



HAL
open science

Heredabilidad de factor de avirulencia de una cepa de *Venturia inaequalis* (CKE.) Wint. sobre el cultivar de mazano (*Malus x domestica* Borkh.) Golden delicious

F. Daniel Hernandez Hernandez, Luciana Parisi, Yves Lespinasse

► To cite this version:

F. Daniel Hernandez Hernandez, Luciana Parisi, Yves Lespinasse. Heredabilidad de factor de avirulencia de una cepa de *Venturia inaequalis* (CKE.) Wint. sobre el cultivar de mazano (*Malus x domestica* Borkh.) Golden delicious. *Revista Mexicana de Fitopatologia*, 1994, 12 (1), pp.31-34. hal-01600690

HAL Id: hal-01600690

<https://hal.science/hal-01600690>

Submitted on 1 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License

HEREDABILIDAD DEL FACTOR DE AVIRULENCIA DE UNA CEPA DE *Venturia inaequalis* (CKE.) WINT. SOBRE EL CULTIVAR DE MANZANO (*Malus x domestica* Borkh.) GOLDEN DELICIOUS

FRANCISCO DANIEL HERNANDEZ CASTILLO. Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", Buenavista, Saltillo, Coah., **LUCIANA PARISI** Estación de Patología Vegetal del I.N.R.A. de Angers, Francia y **YVES LESPINASSE**, Estación de Arboricultura Frutal del INRA de Angers, Francia.

RESUMEN

Hernández, C.F.D., Parisi L. y Lespinasse Y. 1994. Heredabilidad del factor de avirulencia de una cepa de *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. sobre el cultivar de manzano (*Malus x domestica* Borkh.) Golden Delicious. Revista Mexicana de Fitopatología 12(1)31-34.

Se realizaron cruzamientos entre cepas de *Venturia inaequalis* virulentas por avirulentas al cultivar de manzano (*Malus x domestica* Borkh.) Golden Delicious. Los pseudotecios con ascas y ascosporas maduras de cada cruce se obtuvieron en discos de hoja de manzano inoculados con una mezcla de conidios y micelio de dos cepas del hongo; los discos de hoja se colocaron sobre agar y se mantuvieron a 8°C por 140 días. Se inocularon 45 aislamientos monoasporicos obtenidos del cruzamiento 104 x 147 (virulento por avirulento) en plantulas de manzano progenie de los cultivares susceptibles Golden Delicious por Granny Smith. veintitres aislamientos indujeron los síntomas de la enfermedad y 22 aislamientos fueron avirulentos. Se considera que la avirulencia es un carácter monogenico heredado de acuerdo con las leyes de Mendel.

Palabras clave: *Venturia inaequalis*, *Malus x domestica*, Gen de avirulencia.

SUMMARY

Hernández, C.F.D., Parisi, L. y Lespinasse Y. 1994. Inheritance of the avirulence trait in an isolate of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. on Golden Delicious apple (*Malus x domestica* Borkh.) cultivar. Revista Mexicana de Fitopatología 12(1)31-34.

Crosses among *Venturia inaequalis* isolates avirulent and virulent to Golden Delicious-apple (*Malus x domestica* Borkh.) cultivar, were carried out. pseudothecia with asci and mature ascospores from each cross were produced on apple leaf discs, inoculated with micelia and conidia from two isolates, placed on agar and incubated at 8°C for 140 days. forty five monoasporic isolates from the cross 140 x 147 (virulent x avirulent) were inoculated on apple seedling, progeny of Golden Delicious x Granny Smith. Twenty three isolates induced disease symptoms and 22 isolates were avirulent. Avirulence is then considered a monogenic trait inherited accordig to Mendel laws.

Key words: *Venturia inaequalis*, *Malus x domestica*, Gen of avirulence.

Venturia inaequalis (Cke.) Wint, es de particular importancia en el cultivo de manzano (*Malus x domestica* Borkh.) cultivado en regiones de clima templado humedo. El patógeno es policiclico, y sus infecciones son continuas durante el ciclo vegetativo del manzano, presentando sus síntomas en hojas, flores y frutos. Las pérdidas ocasionadas pueden alcanzar 100% debido a una disminución cualitativa y cuantitativa de la produccción. Sin embargo Wiessman (1931, citado por Gessler, 1989) y Palmiter (1934), al

inocular varias cepas de *V. inaequalis* sobre diferentes cultivares de manzano susceptibles al patógeno observaron en las hojas de ciertos cultivares, lesiones típicas esporulantes y en otros cultivares lesiones cloróticas no esporulantes conocidas como "Flecks", mostrando así que ciertos aislamientos monosporicos difieren en su capacidad de infección, y que su virulencia está bajo un control monogenico. Así, los estudios sobre la segregación de la virulencia de cepas de *V. inaequalis* en relación a diversos cultivares de

manzano y especies de el género *Malus* han permitido la identificación de 19 genes que condicionana su patogenicidad (Boone, 1971).

En Francia se aislaron cepas de la raza 5 de *V. inaequalis* avirulentas sobre el cultivar susceptible Golden Delicious ocasionando sobre este lesiones necroticas de hipersensibilidad. Este hecho es por si mismo importante desde el punto de vista de la relación hospedero-patógeno. Además de lo anterior, el conocer el factor de heredabilidad de la avirulencia en cepas que causan hipersensibilidad, permite que estas puedan ser utilizadas en estudios genéticos de otros caracteres. Así, el objetivo del presente estudio fue conocer la heredabilidad del factor de avirulencia de una cepa de raza 5 de *V. inaequalis* en el cultivar Golden Delicious.

MATERIALES Y METODOS

La investigación se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Investigación Agronómica (I.N.R.A) de Angers, Francia, bajo condiciones de laboratorio e invernadero.

Selección de Cepas. Las cepas de *V. inaequalis* utilizadas fueron obtenidas de aislamientos monosporicos realizados por el laboratorio de Micología del I.N.R.A.. Dada la condición heterotalica del patógeno se requirió contar con dos cepas de compatibilidad sexual conocidas por lo que se seleccionó a las cepas 101 y 104 de raza 1 de compatibilidad negativa y positiva respectivamente (Martin, et. al., 1982), además la cepa 104 es resistente a benomyl. Así mismo, se seleccionaron las cepas 147 y 170 de raza 5 las que al igual que la cepa 101 se caracterizan por ocasionar reacciones necroticas de hipersensibilidad sobre el cultivar de manzano susceptible Golden Delicious.

Obtención de pseudotecios. Los pseudotecios fueron obtenidos en discos de hojas de manzano (método de Ross y Hamlin, 1962 modificado) del cultivar Golden Delicious de 8 años de edad. Se seleccionaron hojas sin síntomas del hongo y con un sacabocado de 2.5 cm de diámetro se hicieron los discos; estos se depositaron en matraces de 1000 ml con 400 ml de agua destilada, y se esterilizaron por dos ocasiones durante 20 minutos a 120°C. Enseguida se colocaron cuatro discos por caja Petri con agar agua al 2% mas antibiótico (aureomicina 100 mg, penicilina 250 mg y estreptomycinina 500 mg en 100 ml de agua destilada esteril), incorporando 5 ml de la solución por litro de medio agar agua.

Cruzamiento de cepas. Los cruzamientos fueron realizados, mezclando conidias y fragmentos de micelio de dos cepas (virulenta por avirulenta sobre Golden Delicious) en agua destilada esteril en proporción 1:1 (vol. : vol.) volumen. De esta suspensión se tomó 0.075 ml con una micropipeta y se depositó al centro de los discos de manzano. Posteriormente los medios se incubaron en oscuridad a 18-20°C por 21 días y después se colocaron a 8°C para inducir la formación del pseudotecio.

Aislamientos monosporicos. Estos se realizaron en una cámara de transferencia, una vez que los pseudotecios formaron ascas y ascosporas maduras. Los pseudotecios se tomaron de los discos de hoja de manzano con una aguja de disección depositándolos en un portaobjeto esteril con una gota de agua destilada esteril. Enseguida el pseudotecio se presionó con una varilla de vidrio de punta redonda para permitir la liberación de las ascosporas; esta suspensión se deposito en cajas de Petri con medio malta (1%) agar (2.5%). Los medios se incubaron a 16°C durante 30 a 36 h, después de lo cual las ascosporas germinadas se aislaron ayudandose de un microscopio estereoscópico con aumento 50 X, y se sembraron en medio malta (1%) agar (1.5%). Cada aislamiento monosporico fué numerado, multiplicado en cajas Petri a 16°C y conservado en tubos de ensaye a 3°C.

Obtención de la suspensión conidial. De cada aislamiento monosporico en multiplicación en cajas Petri con medio malta (1%) agar (1.5%) se raspó una colonia de tres semanas de edad, depositandose toda la colonia en tubos de ensaye con 10 ml de agua destilada esteril. Los tubos se agitaron por un minuto en un agitador eléctrico y esta suspensión conteniendo conidias y fragmentos de micelio se utilizó para inocular frascos de vidrio de 1l de capacidad conteniendo 80 ml de medio liquido de malta (1%) y una gaza en la parte ancha del frasco (método modificado de Keitt y Palmiter, 1938). Después de la inoculación, los frascos se dejaron reposar por 48 h sobre la parte ancha que contenía la gaza para permitir la sedimentación y germinación de los conidias en la gaza. Posteriormente, los frascos se colocaron sobre la parte más angosta, incubándose 16 días en oscuridad a 16°C. La suspensión conidial se obtuvo al eliminar el medio de cultivo liquido, agregar agua destilada esteril y agitar vigorosamente para que la gaza liberara los conidioforos y conidos. Enseguida se hizo el conteo de esporas por mililitro con un hematocímetro.

Virulencia de cepas. La inoculación de las cepas se realizó en hojas de plántulas de 4 semanas de edad obtenidas del cruzamiento Golden Delicious por Granny Smith. Se preparó una suspensión condial de 200 000 esporas por mililitro la que fué asperjada con un pulverizador hasta punto de escurrimiento. Las plantas inoculadas fueron colocadas en una cámara bioclimática, cubriéndose con un plástico para mantenerlas con una humedad relativa del 100% por 48 h y favorecer la penetración del patógeno. Después de este tiempo el plástico fué retirado y la humedad relativa se mantuvo entre 80 y 90% con una temperatura de 18°C.

La reacción de las plántulas se evaluó 14 días después de la inoculación; las cepas virulentas presentan los síntomas típicos de la enfermedad en las hojas de plántulas inoculadas, mientras que las cepas avirulentas presentaron lesiones de hipersensibilidad. Los resultados obtenidos fueron evaluados mediante la prueba de chi cuadrada,

RESULTADOS Y DISCUSION

Obtención de pseudotecios. Bajo nuestras condiciones experimentales los pseudotecios, conteniendo ascas y ascosporas maduras fueron obtenidos 140 días después de realizados los cruzamientos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Keitt y Langford (1941), Ross (1961) y Ross y Hamlin (1962); según estos autores, los pseudotecios alcanzan su madurez después de 4 a 6 meses a 8°C. El mínimo de ascas por pseudotecio varió de 90 a 116. Esta cantidad parece ser similar a la de pseudotecios desarrollados en forma natural en hojas que han pasado el invierno bajo condiciones de campo, donde se observan de 100 a 130 ascas por pseudotecio (Gadoury et al, 1984).

Los pseudotecios maduros se obtuvieron en los cruzamientos 101 x 104; 101 x 170 y 104 x 147. De esta manera y de acuerdo a Martin (1982) quien da el signo de compatibilidad sexual (-) a la cepa 101 y (+) a la cepa 104 los signos de compatibilidad sexual de las cepas 147 y 170 son (-) y (+) respectivamente.

Heredabilidad del factor de avirulencia: Dadas las características de los progenitores 104 y 147 se seleccionó a la descendencia del cruzamiento 104 x 147 (virulento y avirulento) para estudiar la segregación del factor de avirulencia. Los resultados muestran que de 45 cepas monoascosporicas obtenidas del cruzamiento citado, 23 ocasionaron los síntomas típicos de la enfermedad y 22 provocaron los síntomas de avirulencia (Hipersensibilidad) sobre las plantas inoculadas. Este resultado corresponde a una

segregación de tipo 1:1 ($X^2 = 0.01$; $PO.05 = 3.84$), por lo que se considera que el factor de avirulencia de la cepa 147 de raza 5 de *V. inaequalis* es heredado por la acción de un gen. El estudio genético de la resistencia al benomyl de la cepa 104 es de tipo monogenico (Hernández y Parisi, 1994). Dados estos resultados, es posible utilizar los factores menogénicos de avirulencia y de resistencia al benomyl, como genes marcadores para estudiar el factor de virulencia de la raza 5 en la descendencia del cruzamiento 104 (raza 1) X 147 (raza 5), empleada en este trabajo.

LITERATURA CITADA

- Boone, D.M. 1971. Genetics of *Venturia inaequalis*. Ann. Rev. Phytopathol. 9:297-318.
- Boone, D.M. and Keitt, G.W. 1957. *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. XII. Genes Controlling pathogenicity of wild-type lines. Phytopathology 47:403-409.
- Gadoury, D.M., MacHardy, W.E. and Hu. C. 1984. Effects of temperature during ascus formation and frequency of ascospore discharge on pseudothecial development of *Venturia inaequalis*. Plant Dis. 68:223-225.
- Gessler, C. 1989. Genetics of the interaction *Venturia inaequalis*-*Malus P. 168-190*: The conflict between theory and reality. In Integrated control of pome fruit. Proc. Workshop. Brissago, Suisse, 30 octubre - 4 november.
- Hernández, C.F.D. and Parisi, L. 1994. Heredabilidad de la resistencia de la roña del manzano *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. al benomyl. Agraria. 10:39-44.
- Keitt, G.W. and Palmiter, D.H. 1938. Heterothallism and variability in *Venturia inaequalis*. Am. J. Bot. 25:338-345.
- Keitt, G.W. and Langford, M.H. 1941. *Venturia inaequalis* (Cke). Wint. I. a. groundwork for genetic studies. Am. J. Bot. 28:805-819.
- Keitt, G.W. Langford, M.H. and Shay, J.R. 1943. *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. II. Genetic studies on pathogenicity and certain mutant characters. Am. J. Bot. 30:491-500.
- Martin D., Oliver, J.M. and Lespinasse, Y. 1982. Obtention *in vitro* de périthèces de *Venturia inaequalis*

(Cke) Wint.; application a l'analyse de la resistance au
benignityl acquire au verger. Agronomie. 9:745-750.

Palmer, D.H. 1934. Variability in monoclonal
cultures of *Venturia inaequalis*. Phytopathology 24:22-
47.

Ross, R.G. 1961. The effect of certain elements with
emphasis on nitrogen, on production of perithecia of
Venturia inaequalis (Cke) Wint. Can. J. Bot. 39:731-
738.

Ross, R.G. and Hamlin, S.A. 1962. Production of
perithecia of *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. on sterile
apple leaf discs. Can. J. Bot. 40:629-635.