



## AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN Y PATOGENICIDAD DE HONGOS ASOCIADOS A LA ENFERMEDAD DE PETRI †

### [ISOLATION, CHARACTERIZATION AND PATHOGENICITY FUNGI ASSOCIATED WITH PETRI'S DISEASE]

Javier Javier-Alva<sup>1\*</sup> Amelia Lopez-Castillo<sup>1</sup>, L.A Álvarez<sup>2</sup>, Roger Chanduvi-García<sup>1</sup>, Ricardo Peña-Castillo<sup>1</sup>, René Aguilar-Ancota<sup>1</sup>, Carlos Granda-Wong<sup>1</sup>, Miguel Galecio-Julca<sup>1</sup>, Sandro Condori-Pacsi<sup>3</sup> and Arturo Morales-Pizarro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Piura, Campus Universitario s/n. Urb. Miraflores. Piura, Perú. \*Email: jjaviera@unp.edu.pe

<sup>2</sup> Universidad Nacional de Cañete, Casa de la cultura, Av. Mariscal Benavides, San Luis de Cañete. Lima, Perú.

<sup>3</sup> Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Santa Catalina Nro. 117. Arequipa, Perú.

\* Corresponding author

#### SUMMARY

**Background:** Peru has become the leading exporter of table grapes focusing its production in the Piura and Ica regions. However, most of the young vineyards (<5 years) in the Piura region have been showing symptoms of Petri's disease. **Objective:** To isolate, identify and pathogenicity evaluation of fungi associated with Petri disease. **Methodology:** Isolates were obtained from necrotic streaks in vascular bundles in plants with symptoms of the Petri disease. Identification was performed with the keys proposed by Mostert, by means of macro and microscopic observations. Pathogenicity tests were also performed by measuring the advancement of the length of the necrotic streak (LNE). **Results:** By their cultural and microscopic characteristics, the following were identified: *Phaeoacremonium* spp, *P. krajdennii*, *P. inflatipes*, *P. parasiticum* and *Phaeomoniella chlamydospora*. All the selected isolates were pathogenic in pathogenicity tests 75 days post inoculation (DPI), being the *Phaeoacremonium* species the ones that presented higher LNE compared to *Pa. chlamydospora*, which demonstrates their capacity for colonization of vascular bundles and wood degradation. **Implications:** The pathogens *Phaeoacremonium* spp, *P. krajdennii*, *P. inflatipes*, *P. parasiticum* and *Phaeomoniella chlamydospora* are related to Petri's disease in the Piura-Peru region. **Conclusion:** *Phaeoacremonium* species showed higher pathogenicity than *Pa. chlamydospora* 75 DPI. Also, *P. inflatipes* was morphologically identified in the Piura region requiring molecular identification for corroboration.

**Key words:** Petri disease; morphological identification; pathogenic; sustainable management; *Vitis vinifera* L.

#### RESUMEN

**Antecedentes:** Perú se ha convertido en el primer exportador de uva de mesa centrando su producción en las regiones de Piura e Ica. Sin embargo, la mayoría de los viñedos jóvenes (<5 años) en la región de Piura, vienen presentando síntomas de la enfermedad de Petri. **Objetivo:** Aislamiento, identificación y evaluación de patogenicidad de hongos asociados con la enfermedad de Petri. **Metodología:** Los aislados fueron obtenidos a partir de estrías necróticas en haces vasculares en plantas con síntomas de la enfermedad de Petri. La identificación se realizó con las claves propuestas por Mostert, mediante observaciones macro y microscópicas. Asimismo, se realizó las pruebas de patogenicidad midiendo el avance de la longitud de la estría necrótica LEN. **Resultados:** Por sus características culturales, microscópicas se identificaron a: *Phaeoacremonium* spp, *P. krajdennii*, *P. inflatipes*, *P. parasiticum* y *Phaeomoniella chlamydospora*. Todos los aislados seleccionados fueron patogénicos

† Submitted August 9, 2022 – Accepted December 21, 2022. <http://doi.org/10.56369/tsaes.4505>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = Javier Javier-Alva: <https://orcid.org/0000-0002-4953-8165>; Amelia Lopez-Castillo: <https://orcid.org/0000-0001-6461-7614>; Luis Álvarez-Bernaola: <https://orcid.org/0000-0002-6174-9870>; Roger Chanduvi-García: <https://orcid.org/0000-0002-6061-3007>; Ricardo Peña-Castillo: <https://orcid.org/0000-0001-9366-4962>; René Aguilar-Ancota: <https://orcid.org/0000-0002-3965-6096>; Carlos Granda-Wong: <https://orcid.org/0000-0002-1513-9094>; Miguel Galecio-Julca: <https://orcid.org/0000-0001-8410-6205>; Sandro Condori-Pacsi: <https://orcid.org/0000-0002-6792-5089>; Arturo Morales-Pizarro: <https://orcid.org/0000-0003-3966-6689>

en las pruebas de patogenicidad 75 días después de la inoculación (DDI), siendo las especies de *Phaeoacremonium* las que presentaron mayor LEN comparadas con *Pa. chlamydospora*, lo cual demuestra su capacidad de colonización de haces vasculares y la degradación de la madera. **Implicaciones:** Los patógenos *Phaeoacremonium* spp., *P. krajdennii*, *P. inflatipes*, *P. parasiticum* y *Phaeomoniella chlamydospora* están relacionados con la enfermedad de Petri en la región Piura-Perú. **Conclusión:** Las especies de *Phaeoacremonium* mostraron mayor patogenicidad que *Pa. chlamydospora* 75 DDI. Así también, se identificó morfológicamente *P. inflatipes*, en la región Piura requiriendo la identificación molecular para su corroboración.

**Palabras clave:** Enfermedad de petri; identificación morfológica; patogénico; manejo sostenible, *Vitis vinifera* L.

## INTRODUCCIÓN

La vid (*Vitis vinifera* L.) se originó entre Europa y Asia central, este género pertenece a la familia Vitaceae y se adapta a diferentes condiciones agroclimáticas tolerando temperaturas entre -15°C hasta 45°C (Hidalgo y Hidalgo, 2011). Perú se ha convertido en el principal exportador de uva de mesa seguido de Chile, Estados Unidos y China, siendo los principales mercados de destino: Estados Unidos, Unión Europea y Hong Kong con un incremento del 10%, 31% y 34% respectivamente comparado con la campaña 2020. El 17% de las agroexportaciones del país se centran en este cultivo; además, las regiones de Piura e Ica concentran el 87% de la producción nacional (MINCETUR, 2022). Sin embargo, la incidencia de las “enfermedades fúngicas de la madera de la vid” (EMV) se vienen incrementando en los últimos años, debido al aumento de las áreas cultivadas, al reducido número de moléculas activas en su control, implementación de diversas técnicas de manejo agronómico con el fin de obtener altos rendimientos del cultivo, la escasa protección de las heridas en poda, plántones de vivero con presencia latente de los patógenos, entre otros (Armengol y Gramaje, 2019; Aguilar-Ancota et al., 2021; Dries et al., 2021; Morales-Pizarro et al., 2022 a). En los últimos años, los síntomas relacionados con la enfermedad de Petri, como el decaimiento y/o declive (muerte) de vides jóvenes en vivero y campo, se vienen presentando con frecuencia en la región de Piura (noreste del Perú), causando una reducción del rendimiento e incremento de los costos de producción del cultivo; por lo cual, es importante identificar y determinar los patógenos relacionados con la enfermedad. En los valles costeros del Perú se analizaron 622 plantas con síntomas asociados EMV procedentes de viñedos y viveros; obteniendo, que el 38% (236 plantas) de las muestras presentan *Lasiodiplodia theobromae* como único patógeno; el 7% (44 plantas) presentan hongos asociados al pie negro: *Campylocarpon pseudofasciculare*, *Ilyonectria novozelandica* y *Cylindrocladiella peruviana*; el 9% (56 plantas) presentan hongos asociados a la enfermedad de

Petri: *Phaeoacremonium parasiticum*, *P. krajdennii* y *Phaeomoniella chlamydospora*. Además, en un 46% (286 plantas) de las muestras se encontraron: *L. theobromae*, los patógenos asociados al pie negro y a la enfermedad de Petri (Álvarez et al., 2012).

La enfermedad de Petri o también llamada como “black goo”, “young grapevine decline” o “young yesca”, es muy importante en muchos países productores de vid (Gramaje et al., 2018; Battiston et al., 2021). Actualmente, se han reportado 63 especies de *Phaeoacremonium*, de las cuales 37 se han aislado de vid (Reveglia et al., 2022; Spies et al., 2018). Las diferentes especies de *Phaeoacremonium* spp., *Phaeomoniella chlamydospora* y *Cadophora luteo-olivacea* se han asociado con la enfermedad de Petri en vides jóvenes (<5 años) y con la enfermedad de yesca en vides adultas (>5 años). Las plantas afectadas por la enfermedad de Petri presentan síntomas externos como: hojas pequeñas, cloróticas con márgenes necróticos, presencia de clorosis intervenal con regiones amarillentas tornándose posteriormente a marrón rojizo en forma de rayas de tigre, ausencia y retraso de los brotes, acortamiento de entrenudos, disminución del crecimiento y reducido vigor de la planta. Síntomas internos como: la presencia de estrías necróticas en haces vasculares y en ocasiones presentan exudaciones gomosas oscuras, estos síntomas permiten también identificar a la enfermedad como “black goo”, causando finalmente la muerte de la planta (Gubler et al., 2001; Gramaje et al., 2015; Gramaje et al., 2018). En Ica (sur de Perú), se aisló e identificó *P. parasiticum* en plantas de 4-8 meses de edad en la variedad Red Globe con síntomas de la enfermedad de Petri (Romero-Rivas et al., 2009). Asimismo, en Perú se han reportado *P. krajdennii* y *Pa. chlamydospora* asociados a la enfermedad de Petri procedentes de viñedos y viveros en la costa norte del país (Álvarez et al., 2012). Por ello, los objetivos de este trabajo fueron realizar el aislamiento, identificación y patogenicidad de los patógenos asociados con la enfermedad de Petri en vid en Piura, Perú.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó durante el 2014-2016 en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Piura-Piura, Perú. Se seleccionaron e identificaron plantas con síntomas externos de la enfermedad de Petri en diferentes viñedos de la región Piura (Tabla 1).

### Aislamiento de hongos

Se cortaron segmentos entre 1.5 a 2 cm de haces vasculares con estrías necróticas en la base del portainjerto y en la zona del injerto. Los segmentos fueron sumergidos en alcohol al 95% (v/v) durante 5 segundos y flameados. Posteriormente, en la cámara de flujo laminar se cortaron pequeños segmentos entre 0.3-0.4 x 1.0 cm y fueron sembrados en placas de petri conteniendo medio de cultivo papa dextrosa agar PDA con tetraciclina y se incubaron a 25°C durante 5 días. Las colonias emergentes fueron repicadas constantemente hasta obtener colonias uniformes, para asegurar su pureza se prepararon cultivos monospóricos de cada aislado mediante diluciones seriadas  $10^{-3}$ .

### Caracterización morfológica de aislados

Discos de agar de 6 mm de diámetro colonizado con el micelio del patógeno se transfirieron en el centro de cada placa de petri conteniendo los medios: papa dextrosa agar (PDA), agar extracto de malta (AEM) y agar avena (AA) y se incubaron en oscuridad a 25°C durante 18 días. Posteriormente, se observaron las características macroscópicas-morfológicas de las colonias: color anverso y reverso, topografía, el margen de crecimiento y la textura (Mostert *et al.*, 2006). Las observaciones microscópicas se realizaron bajo el microscopio binocular de luz Zeiss, observando: hifas, conidióforos, célula conidiógena, conidios y clamidosporas; midiendo el largo y ancho de cien conidióforos y cien conidios. El género y la especie del patógeno se identificaron mediante las claves de Mostert *et al.* (2005, 2006)

### Pruebas de patogenicidad

Se usaron plantones injertados de vid (Red Globe/MGT-101.14) entre 8 a 10 meses de edad. La inoculación se realizó con ayuda de un bisturí estéril, realizando una herida o incisión por debajo de la zona del injerto e introduciendo un disco de

agar colonizado con el patógeno; asimismo, se cubrió con parafilm para evitar su deshidratación usando la metodología de Romero-Rivas *et al.* (2009) con modificaciones en este estudio, empleando discos de agar colonizado con el patógeno en lugar de una suspensión de conidios. Las plántulas inoculadas se mantuvieron en vivero durante 75 días después de la inoculación (DDI), evaluando finalmente el avance de la longitud de la estría necrótica (LEN) cm por debajo de la zona de inoculación.

### Análisis estadístico

En las pruebas de patogenicidad, se realizó un diseño completamente aleatorio (DCA) seleccionando seis aislados y un testigo (control negativo-disco de agar sin patógeno), con cinco repeticiones (1 repetición = 3 plantones) por aislado. Los datos fueron transformados a  $\sqrt{(x+1)}$ , posteriormente fueron analizados con un análisis de varianza ANOVA con la prueba de rangos múltiples de Duncan. Los datos fueron procesados mediante el paquete estadístico Statgraphics Centurión Versión XVI.

## RESULTADOS

### Aislamiento de hongos

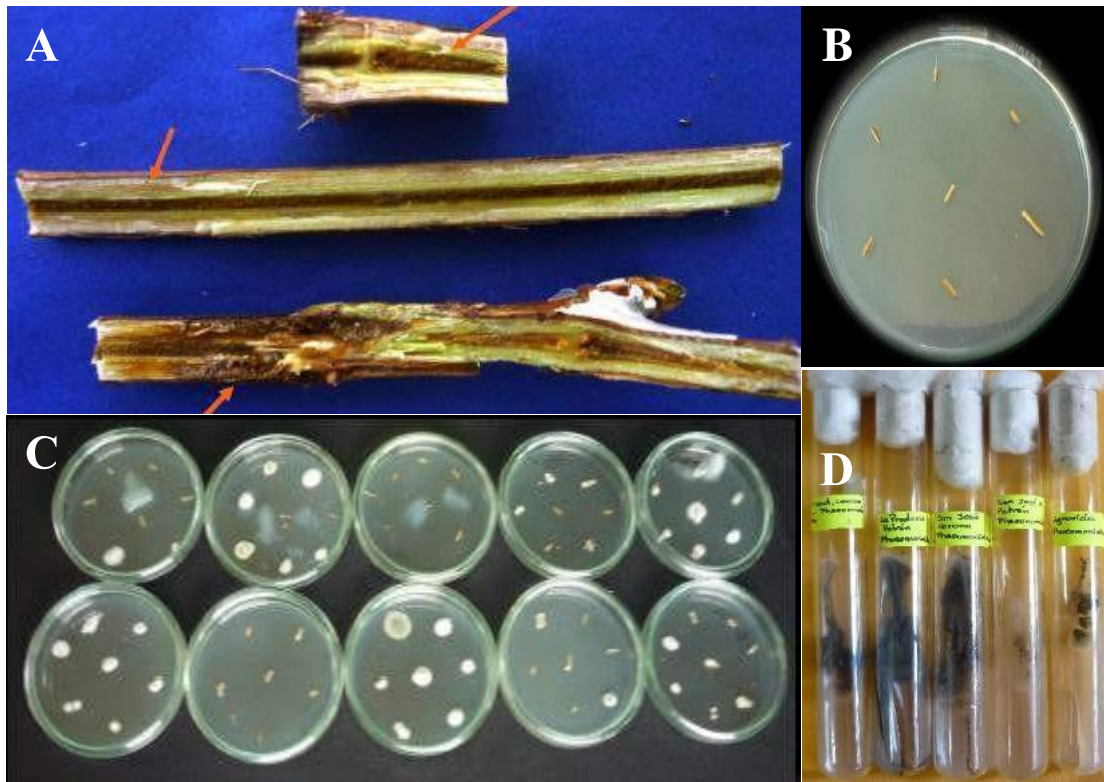
Se aislaron un total de 14 patógenos fungosos a partir de estrías necróticas de haces vasculares de la base del tallo y zona de injerto procedentes de diferentes viñedos de Piura con síntomas externos de infección causados por la "enfermedad de Petri" (Tabla 1 y Figura 1).

### Caracterización morfológica

Las colonias de los aislados: UAP1-Pha1, UAP2-Pha2, UAP3-Pha3, Agch-Pha4, Pedr-Pha5, Eco1-Pha6 y Eco5-Pha10, en medio PDA presentaron color blanco, blanco cremoso, blanco amarillento a naranja-beige en el anverso y melón a beige-amarillo pálido en el reverso, topografía verrucosa, margen entero y textura algodonosa- granular (Figura 2A). En medio AEM, mostraron color beige tanto en el anverso como en el reverso, topografía aplanada, margen entero y textura aterciopelada (Figura 2B). En medio AA, el color fue blanco a blanco cremoso en el anverso y reverso, topografía ligeramente verrucosa, margen entero y textura algodonosa granular (Figura 2C).

**Tabla 1. Aislamientos fúngicos de haces vasculares obtenidos de diferentes zonas vitícolas de Piura, Perú.**

Aislado	Yema/portainjertos	Zona de aislamiento	Valle
UAP1-Pha1	Red Globe/Freedom	Base de tallo	Medio Piur
UAP2-Pha2	Red Globe/Freedom	Base de tallo	Medio Piura
UAP3-Pha3	Red Globe/Freedom	Zona de injerto	Medio Piura
Agch-Pha4	Red Globe/MGT 101-14	Zona de injerto	Del Chira
Pedr-Pha5	Red Globe/MGT 101-14	Zona de injerto	Medio Piura
Eco1-Pha6	Red Globe/Salt Creek	Zona de injerto	Medio Piura
Eco2-Pha7	Red Globe/Salt Creek	Zona de injerto	Medio Piura
Eco5-Pha10	Red Globe/Salt Creek	Base de tallo	Medio Piura
Visad-Pch1	Red Globe/MGT 101-14	Base de tallo	Alto Piura
Aglap-Pch2	Red Globe/Harmony	Base de tallo	Medio Piura
Agvi-Pch3	Red Globe/MGT 101-14	Base de tallo	Alto Piura
SJ1-Pch4	Red Globe/Freedom	Base de tallo	Del Chira
SJ2-Pch5	Red Globe/MGT 101-14	Base de tallo	Del Chira
Piura-Pch6	Red Globe/MGT 101-14	Base de tallo	Medio Piura

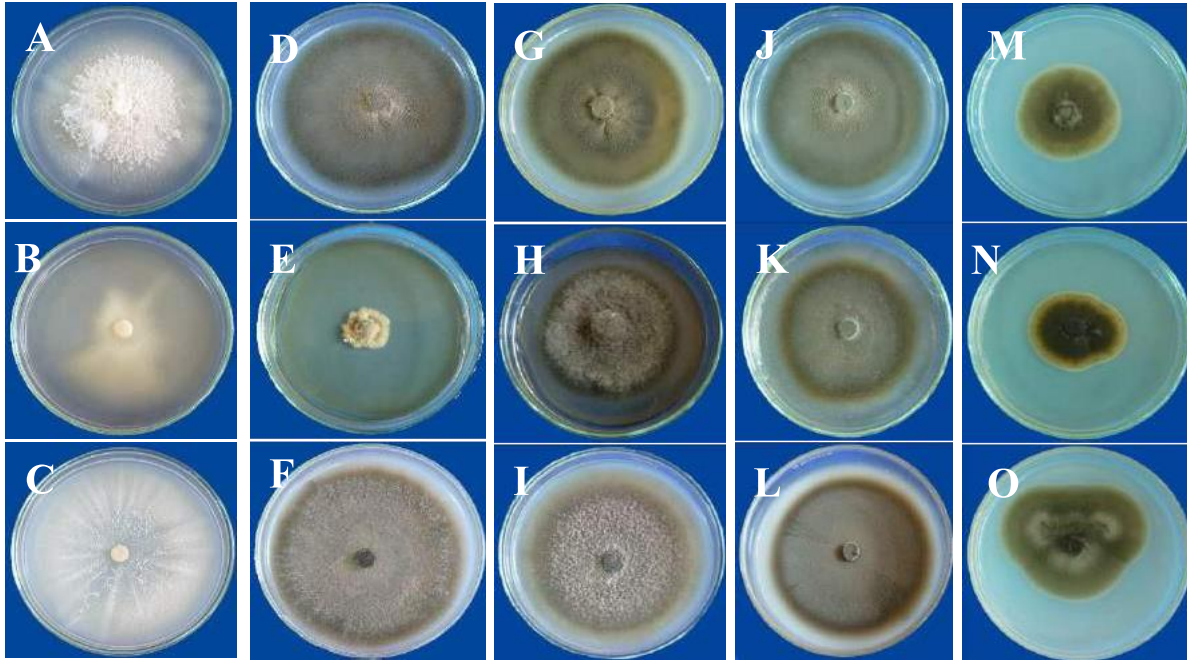


**Figura 1.** Aislamiento de hongos a partir de estrías necróticas de vid. A) Haces vasculares con presencia de estrías necróticas (flechas rojas), B) segmentos de madera sembrados en medio PDA (papa dextrosa agar), C) colonias de hongos desarrolladas a partir de estaquillas de vid, d) cultivos puros de los aislados fúngicos.

Las colonias de los aislados: Eco2-Pha7 y SJ2-Pch5, son muy similares en PDA presentando un color marrón grisáceo en el anverso y reverso, rugosa en el centro, margen entero y textura granular aterciopelada (Figura 2D). En AEM el color fue beige a marrón claro en el anverso y

reverso, topografía umbonada, margen entero y textura algodonosa (Figura 2E). En AA mostró color gris a marrón grisáceo en el anverso y reverso, ligeramente rugosa, margen entero y aterciopelada (Figura 2F).





**Figura 2.** Desarrollo y color del anverso de las colonias de los aislados fúngicos en diferentes medios de cultivo. UAP1-Pha en medio A) PDA (papa dextrosa agar): blanco, B) AEM (agar extracto malta): beige, C) AA (agar avena): blanco; Eco2-Pha7 en medio D) PDA: marrón grisáceo, E) AEM: beige a marrón, F) AA: marrón grisáceo; VISAD- Pch1 en medio G) PDA: gris oliváceo, H) AEM: gris oscuro, I) AA: gris; Aglap-Pch2 en medio J) PDA: marrón grisáceo, K) AEM: gris-marrón oliváceo, L) AA: marrón grisáceo; Agvi-Pch3 en medio M) PDA: verde oliva, N) AEM: verde oliva oscuro, O) AA: verde claro grisáceo.

La colonia del aislado VISAD-Pch1 en medio PDA fue de color verde gris a gris oliváceo en el anverso y reverso, margen entero, granular en el centro y aterciopelada más externamente (Figura 2G). En AEM presentó color gris a negro hacia el borde tanto en el anverso y reverso, umbonada, margen entero y algodonosa (Figura 2H). En AA, gris tanto en el anverso como el reverso, verrucosa, margen entero y textura granular (Figura 2I).

Las colonias de los aislados: Aglap-Pch2, SJ1-Pch4 y Piura-Pch6, son muy parecidas, en medio PDA marrón grisáceo, aplanada, margen entero y granular (Figura 2J). En AEM gris-marrón oliváceo, negro grisáceo en el anverso y reverso, verrucosa a aplanada, margen entero, aterciopelada y granular (Figura 2K). En AA, marrón grisáceo a negro grisáceo en anverso y reverso, aplanada, verrucosa, margen entero y granular, aterciopelada con borde blanco (Figura 2L).

La colonia del aislado Agvi-Pch3 en PDA al inicio es blanca y cambia gradualmente hacia su madurez a verde oliva con borde blanco, rugosa, margen de la colonia ligeramente lobulado y algodonosa (Figura 2M). En AEM verde oliva al inicio y luego

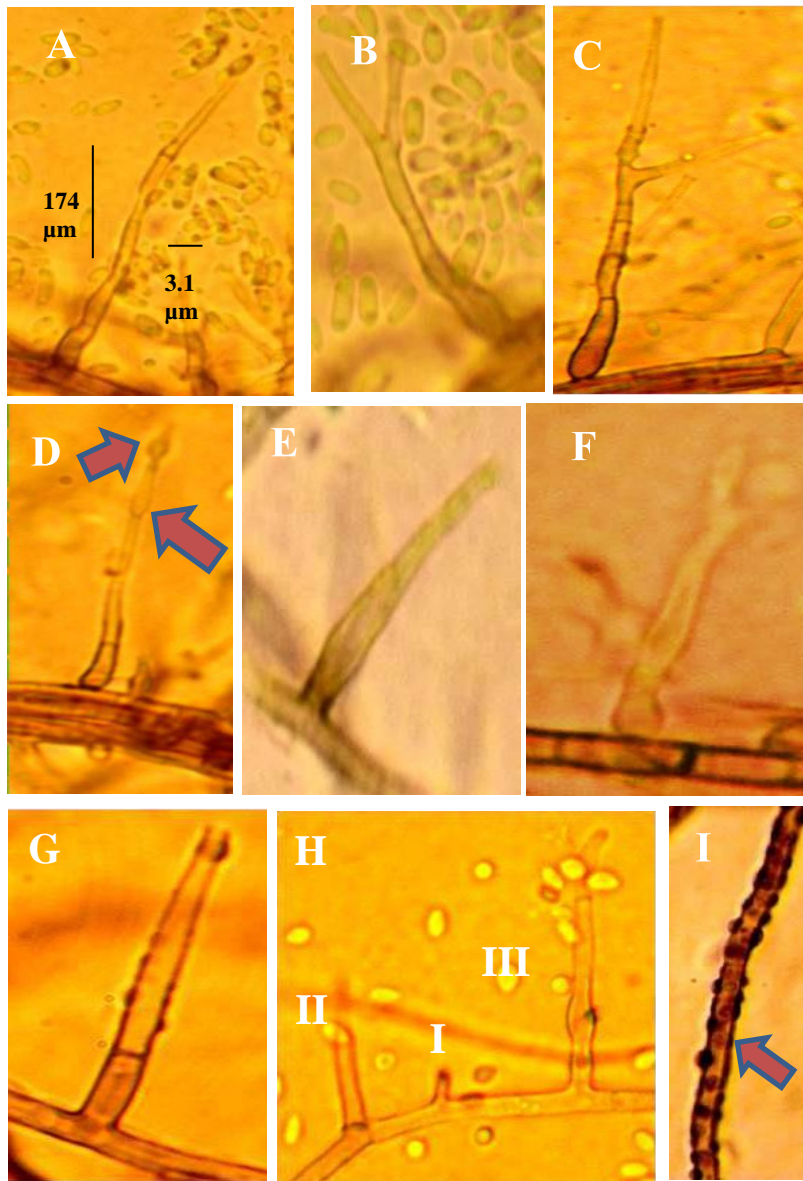
verde oliváceo oscuro con borde blanco, rugosa, margen ligeramente lobulado y glabra (Figura 2N). En AA verde grisáceo con borde blanco en el anverso y reverso, rugosa a aplanada, margen ligeramente lobulado y aterciopelada (Figura 2O).

### Identificación del género y la especie

Los aislados: Eco2-Pha7 y SJ2-Pch5 presentaron hifas septadas, oscuras a medio marrones, dispuestas en paquetes o sueltas y verrucosas con verrugas pequeñas de 1  $\mu\text{m}$  de diámetro; conidióforos septados, más oscuros en la base y más hialinos hacia el ápice; en su mayoría cortos y no ramificados 17.4 x 3.1  $\mu\text{m}$  y 23.7 x 2.4  $\mu\text{m}$  respectivamente, muestran rejuvenecimiento percurrente; fiálide lateral y terminal, polifialídicos, predominando el tipo II navicular y el tipo III subulada, y fiálides tipo I y tipo II navicular respectivamente; conidios unicelulares, sub hialinos a hialinos, bigutuladas, oblongo-elipsoidales o alantoides, con dimensiones 5.1 x 1.5  $\mu\text{m}$  y 4.1 x 1.7  $\mu\text{m}$  respectivamente, características que coinciden con *P. krajenii* (Figura 3 y Tabla 2).

**Tabla 2. Características microscópicas de los hongos aislados de la madera de la vid obtenidos en Piura.**

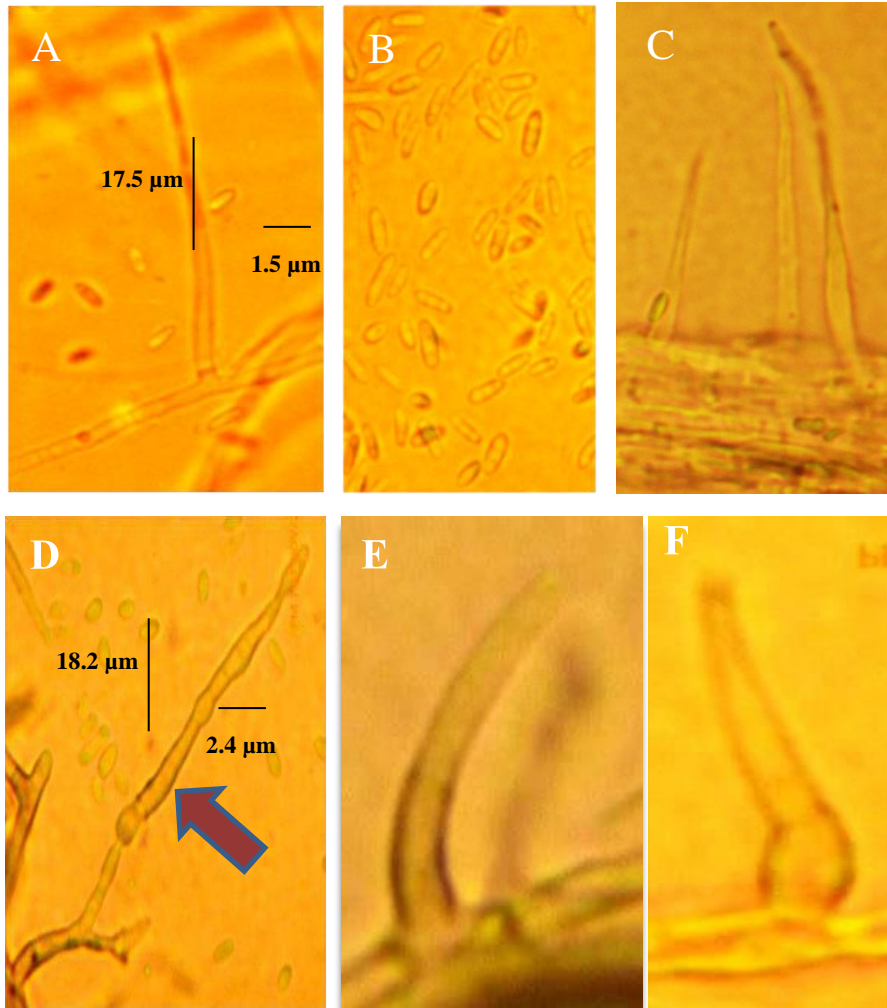
Aislado	Conidióforo	Dimensión-conidióforo (µm)	Forma de conidio	Dimensión-conidio (µm)	Textura	Verrugas	Clamidospora	Tipo de fiálide	Patógeno
UAP1-Pha1	Corto, simple, hialino	17.5 x 1.5	Oblongo elipsoidal	3.9 x 2.0	Liso	No	-	III, subcilíndrica	<i>Phaeoacremonium</i> spp.
UAP2-Pha2	Corto, simple, hialino	13.3 x 2.4	Oblongo elipsoidal, rectas	4.1 x 2.4	Liso	No	-	III, subcilíndrica	<i>Phaeoacremonium</i> spp.
UAP3-Pha3	Corto, simple, hialino	14.0 x 2.7	Oblongo elipsoidal, rectas	5.0 x 1.5	Liso	No	-	III, subcilíndrica	<i>Phaeoacremonium</i> spp.
Agch-Pha4	Corto, simple, hialino	19.8 x 2.4	Oblongo elipsoidal, rectas	5.1 x 1.5	Liso	No	-	III, subcilíndrica	<i>Phaeoacremonium</i> spp.
Pedr-Pha5	Corto, simple, hialino	21.8 x 2.1	Oblongo	3.8 x 1.2	Liso	No	-	III, subcilíndrica	<i>Phaeoacremonium</i> spp.
Eco1-Pha6	Corto, simple, hialino	14.4 x 2.8	Oblongo elipsoidal	5.4 x 2.2	Liso	No	-	I y III (subc.)	<i>Phaeoacremonium</i> spp.
Eco5-Pha10	Corto, simple, hialino	19.9 x 2.9	Oblongo, elipsoidal	3.9 x 2.2	Liso	No	-	III, subcilíndrica	<i>Phaeoacremonium</i> spp.
Eco2-Pha7	Corto, simple, marrón	17.4 x 3.1	Alantoides, oblongas	5.1 x 1.5	Verrucoso	Si	-	II y III (nav.)	<i>P. krajdenui</i>
SJ2-Pch5	Corto, simple, marrón	23.7 x 2.4	Oblongo	4.1 x 1.7	Verrucoso	Si	-	I y II (navicular)	<i>P. krajdenui</i>
Visad-Pch1	Corto, ramificado, marrón	18.2 x 2.4	Alantoides, oblongo, globosas	4.3 x 1.7	Verruculoso	Si	-	III (subc <sup>4</sup> , sub <sup>5</sup> )	<i>P. inflatipes</i>
Aglap-Pch2	Largo, ramificado, marrón	32.1 x 2.1	Alantoides, oblongo	5.0 x 1.9	Verrucoso	Si	-	II y III (subulada)	<i>P. parasiticum</i>
Piura-Pch6	Largo, ramificado, marrón	34.6 x 2.4	Oblongo, elipsoidal, alantoides	5.4 x 1.6	Verrucoso	Si	-	II (nav <sup>3</sup> ) y III (subc <sup>4</sup> )	<i>P. parasiticum</i>
SJ1-Pch4	Largo, ramificado, marrón	36.3 x 2.3	Oblongo elipsoidal	5.7 x 2.9	Verrucoso	Si	-	I y III (subulada)	<i>P. parasiticum</i>
Agvi-Pch3	Simple, marrón oliváceo	22.1 x 3.1	Oblongo elipsoidal	5.1 x 2.7	Verruculoso	No	Sol <sup>1</sup> e inter <sup>2</sup>		<i>Pa. chlamydospora</i>



**Figura 3.** Características microscópicas similares a *Phaeoacremonium krajdienii*. Eco2-Pha7: A) conidióforo no ramificado; B) conidióforo con polifiálide con conidios, C) conidióforo monofiáldico con fiálide terminal y lateral, D) conidióforo que muestra el rejuvenecimiento percurrente e hifas en paquetes, E) conidióforo, F) fiálide tipo II navicular, G) fiálide tipo III subulada, H) conidios; SJ2-Pch5: H) conidios y fiálides tipo I, II y III, I) gotas de exudado observados como verrugas pequeñas.

Los aislados: UAP1-Pha1, UAP2-Pha2, UAP3-Pha3, Agch-Pha4, Pedr-Pha5, Eco1-Pha6 y Eco5-Pha10, presentaron similitudes microscópicas: hifas septadas, hialinas, dispuestas a veces en paquetes y lisas; conidióforos cortos, septados, hialinos, monofiáldicos, con dimensiones de 13.3-21.8 x 1.5 x 2.9  $\mu\text{m}$ , sin rejuvenecimiento percurrente; fiálides tipo III subcilíndricas; conidios unicelulares, hialinos, bigutulados, oblongo elipsoidales a rectos 3.8-5.4 x 1.2-2.4  $\mu\text{m}$ , todas con características son similares a *Phaeoacremonium* spp. (Figura 4 A, B, C y Tabla 2). El aislado VISAD-Pch1 tiene hifas septadas de color

marrón pálido, dispuestas en paquetes o sueltas, verruculosas con verrugas de hasta 0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro; conidióforos ramificados, septados, marrón pálido a hialino, con dimensiones de 18.2 x 2.4  $\mu\text{m}$ , muestran rejuvenecimiento percurrente; fiálide terminal y lateral, monofiáldicas, predominando el tipo III subcilíndrica, elongada ampuliforme y el tipo II navicular; conidios sub hialinos, algunas bigutuladas, oblongo- elipsoidales u ovoides, reniformes o alantoides, con dimensiones de 4.3 x 1.7  $\mu\text{m}$  estas características coinciden con *P. inflatipes* (Figura 4 D, E, F y Tabla 2).



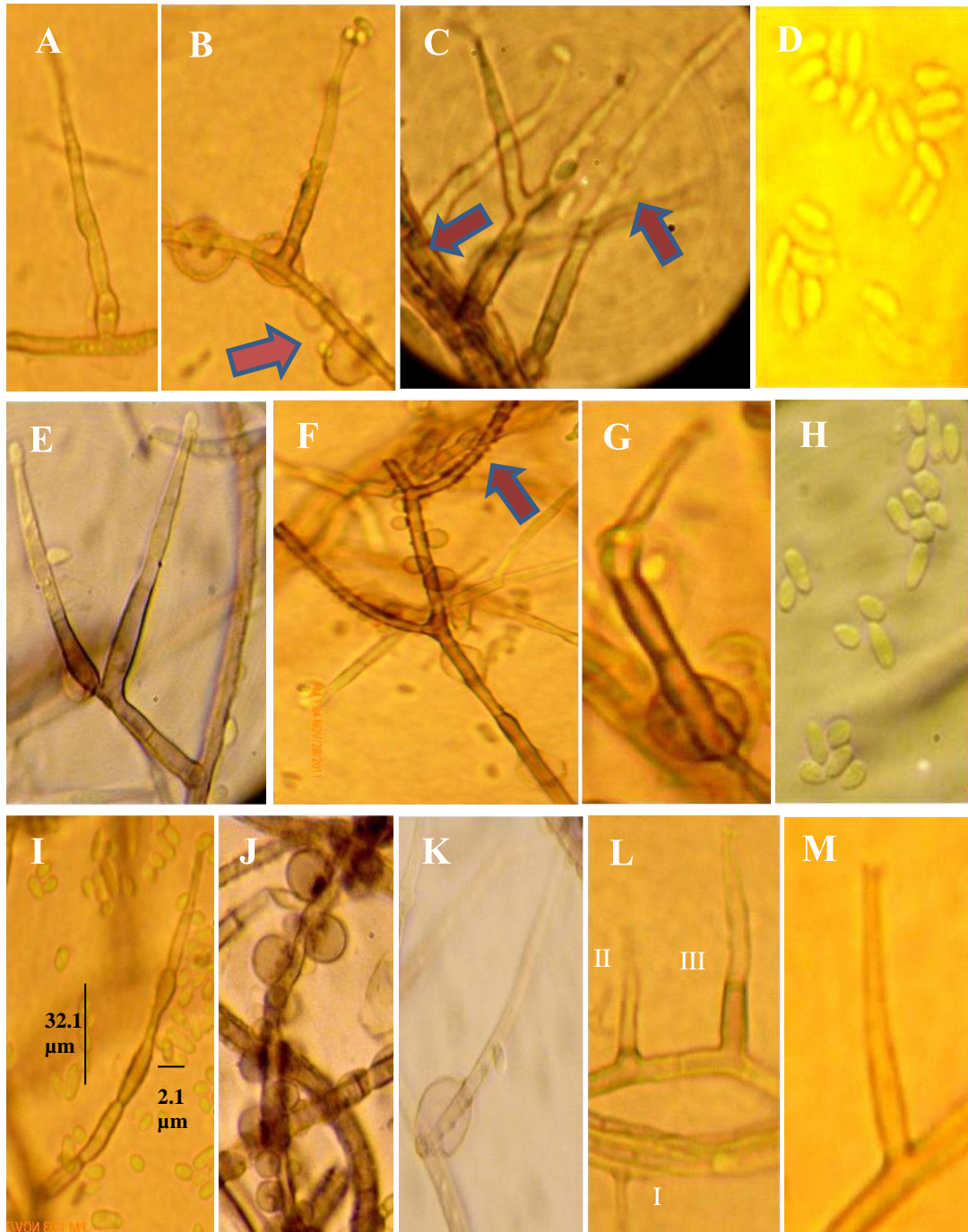
**Figura 4.** Características microscópicas similares a *Phaeoacremonium* spp. UAP1-Pha1: A) conidióforo hialino, B) conidios, C) agrupación de conidióforos; características similares a *P. inflatipes*, VISAD-Pch1: D) conidióforo que muestra el rejuvenecimiento percurrente y conidios, E) fiálides, tipo III subcilíndrica, F) tipo II elongada ampuliforme.

Los aislados: Aglap-Pch2, SJ1-Pch4 y Piura-Pch6 presentaron hifas septadas (marrón oscuro), verrucosas, dispuestas en grupos (paquetes) o sueltas, con exudados en forma de verrugas (3  $\mu\text{m}$  de ancho); conidióforos mayormente largos y ramificados, los conidióforos no ramificados presentaron un ligero hinchamiento en la base (color marrón claro) pálido hacia el ápice, 31.1-36.3 x 2.1-2.4  $\mu\text{m}$  con frecuencia se presenta el rejuvenecimiento percurrente; fiálides terminales o laterales, sobre todo monofialídicas de tipo III subuladas, naviculares, escasas tipo I; conidios hialinas, bigutuladas, oblongo-elipsoidales a ovoides, a veces alantoides, con dimensiones de 5.0-5.7 x 1.6-2.9  $\mu\text{m}$  estas características coincide con *P.*

*parasiticum* (Figura 5 Tabla 2).

El aislado Agvi-Pch3 tiene hifas septadas, marrón oliváceo a verde oliváceo, verruculosas, sueltas, a la madurez formaron clamidosporas marrón oliváceo de forma globosa a sub globosa y solitarias; conidióforos dispuestos en ángulo recto, largos, con 1-3 septas, solo la célula pie basal tiene pigmentación marrón oliváceo y monofialídicos; fiálides elongadas verde tenue a hialino y conidios oblongo-elipsoidales, 5.1 x 2.7  $\mu\text{m}$ . Estas características microscópicas coinciden con la descripción de *Phaeomoniella chlamydospora* (Figura 6 Tabla 2).





**Figura 5.** Características microscópicas similares a *Phaeoacremonium parasiticum*, Aglap-Pch2: A) conidióforo, B) hifas verrucosas con gotas de exudado observados como prominentes verrugas, C) conidióforo que muestra el rejuvenecimiento percurrente e hifas en paquetes, D) conidios; SJ1-Pch4: E) conidióforo ramificado, F) hifas verrucosas con gotas de exudado observados como prominentes verrugas, G) verrugas, H) conidios; Piura- Pch6: I) conidióforo y conidios, J) hifas verrucosas con gotas de exudado observados como prominentes verrugas, K) verrugas en la parte basal del conidióforo, L) fiálides tipo I, II y III e hifas en paquetes, M) fiálide tipo III navicular.

### Pruebas de patogenicidad

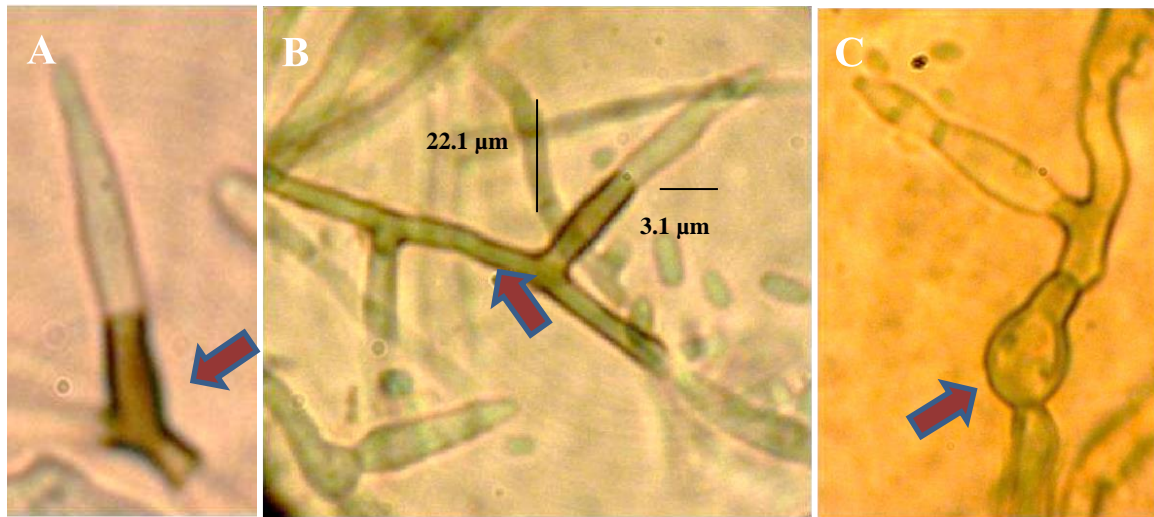
Las plántulas de vid (Red Globe/MGT-101.14)

inoculadas con los aislados seleccionados para este estudio presentaron síntomas externos visibles de la enfermedad de Petri como: amarilleo del ápice y

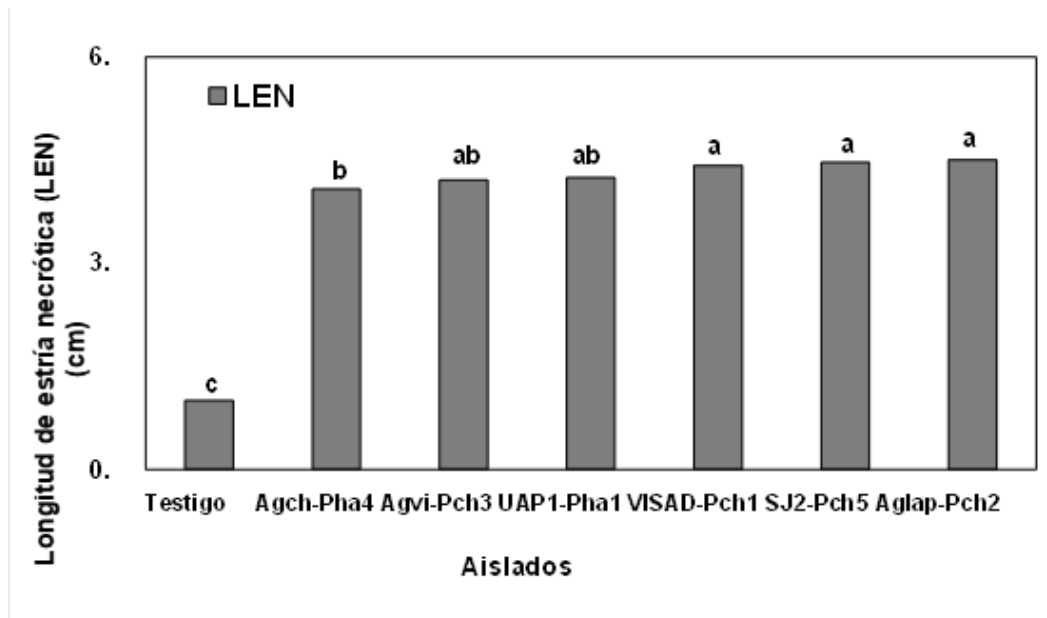
nervaduras de las hojas, un menor tamaño de las hojas, marchitamiento y debilitamiento de brotes, ocasionando en algunos casos la muerte de las plántulas 75 DDI.

Los síntomas internos de la enfermedad se midieron mediante el avance de la longitud de la estría necrótica (LEN). Los aislados Aglap-Pch2 (*P. parasiticum*), SJ2-Pch5 (*P. krajdinii*), VISAD-Pch1 (*P. inflatipes*), UAP1-Pha1

(*Phaeoacremonium* spp.) presentaron los valores más altos en la LEN sin diferencias significativas con  $4.50 \pm 0.19$  cm;  $4.46 \pm 0.10$  cm;  $4.42 \pm 0.28$  cm;  $4.24 \pm 0.18$  cm respectivamente, seguido de Agvi-Pch3 (*Pa. chlamydospora*) con  $4.21 \pm 0.28$  cm, y el aislado Agch-Pha4 (*Phaeoacremonium* spp.) presentó la menor LEN con  $4.08 \pm 0.42$  cm (Figura 7). El testigo no presentó desarrollo de la LEN cuyo valor fue 1 por la transformación de datos  $\sqrt{(x+1)}$  (Figura 7).



**Figura 6.** Características microscópicas similares a *Phaeoacremonium chlamydospora*, Agvi-Pch3: A) conidióforo con la célula pie basal con pigmentación oscura, B) hifas verruculosas y conidios, C) formación de una clamidospora solitaria e intercalar.



**Figura 7.** Desarrollo de la longitud estría necrótica LEN (cm) 75 DDI causadas por patógenos relacionados con la enfermedad de Petri. Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de rangos múltiples de Duncan;  $P < 0.05$ ). Los datos fueron transformados a  $\sqrt{(x+1)}$ .

## DISCUSIÓN

Los hongos fueron aislados a partir de estrías necróticas presentes en haces vasculares en la base de tallo y zona del injerto en viñedos de Piura de las diferentes combinaciones de la variedad Red Globe con los portainjertos: Freedom, MGT 101-14, Salt Creek y Harmony. Se identificaron morfológicamente a nivel macro y microscópico a: *Phaeoacremonium* spp. (UAP1-Pha1, UAP2-Pha2, UAP3-Pha3, Agch-Ph4, Pedr-Pha5, Eco1-Pha6 y Eco5-Pha10); *P. krajdennii* (Eco2-Pha7 y SJ2-Pch5); *P. inflatipes* (VISAD-Pch1); *P. parasiticum* (Aglap-Pch2, SJ1-Pch4 y Piura-Pch6); y *Phaeoacremonium chlamydospora* (Agvi-Pch3).

De acuerdo con Mostert *et al.* (2005, 2006) las características presentadas en los tres medios de cultivo PDA, AEM y AA a excepción Agvi-Pch3 pertenecen al género *Phaeoacremonium*. Estos mismos autores, concuerdan que las colonias que pertenecen a este género tienen topografía aplanada, borde entero a ligeramente lobulado, textura fieltada o algodonosa.

Las características mostradas por el aislado Agvi-Pch3 coinciden con las descritas por Crous y Gams (2000) quienes mencionan que el género *Phaeoacremonium* presenta una colonia de color gris-oliváceo a oliváceo oscuro en medio PDA y AEM.

Mostert *et al.* (2005, 2006) mencionan que los conidióforos, son una característica taxonómica importante de *P. parasiticum* predominando conidióforos largos y con frecuencia ramificados, característica que se distingue en los aislados Aglap-Pch2, SJ1-Pch4 y Piura-Pch6. Mientras que *P. inflatipes*, se puede identificar por sus conidióforos cortos y ramificados en la región basal, característica que se distingue en el aislado VISAD-Pch1. Asimismo, *P. krajdennii* se puede distinguir por sus conidióforos cortos y en su mayoría no ramificados, característica que se presentan en los aislados Eco2-Pha7 y SJ2-Pch5. Por otro lado, los aislados UAP1-Pha1, UAP2-Pha2, UAP3-Pha3, Agch-Ph4, Pedr-Pha5, Eco1-Pha6 y Eco5-Pha10 presentaron conidióforos cortos, septados, monofialídicos, sin rejuvenecimiento percurrente; estas características coinciden con *Phaeoacremonium* spp. descritas por Mostert *et al.* (2005, 2006). Ellos indican que el rejuvenecimiento por proliferación percurrente de las fiálides, es el crecimiento de una nueva fiálide a través de la punta de una fiálide existente, esta característica se observa en *P. parasiticum*, *P.*

*krajdennii* y *P. inflatipes*.

La forma de los conidios de Agvi-Pch3 también coincide con las descritas en *Phaeoacremonium*, según Crous y Gams (2000), estos conidios son hialinos a sub hialinos, oblongo-elipsoidales, rectas, con la base de la fiálide con pigmentación marrón oliváceo.

Los aislados seleccionados en las pruebas de patogenicidad indujeron síntomas externos en la planta como: amarilleo del ápice y nervaduras de las hojas, un menor tamaño de hojas, entrenudos cortos, marchitamiento entre otros, e internos como estrías necróticas medidos mediante la LEN. Las especies de *Phaeoacremonium* alcanzaron una LEN entre  $4.08 \pm 0.42$ - $4.50 \pm 0.19$  cm y *Pa. Chlamydospora* con  $4.24 \pm 0.18$  cm, resultados similares fueron obtenidos por Morales *et al.* (2022 b) en plántulas de uva de la variedad R-110 inoculadas con *P. parasiticum* alcanzando una LEN de  $4.77 \pm 0.24$  cm a los 70 DDI.

Pierron *et al.* (2016) evaluaron a nivel tisular mediante microscopía-óptica esquejes de *Cabernet sauvignon* inoculados con los patógenos *Pa. Chlamydospora* y *P. aleophilum* solos o en conjunto, un menor desarrollo en el tejido vascular inoculadas con *Pa. chlamydospora* comparadas con *P. aleophilum*; sin embargo, en la co-inoculación se observó un fenotipo intermedio 6 semanas después de su inoculación. Así también, se presentó la expresión de los genes de resistencia como: PAL, PR10.3, TL, STS entre otros a las 10, 24, 48 y 120 horas después de la inoculación.

Romero-Rivas *et al.* (2009), identificaron a *P. parasiticum* colonizando haces vasculares de cultivar Red Globe entre 4-8 meses de edad, presentando estrías necróticas en sus haces vasculares y necrosis de las hojas. Resultados similares fueron obtenidos por Baloyi *et al.* (2018) confirmando que las heridas realizadas en el tejido lignificado son una vía de entrada para la infección de *P. parasiticum*. El hongo *P. parasiticum* ha demostrado ser un patógeno virulento en ensayos con ciruelas y albaricoques en Sudáfrica, causando importantes lesiones necróticas (Damm *et al.*, 2008). Asimismo, el género *Phaeoacremonium* tiene un amplio rango de hospederos, favoreciendo su supervivencia y propagación en el campo, causando gran preocupación en los viticultores, debido a la introducción de nuevas especies y a las limitadas medidas de control (Spies *et al.*, 2018).

Bruez *et al.* (2012) y Pierron *et al.* (2016)

mencionan que existen ciertos patógenos (hongos, bacterias) asociados a la descomposición de la madera en plantas leñosas, afectando principalmente el xilema y causando la marchitez de la planta como resultado de la interacción planta-patógeno. Además, el ancho de los vasos xilemáticos presentes en la vid son superiores al de los árboles, lo que explica su susceptibilidad a estos patógenos (Pouzoulet *et al.*, 2014). Por otro lado, *P. aleophilum* ha mostrado ser más eficiente que *Pa. chlamydospora* en la degradación y colonización de la madera de vid, localizándose en vasos xilemáticos, fibras y médula xilemáticas a comparación de *Pa. chlamydospora* encontrada en las fibras circundantes al xilema (Morales-Cruz *et al.*, 2015; Pierron *et al.*, 2016).

Pouzoulet *et al.* (2014) y Pierron *et al.* (2016) indican que las plantas frente al ataque de patógenos a nivel tisular, responden mediante la formación de barreras mecánicas circundantes a las paredes celulares formadas por lignina y suberina. Asimismo, estos autores indican que la expresión de los síntomas se debe a la segregación de toxinas producidas por los hongos y al estrés hídrico causado por el deterioro de los haces vasculares, dependientes de las condiciones agro-climáticas.

## CONCLUSIONES

Se identificaron los hongos asociados con la enfermedad de Petri: *Phaeoacremonium spp.*; *P. krajdienii*; *P. inflatipes*; *P. parasiticum* y *Phaeomoniella chlamydospora*, reportando por primera vez la presencia de *P. inflatipes* en la región Piura-Perú. En las pruebas de patogenicidad las especies de *Phaeoacremonium* alcanzaron mayor longitud de la estría necrótica que *Pa. chlamydospora* demostrando su capacidad de colonización y degradación de la madera.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Miguel Garrido Rondoy, docente de la Universidad Nacional de Tumbes por su aporte en esta investigación.

**Funding.** All authors declare not having received any funding in the development of our research.

**Conflict of interest statement.** All authors declare not having any conflict of interest in this article that has affected the performance of the same.

**Compliance with ethical standards.** Do not apply.

**Data availability.** Data is available with the

corresponding author upon reasonable request.

**Author contribution statement (CRediT).** **J. Javier-Alva** - Conceptualization, Data Curation, Methodology, Editing., **A. López-Castillo** - Formal analysis, methodology., **L.A. Álvarez** - Methodology, Writing – review & editing., **R. Chanduvi-García** – Validation- Formal analysis., **R. Peña-Castillo** – Validation- Formal analysis., **R. Aguilar-Ancota** - Methodology, Writing – review & editing., **C. Granda-Wong** – Conceptualization., **M. Galecio** - Writing – review & editing., **S. Condori-Pacsi** - Data curation., **A. Morales-Pizarro** - methodology, Data curation, Supervision.

## REFERENCIAS

- Aguilar-Ancota, R., Arévalo-Quinde, C. G., Morales-Pizarro, A. and Galecio-Julca, M., 2021. Hongos asociados a la necrosis de haces vasculares en el cultivo de banano orgánico: síntomas, aislamiento e identificación, y alternativas de manejo integrado. *Scientia Agropecuaria*, 12(2), pp. 249-256. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.028>.
- Álvarez, L. A., Tamayo, D., Castilla, C., Munive, C., Agustí-Brisach, C., Gramaje, D. and Armengol, J., 2012. Occurrence of grapevine trunk pathogens in nurseries and vineyards in the northern and southern coast of Peru. *Phytopathologia Mediterranea*, 51(2), pp. 425. <https://www.jstor.org/stable/43871750>
- Agustí-Brisach, C., Gramaje, D. and Armengol, J., 2012. Occurrence of grapevine trunk pathogens in nurseries and vineyards in the northern and southern coast of Peru. *Phytopathologia Mediterranea*, 51(2), pp. 425. <https://oajournals.fupress.net/index.php/pm/article/download/5498/5496>
- Armengol, J. and Gramaje, D., 2019. Adaptación del material vegetal y efectos sobre las enfermedades de la madera. In: Compe Lopez, R. and Sotes Ruiz, V. Coord. 2019. El sector vitivinícola frente al desafío del cambio climático. España: Cajamar. pp. 245-263. <https://www.publicacionescajamar.es/publicacionescajamar/public/pdf/series-tematicas/informes-coyuntura->



- [monografias/el-sector-vitivinicola-frente-al.pdf](#)
- Baloyi, M., Mostert, L. and Halleen, F., 2018. Pathogenicity of ten *Phaeoacremonium* species associated with esca and Petri disease of grapevine. *Phytopathologia Mediterranea*, 57(3), pp. 538-546. [https://doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-23940](https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-23940)
- Battiston, E., Compant, S., Antonielli, L., Mondello, V., Clément, C., Simoni, A., Di Marco, S., Mugnai, L. and Fontaine, F., 2021. In planta Activity of Novel Copper (II)-Based Formulations to Inhibit the Esca-Associated Fungus *Phaeoacremonium minimum* in Grapevine Propagation Material. *Frontiers in Plant Science*, 12, pp. 312. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.649694>
- Bruetz, E., Vallance, J., Gerbore, J., Lecomte, P., Guérin-Dubrana, L. and Rey, P., 2012. Endophytic microflora of woody tissue of healthy and trunk diseased-grapevines. *International Workshop on Grapevine Trunk Diseases*, 51. <https://hal.inrae.fr/hal-02747556>
- Damm, U., Mostert, L., Crous, P. W. and Fourie, P. H., 2008. Novel *Phaeoacremonium* species associated with necrotic wood of *Prunus* trees. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 20, pp. 87-102. <https://doi.org/10.3767/003158508X324227>
- Dries, L., Hendgen, M., Schnell, S., Löhnertz, O. and Vortkamp, A., 2021. Rhizosphere engineering: leading towards a sustainable viticulture?. *OENO One*, 55(2), pp. 353-363. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2021.55.2.4534>
- Crous, P.W. and Gams, W., 2000. *Phaeomoniella chlamydospora* gen. et comb. nov., a causal organism of Petri grapevine decline and esca. *Phytopathologia Mediterranea*, 39(1), pp. 112-118. <https://www.jstor.org/stable/26456536>
- Gramaje, D., Mostert, L., Groenewald, J. Z. and Crous, P. W., 2015. *Phaeoacremonium*: from esca disease to phaeohyphomycosis. *Fungal Biology*, 119, pp. 759-783. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.06.004>
- Gramaje, D., Úrbez-Torres, J. R. and Sosnowski, M., 2018. Managing Grapevine Trunk Diseases with Respect to etiology Epidemiology: Current strategies and future prospects. *Plant Disease*, 102, pp. 12-39. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-17-0512-FE>
- Gubler, W. D., Eskalen, A., Feliciano, A. J. and Khan, A., 2001. Susceptibility of grapevine pruning wounds to *Phaeomoniella*, *chlamydospora* and *Phaeoacremonium* spp. *Phytopatologia Mediterranea*, 40, pp. 482-483. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdfplus/10.1094/PDIS-91-9-1100>
- Hidalgo, L., Y Hidalgo, J., 2011. *Tratado de Viticultura General*. 4ª edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, pp. 1031
- MINCETUR (Ministerio de Comercio Exterior y Turismo), 2022. Perú se convierte en primer exportador mundial de uvas. <https://www.gob.pe/institucion/mincetur/noticias/585846-peru-se-convierte-en-primer-exportador-mundial-de-uvas>
- Morales-Cruz, A., Amrine, K. C., Blanco-Ulate, B., Lawrence, D. P., Travadon, R., Rolshausen, P. E. and Cantu, D., 2015. Distinctive expansion of gene families associated with plant cell wall degradation, secondary metabolism, and nutrient uptake in the genomes of grapevine trunk pathogens. *BMC Genomics*, 16(1), pp. 1-22. <https://link.springer.com/article/10.1186/s12864-015-1624-z>
- Morales-Pizarro, D. A., Javier-Alva, J., Álvarez, L. A., Mayta-Obos, R., Aguilar-Ancota., Peña-Castillo, R. and Lindo-Seminario, D., 2022 a. Isolation, identification and *in vitro* evaluation of native isolates of *Bacillus*, *Trichoderma* and *Streptomyces* with potential for the biocontrol of grapevine trunk fungi. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 25(2), pp. #86. <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.4206>
- Morales Pizarro, D., Javier Alva, J., Álvarez, L., Peña Castillo, R., Chanduví García, R., Granda Wong, C., Mayta Obos, R., Lindo Seminario, D. and Condori Pacsi, S., 2022

- b. *In vivo* control of *Phaeoacremonium parasiticum* with native antagonists *Bacillus*, *Trichoderma* and *actinomycetes* and their growth promoting effect in grapevine. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 25(3), p. #116. <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.4232>
- Mostert, L., Groenewald, J. Z., Summerbell, R. C., Robert, V., Sutton, D. A., Padhye, A. A. and Crous, P. W., 2005. Species of *Phaeoacremonium* associated with infections in humans and environmental reservoirs in infected woody plants. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(4), pp. 1752-1767. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.4.1752-1767.2005>
- Mostert, L., Groenewald, J. Z., Summerbell, R. C., Gams, W. and Crous, P. W., 2006. Taxonomy and pathology of *Togninia* (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium* anamorphs. *Studies Mycology*, 54, pp. 1-113. <https://doi.org/10.3114/sim.54.1.1>
- Pierron, R. J., Pouzoulet, J., Couderc, C., Judic, E., Compant, S. and Jacques, A., 2016. Variations in early response of grapevine wood depending on wound and inoculation combinations with *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeomoniella chlamydospora*. *Frontiers in Plant Science*, 7, pp. 268. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00268>
- Pouzoulet, J., Pivovarov, A. L., Santiago, L. S. and Rolshausen, P. E., 2014. Can vessel dimension explain tolerance toward fungal vascular wilt diseases in woody plants? Lessons from Dutch elm disease and esca disease in grapevine. *Frontiers in Plant Science*, 5, pp. 253. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00253>
- Reveglia, P., Raimondo, M. L., Masi, M., Cimmino, A., Nuzzo, G., Corso, G., and Evidente, A., 2022. Untargeted and Targeted LC-MS/MS Based Metabolomics Study on *in Vitro* Culture of *Phaeoacremonium* sp. *Journal of Fungi*, 8(1), pp. 55. <https://doi.org/10.3390/jof8010055>
- Romero-Rivas, L. C., Álvarez, L. A., Gramaje, D. and Armengol, J., 2009. First report of *Phaeoacremonium parasiticum* causing Petri disease of grapevine in Peru. *Plant Disease*, 93(2), pp. 200-200. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-2-0200B>
- Spies, C. F. J., Moyo, P., Halleen, F. and Mostert, L., 2018. *Phaeoacremonium* species diversity on woody hosts in the Western Cape Province of South Africa. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 40, pp. 26-62. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2018.40.02>
- Stempien, E., Jean, R., Pierron, G., Adendorff, I., Van Jaarsveld, W. J., Halleen, F. and Mostert, L., 2020. Host defence activation and root colonization of grapevine rootstocks by the biological control fungus *Trichoderma atroviride*. *Phytopathologia Mediterranea*, 59(3), pp. 615-626. <https://doi.org/10.14601/Phyto-11137>