 2 semanas de crecimiento en medio Agar-Papa-Dextrosa.



Figura 3. Especimen de herbario PDD 58048 descrito con síntomas de la verrugosis del aguacate por Hartill (1991) (izquierda) comparado con el espécimen de herbario PDD 57 autenticado por A.E. Jenkins como síntoma de la verrugosis del aguacate en Florida (derecha).



Figura 4. Fruto inmaduro de aguacate con menos de 1 mes de formación procedente de una plantación en Nueva Zelanda mostrando cicatrices

## 5. Agradecimientos

A Olimpia Timudo-Torrevilla por su contribución en la traducción al Español, y al Concejo de la Industria del Aguacate de Nueva Zelanda por el apoyo financiero.

## 6. Bibliografía Citada

- Anon. (1986). *Sphaceloma perseae*. [Distribution map]. In: *Distribution Maps of Plant Diseases*. Map 232.
- BURNETT, H. (1974). Avocado scab. *Florida Department of Agriculture and Consumer Services Plant Pathology Circular*, **141**, 2 pp.
- CAMARA, M. P. S., PALM, M. E., BERKUM, P. V. and O'NEILL, N. R. (2002). Molecular phylogeny of *Leptosphaeria* and *Phaeosphaeria*. *Mycologia*, **94**, 630-640.
- HARTILL, W. F. T. (1991). Post-harvest diseases of avocado fruits in New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, **19**, 297-304.
- JENKINS, A. E. (1925). A species of *Sphaceloma* on avocado. *Phytopathology*, **24**, 84-85.
- JENKINS, A. E. (1934). *Sphaceloma perseae* the cause of avocado scab. *Journal of Agricultural Research*, **49**, 859-869.
- PALMATEER, A. (2006). Description of Disease: Avocado Scab. In: *Avocado Technical Assistance Curriculum*. (Evans, E. A., Ed.). University of Florida. 77.
- PERNEZNY, K. (2002). Disease of avocado in Florida. *Florida Cooperative Extension Service, Plant Pathology Facts Sheet PP-21*. University of Florida
- STEVENS, H. (1918). Avocado scab. *Florida Agricultural Experiment Station Bulletin*, **289**, 2.
- TELIZ-ORTIZ, D., MORA-AGUILERA, G. and AVILA-QUEZADA, G. D. (2003). Logarithmic systems for measuring severity of anthracnose and scab in avocado fruits. *V Congreso Mundial del Aguacate*. *Fruicultura*. 2, 585-589.
- VOCK, N. (2001). Avocado Information Kit. In: *Agrilink series: your growing guide to better farming*. The State of Queensland, Department of Primary Industries.