

Identificación y caracterización de enfermedades en *Cannabis sativa* L.

Identification and characterization of diseases in *Cannabis sativa* L.

Manuel Alfonso Patiño Moscoso¹Gustavo Adolfo Rodríguez Yzquierdo¹; Mónica Betancourt Vásquez¹

Recibido para publicación: 25 de mayo de 2022 - Aceptado para publicación: 03 de junio de 2022

RESUMEN

El cultivo de *Cannabis* medicinal es uno de los principales renglones agrícolas en crecimiento de Colombia, sin embargo, el aumento de las áreas de producción y la intensificación del cultivo trae consigo la mayor predisposición a la aparición de plagas y enfermedades. El objetivo del trabajo fue identificar las principales enfermedades asociadas a un cultivo comercial de cannabis bajo invernadero y en alta densidad de siembra. Se caracterizaron los síntomas de enfermedades presentes en el cultivo durante un año de producción. Se tomaron muestras en las diferentes fases fenológicas y áreas de la finca como: propagación, lotes de producción y de poscosecha. Se colectaron un total de 43 muestras entre tejido enfermo, suelo, compost, sustratos y aguas. El mayor porcentaje de las muestras colectadas correspondieron a tejidos de esquejes que presentaron "Damping off" (28%), seguidos de muestras con síntomas de lesión foliar con halo clorótico (19%). Se obtuvieron 26 aislamientos puros de hongos fito patógenos, caracterizados morfológica y molecularmente correspondientes a *Botrytis cinerea* (8%), *Sclerotinia sclerotiorum* (15%), *Fusarium* sp. (46%), *Bipolaris* sp. (12%), *Rhizoctonia solani* (8%) y *Corynespora asiicola* (8%) causando enfermedades al cultivo. Síntomas asociados a "Damping off", revelaron la presencia de *Rhizoctonia solani* provocando estrangulamiento y pudrición en la base del esqueje. Se reportaron tres especies de *Fusarium*: *Fusarium fujikuroi*, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium graminearum*, este último asociado a la pudrición en la base del tallo. Otro de los problemas con mayor incidencia fue la mancha foliar asociada a la presencia de *Bipolaris* sp. y *Corynespora asiicola*.

Palabras clave: *Corynespora asiicola*; Cannabis; Enfermedades foliares; *Fusarium graminearum*.

¹ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Agrosavia, Departamento de Semillas. Mosquera, Colombia.

*Autor para correspondencia: Mónica Betancourt Vásquez
Email: mbentancourt@agrosavia.co

ABSTRACT

The medicinal *Cannabis* crop is one of the main growing agricultural activities in Colombia. However, the increase in production areas and the intensification of crops brings a greater predisposition to pests and diseases incidence. The objective of this research was to identify the main diseases associated with a high-density commercial Cannabis crop in a greenhouse. Samples of disease symptoms present in the crop during a round year of production were characterized. Samples were taken in different phenological phases and areas of the farm such as: propagation areas, field production and post-harvest. A total of 43 samples were collected among diseased tissue, soil, compost, substrates, and water. "Damping off" was present in the highest percentage of samples collected from cuttings (28%), followed by samples affected with leaf spot chlorotic halo symptoms (19%). 26 pure isolates of phytopathogenic fungi were obtained, and morphologically and molecularly characterized causing diseases in the crop. They were consistent with *Botrytis cinerea* (8%), *Sclerotinia sclerotiorum* (15%), *Fusarium* sp. (46%), *Bipolaris* sp. (12%), *Rhizoctonia solani* (8%) and *Corynespora asiicola* (8%). Symptoms associated with "Damping off" or wilt tissues revealed the presence of *Rhizoctonia solani* causing strangulation and cutting rot at the base. Three species of *Fusarium* were reported: *Fusarium fujikuroi*, *Fusarium oxysporum* and *Fusarium graminearum*, the latter associated with stem end rot. Leaf spot associated with *Bipolaris* sp. and *Corynespora asiicola* was present at a high incidence.

Key words: *Corynespora asiicola*; Cannabis; Plant diseases; *Fusarium graminearum*

Cómo citar

Patiño, M. M., Rodríguez, G. A. y Betancourt, V. M. 2022. Identificación y caracterización de enfermedades en *Cannabis sativa* L. Temas Agrarios 27(1): 245-257.
<https://doi.org/10.21897/ta.v27i1.3105>



Temas Agrarios 2022. Este artículo se distribuye bajo los términos de la Licencia Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es>), que permite copiar, redistribuir, remezclar, transformar y crear a partir del material, de forma no comercial, dando crédito y licencia de forma adecuada a los autores de la obra.

INTRODUCCIÓN

El Cannabis (*Cannabis sativa* L.) es una importante especie herbácea originaria de Asia Central, que se ha utilizado por más de 5000 años en la medicina popular y como fuente de fibra textil (Booth y Bohlmann, 2019). Su producto más valioso hoy en día es la resina rica en terpenos y cannabinoides los cuales exhiben diversas propiedades psicoactivas y medicinales (Baron, 2018). En Colombia el cultivo de Cannabis con fines medicinales representa una alternativa productiva que se encuentra enmarcada en la Ley 1787 de 2016. Las cifras de este mercado son optimistas e indican que el mercado legal de cannabis del mundo, estimado en 12.000 millones de dólares en 2018, podría llegar a los 166.000 millones de dólares en 2025 (Portafolio, 2020).

El aumento en la producción comercial del cultivo de cannabis, los sistemas de producción intensiva, bajo invernadero y altas densidades pueden provocar un incremento en los insectos plaga y los agentes patógenos (incluso la aparición de nuevos agentes que no han sido previamente descritos) que pueden afectar negativamente el rendimiento y la calidad del cultivo (Punja, 2018), y más en un cultivo intensivo como el Cannabis con fines farmacéuticos cuyas estrategias de control restringen la aplicación de productos de síntesis química.

A nivel mundial existen diferentes reportes de enfermedades asociadas al cultivo de Cannabis dentro de las que se encuentran las causadas por patógenos de raíz como *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. brachygibbosum*, *Pythium dissotocum*, *P. myriotylum*, y *P. aphanidermatum*. Patógenos foliares como *Golovinomyces cichoracearum* y patógenos de inflorescencias como *Penicillium olsonii*, *Penicillium copticola*, *Botrytis cinerea*, *F. solani*, *F. oxysporum* (Punja et al., 2019).

Otros autores reportan el complejo de hongos causantes de "Damping off" en plántulas (*Pythium ultimum*, *P. aphanidermatum*, *Botrytis cinerea*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp.) (Mcpartland, 2019) fungi, Haematonectria haematococca, plants Descriptor(s), moho gris en flor causado por *Botrytis cinerea* (Thiessen, 2019), mancha de hoja amarilla y marrón causadas por *Septoria cannabis* y *S. neocannabina* (Mushtaque et al., 1973), mildiu en hoja causado por *Pseudoperonospora cannabina* y *P. humuli* (McCain y Noviello, 1985), mancha oliva en hoja causado por *Cercospora cannabis* y *Pseudocercospora cannabina*, tizón marrón causado por *Alternaria alternata*, *A. solani*, *A. longipes* (Mcpartland, 2019) *M. capricolum*, *M. mycooides subsp. capri*, *M. mycooides subsp. mycooides of the large colony* (LC, enfermedades bacterianas de hoja causadas por *Xanthomonas campestris* pv. *Cannabis*, podredumbre rosa causada por *Trichothecium roseum*, chancro de cáñamo causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Bains et al., 2000), chancro por *Fusarium*, marchitamiento por *F. oxysporum* f. sp. *cannabis* (McCain y Noviello, 1985), nemátodos de tallo como *Ditylenchus* sp. (Bakro et al., 2018), podredumbre carbonosa causada por *Macrophomina phaseolina* (Casano et al., 2018), antracnosis causada por *Colletotrichum* spp. (Szarka et al., 2020a), "Striatura ulcerosa" causada por *Pseudomonas amygdali* pv. *mori* (McPartland et al., 2000) *M. capricolum*, *M. mycooides subsp. capri*, *M. mycooides subsp. mycooides of the large colony* (LC, nemátodos formadores de agallas en raíz causado por *Meloidogyne* spp. (Song et al., 2017), pudrición basal y de raíz por *Rhizoctonia solani* (McPartland y Cubeta, 1997), tizón del sur causado por *Sclerotium rolfsii* (Pane et al., 2007), enfermedades virales como Hemp streak virus y Hemp Mosaic virus (Righetti et al., 2018), pudrición blanca causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (Bains et al., 2000), mancha foliar causada por *Bipolaris* sp. (Szarka et al., 2020b), entre otras.

Los estudios publicados enfocados a la caracterización de los patógenos del cultivo de Cannabis en Colombia son escasos (Rubiano Moreno, 2019), en ellos se reporta la presencia de problemas fitosanitarios que incluyen moho gris, mildew polvoso y "Damping off" (Rivera-Hernández, 2020; Rosero, 2019).

El objetivo de este trabajo fue caracterizar los diferentes patógenos presentes en un sistema productivo comercial de Cannabis medicinal a partir de la colecta, aislamiento, identificación y pruebas de patogenicidad de los patógenos presentes en diferentes etapas de producción.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en diferentes cultivos del departamento de Antioquia, caracterizados por su producción bajo invernadero y altas densidades. En cada cultivo se recorrieron las áreas de propagación, los lotes de producción y las áreas de poscosecha (presecado de flor). Las visitas se desarrollaron cada mes, por un periodo de 12 meses y se tomaron muestras de tejido con síntomas relacionados con enfermedades, suelo y sustratos empleados, así como las aguas utilizadas para riego. Cada material fue procesado de manera diferencial como se describe a continuación.

Tejido enfermo

Aislamientos directos de tejido enfermo:

Para este tipo de aislamiento se identificaron las muestras de acuerdo con la sintomatología y en cada caso se estableció un protocolo de preparación y siembra en medio de cultivo.

Manchas oscuras pequeñas y con bordes regulares, rodeadas de halo amarillo y tizón en hojas:

Se tomaron trozos de hoja con la lesión necrótica, estos se desinfectaron secuencialmente con hipoclorito de sodio al 2% (1 min), agua destilada estéril (1 min),

etanol al 70% (1 min) y agua destilada estéril (1 min) y se sembraron dos trozos por caja en medio PDA pH 4,5. Otra muestra del tejido desinfectado se maceró en 200 μ L de Agua destilada estéril (ADE), se tomaron 20 μ L y se diluyeron en 1000 μ L de ADE. Se sembraron 100 μ L de la dilución en medio PDA + Tritón + Cloranfenicol y Agar nutritivo.

Micelio blanco y esclerocios en flor y tallo:

Se tomaron esclerocios y se sembraron en medio PDA pH 4,5 previa desinfección. Se realizaron además cortes de tallo o tejido de flor donde se evidenciara presencia de micelio blanco y se sembraron en PDA pH 4,5.

"Damping off" y marchitamiento con clorosis:

Se tomaron trozos de tallos, se desinfectaron y se maceraron en ADE (200 μ L). Se tomaron 20 μ L y se adicionaron a 1000 μ L de ADE. Se inoculó en medio Cruces con Arveja (Selectivo para Oomycetes) con 100 μ L de la dilución.

Marchitamiento con clorosis y tallo rosado:

Se tomaron secciones de tallos cortadas longitudinalmente y hojas, esto se desinfectó secuencialmente con hipoclorito de sodio al 0,5% (30 s), agua destilada estéril (1 min), etanol al 70% (20 s) y tres lavados con agua destilada estéril. Se sembraron dos trozos por caja en medio PDA + Cloranfenicol. Las muestras se incubaron en oscuridad a 25°C durante 7 días. El micelio generado de los aislamientos de los tejidos o la siembra de las diluciones se repicó en el mismo medio de cultivo.

Moho gris:

Se desinfectaron secuencialmente trozos de tejido con el síntoma y se sembraron en medio PDA pH 4,5 (Dos trozos por placa con medio de cultivo).

Cámaras húmedas

En cajas de Petri con una servilleta húmeda se colocó el tejido enfermo sobre un

portaobjetos y se dejó durante 48 horas en cámara húmeda. El micelio generado sobre la superficie del tejido se sembró en medio PDA pH 4,5. Los aislamientos se incubaron en oscuridad a 25°C durante 7 días. El micelio generado de los aislamientos de los tejidos o la siembra de las diluciones se repicó en el mismo medio de cultivo.

Agua, suelo, compost y sustratos.

Se tomaron 10 g o 10 ml de la muestra y se agregaron en 90 ml de solución salina NaCl al 0,85%. La suspensión se dejó en agitación durante 1 hora para posteriormente realizar diluciones seriadas. Las diluciones 10-2 a 10-5 se sembraron por triplicado en medio PDA + Tritón + Cloranfenicol y Agar Nutritivo (100 µL por caja). Para el caso de las muestras de agua las diluciones 100 a 10-2 se sembraron por triplicado en medio PDA + Tritón + Cloranfenicol y Agar Nutritivo (100 µL por caja).

Las muestras se incubaron en oscuridad a 25°C durante 7 días. Día en el cual se realizó el recuento de unidades formadoras de colonia en cada una de las diluciones.

Se realizaron montajes directos del tejido con el síntoma y se tomaron improntas de los aislamientos puros para observar al microscopio estructuras características. Se realizó además Tinción de Gram a los aislamientos bacterianos.

Caracterización de los aislamientos

Las colonias puras de cada uno de los aislamientos fueron caracterizadas morfológicamente (macroscópica y microscópica) y molecularmente. Se realizó extracción de ADN siguiendo la metodología propuesta por Griffith y Shaw, (1998) y posteriormente se realizó amplificación por PCR empleando los primers ITS1F-ITS4 (ITS1-F 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3' y ITS4 5'-TCCTCCGCTTATGATATGC-3'). Las secuencias resultantes

fueron comparadas con la región ITS1-5.8S-ITS2 correspondiente de las secuencias de la Base de datos GenBank del Centro Nacional para La Información Biotecnológica (NCBI). Los biotipos de hongos se conservaron en medio PDA a -4°C (3 copias de cada uno y en Crioviales en solución de criopreservación (Glicerol 20% y Peptona al 0.5%) a -80°C.

Pruebas de patogenicidad

Para los aislamientos obtenidos de tejido con mancha foliar, "Damping off", moho gris y pudrición blanca, se estandarizaron protocolos de pruebas de patogenicidad para garantizar la identificación del patógeno e identificar dentro de los aislados aquellos con mayor capacidad patogénica y/o virulencia. Dependiendo del patógeno las pruebas de patogenicidad consistieron en aplicar en forma de inmersión de raíces o en spray al tejido foliar, cantidades específicas de las estructuras reproductivas de cada hongo (conidias), cuantificadas y obtenidas a partir de cultivos monospóricos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se colectaron un total 43 muestras entre tejido enfermo, suelo, compost, sustratos y aguas. El mayor porcentaje de las muestras colectadas correspondieron a tejidos de esquejes que presentaron "Damping off" (28%), seguidos de muestras con síntomas de mancha foliar con halo clorótico (19%), plantas con marchitamiento (12%), tallo con micelio y esclerocios (7%), pudrición blanca (7%), esclerocios en flor (5%), raíces con agallas (5%), tizón borde de hoja (5%), bronceado en hoja (2%), tallo hueco (2%), micelio blanco en flor (2%), moho gris en flor (2%), mildew veloso en hojas (2%) y mildew blanquecino en hojas (2%).

El mayor porcentaje de las muestras fueron colectadas en los bloques de producción donde se encontraron la mayoría de las

enfermedades (53%). El 21% de las muestras fueron tomadas en las áreas de plantulación, el 9% en los módulos de investigación, el 7% en las áreas de compostaje, el 5% en presecado y el 2% en los bloques de plantas madre.

De otro lado la mayor cantidad de muestras fueron tomadas de hojas (33%) y tallos (28%). En este último se evidenciaron la mayor cantidad de síntomas que incluyeron "Damping off," micelio en tallo, pudrición blanca, marchitamiento, moho gris y tallo hueco. Las muestras de sustratos (9%) y aguas (7%) fueron tomadas de zonas donde se presentaba la enfermedad. El resto de las muestras fueron tejidos de raíz (5%), compost (5%), suelo (5%) y flor (9%).

En total se obtuvieron 26 aislamientos puros de hongos fitopatógenos, caracterizados morfológica y molecularmente correspondientes a *Botrytis cinerea* (8%), *Sclerotinia sclerotiorum* (15%), *Fusarium* sp. (46%), *Bipolaris* sp. (12%), *Rhizoctonia solani* (8%) y *Corynespora cassicola* (8%). Se encontró adicionalmente un aislamiento de *Chaetomium globosum* el cual fue descartado como fitopatógeno por la sintomatología presentada en la planta.

El 27% de los aislamientos fueron obtenidos de tejidos con síntomas de mancha foliar, el mismo porcentaje fue aislado de plantas con marchitamiento o sustratos y suelo donde se encontraban las plantas con dicha sintomatología, el 19% de los microorganismos fueron aislados de plántulas con "Damping off", el 24% de flores o tallos con micelio blanco y el 4% restante de flores con moho gris.

Un porcentaje representativo correspondiente a más del 50% de los aislamientos se obtuvieron de bloques de producción. Solo el 24% restante correspondieron a aislamientos de hongos provenientes de las zonas de confinamiento (8%), pre-secado (8%) y módulos de investigación (8%).

El 38% de los hongos fueron aislados de tallo, tejido donde se presentó la mayor variabilidad de síntomas. Con frecuencia se obtuvieron aislamientos de patógenos que aparentemente no correspondían al síntoma descrito, aun así, los aislamientos fueron purificados y caracterizados. El 8% de los aislamientos fueron obtenidos de tejidos de raíz, el 35% de hojas, el 4% de suelo y el 15% de flores.

El hecho de que se haya obtenido un mayor número de aislamientos en las muestras con síntomas de mancha foliar y marchitamiento se debió principalmente a que en todos los tejidos con el mismo síntoma se obtenía diferentes géneros de hongos caracterizados morfológicamente y no se evidenciaba una tendencia en la obtención del mismo aislamiento en cada muestra (Tabla 1). Esto posiblemente se debe a que usualmente se estaban aislando organismos de tejidos internos que incluían organismos endófitos naturales de la planta o provenientes de aplicados de insumos biológicos en el cultivo. Los aislamientos reportados como biocontroladores como *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. encontrados en este estudio fueron descartados como agentes causales de enfermedad (Omari *et al.*, 2016).

Tabla 1. Aislamientos obtenidos de hongos en tejidos enfermos de plantas de Cannabis

Aislamiento	Síntoma	Lugar de colecta	Caracterización molecular
C-Flor	Moho en flor	Bloque de producción	<i>Fusarium graminearum</i>
MTHA	Mancha foliar en hoja	Bloque de producción.	<i>Fusarium graminearum</i>
2071219	Tallo con micelio	Bloque de producción.	<i>Fusarium graminearum</i>
2771219	"Damping Off" en esquejes	Confinamiento.	<i>Fusarium graminearum</i>
F-Tallo	Marchitamiento	Bloque de producción.	<i>Fusarium oxysporum</i>
3171219	Suelo donde hay plantas con síntomas de marchitamiento	Bloque de producción	<i>Fusarium oxysporum</i>
171219	"Damping off" en esquejes	Confinamiento	<i>Fusarium fujikuroi</i>
D-Tallo	Marchitamiento	Bloque de producción	<i>Fusarium oxysporum</i>
18819-1	"Damping Off" en esquejes	Confinamiento	<i>Rhizoctonia solani</i>
18819-2	"Damping Off" en esquejes	Confinamiento	<i>Fusarium oxysporum</i>
28819	Marchitamiento, tallo rosado	Bloque de producción	<i>Fusarium graminearum</i>
8819	Marchitamiento, micelio en hoja	Bloque de producción	<i>Fusarium graminearum</i>
1771219	Mancha foliar en hoja	Bloque de producción	<i>Bipolaris</i> sp.
1007 B1A	Mancha foliar en hoja	Bloque de producción	<i>Bipolaris</i> sp.
1003 B1A	Mancha foliar en hoja	Bloque de producción	<i>Bipolaris</i> sp.
1971219	Mancha foliar en hoja	Bloque de producción	<i>Corynespora cassicola</i>
2671219	Moho gris parduzco en flor	Bloque de producción	<i>Botrytis cinerea</i>
1011 Bo	Mancha foliar y moho gris en tallo	Bloque de producción	<i>Botrytis cinerea</i>
2571219	Micelio blanco en tallo	Bloque de producción	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
571219	Moho blanco, esclerocio blando en flor	Presecado	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
871219	Micelio y esclerocios en tallo	Bloque de producción	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
671219	Micelio blanco pegado en flor	Presecado	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
271219	Mildeo polvoso en hoja	Bloque de producción	<i>Erysiphe</i> sp. y <i>Sphaeroteca</i> sp.
1671219	Mildeo veloso en hoja	Bloque de producción	<i>Peronospora</i> sp.

Hongos de los géneros *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia* y *Botrytis* han sido previamente reportados como patógenos en plantas de Cannabis (Ferrell y Thiessen, 2019; Mcpartland, 2019; Punja, 2018; Thiessen, 2019; Wang, 2018) *M. capricolum*, *M. mycooides* subsp. *capri*, *M. mycooides* subsp. *mycooides* of the large colony (LC y por lo tanto, fueron tomados en este estudio para hacer la determinación de síntomas, caracterización y pruebas de patogenicidad.

A continuación, se presentan los principales síntomas, signos y caracterización de los

microorganismos patógenos encontrados en el sistema.

La podredumbre marrón o moho gris en flor y tallos fue causada por *Botrytis cinerea* (Figura 1). Estos resultados corroboran lo reportado por Punja (2018) quien atribuye la pudrición marrón en inflorescencias de Cannabis al patógeno *Botrytis cinerea* y podredumbre interna a *F. solani*. En el presente trabajo la pudrición marrón o moho gris en la flor también correspondió a *Botrytis cinerea* sin embargo no se obtuvieron aislamientos de *F. solani* colonizando el tejido, si no, de *F. graminearum*

y *F. oxysporum*, estos últimos posibles agentes causales del marchitamiento de plantas adultas (Thiessen, 2019).

Los síntomas de moho gris en flor y tallo encontrados en el sistema de producción son similares a los reportados por Mcpartland, (2019) y Scott *et al.*, (2018) en cáñamo quienes indican lesiones húmedas en todas las partes de la planta, incluidos los tallos, las hojas y las flores. Las lesiones de las hojas y las flores eventualmente se vuelven necróticas y producen una masa de esporas grises.

En el presente trabajo cuando los tallos o ramas estaban infectados, las lesiones podían rodear el tallo y causar la rotura de las extremidades o del tallo (Figura 1a). De manera similar a las infecciones de hojas y flores, los tejidos necróticos se encontraban cubiertos con una estera de esporas grises e incluso esclerocios negros. Esto podría explicar porque se obtuvieron aislamientos de *Botrytis cinerea* no solo en flores sino también en hojas.

Algunos autores reportan a *Botrytis cinerea* como causante de "Damping off" en

plántulas de Cannabis o esquejes sin enraizar en condiciones de alta humedad y baja temperatura (Ferrell y Thiessen, 2019). Sin embargo, en nuestras observaciones no se identificaron aislamientos de *Botrytis* provenientes de plántulas con "Damping off", pero fue recurrente la observación de crecimiento superficial de este hongo en esquejes en enraizamiento; por tanto, se decidió realizar las pruebas de patogenicidad de *Botrytis cinerea* sobre esquejes e inflorescencias.

Se confirmó que los síntomas de pudrición blanca y esclerocios en tallo e inflorescencias fueron atribuidos a *Sclerotinia sclerotiorum* (Figura 1cde). Los síntomas causados por este patógeno comienzan como lesiones húmedas en tallos y ramas de plantas cerca de la madurez. Las lesiones colapsan en chancros y se decoloran de forma oscura. Las áreas afectadas adquieren una apariencia triturada y la médula se llena con un micelio blanco algodonoso. Las plantas permanecen en esta condición o se marchitan y se caen. Los esclerocios negros generalmente se forman en la superficie del tallo y pueden llegar a la inflorescencia. Si la floración ha comenzado ha comenzado, a menudo cesa.

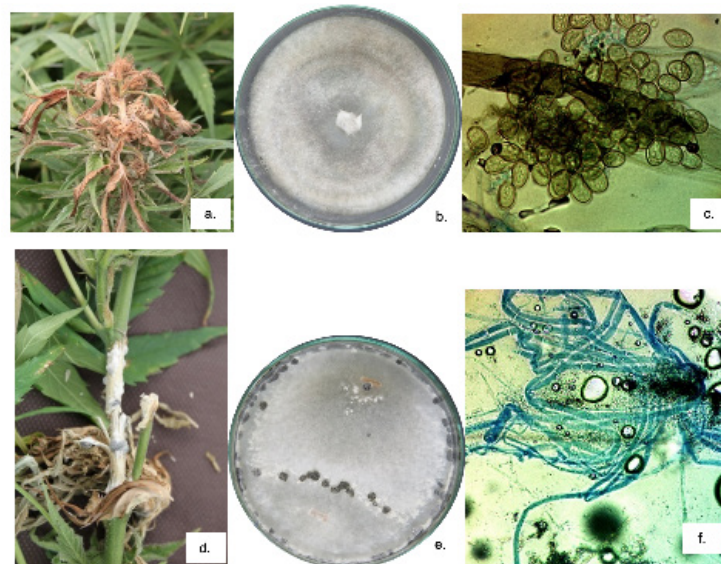


Figura 1. Podredumbre marrón o moho gris causado por *Botrytis cinerea*. (a, b, c) y Síntomas de Pudrición blanca en flores y tallos causada por *Sclerotinia sclerotiorum*. (d, e, f). a. Lesiones necróticas en hojas y flores b. Colonia de aislamiento de *Botrytis cinerea*. c. Hifas septadas, dematiáceas con conidios globosos y ovalados de *Botrytis cinerea*. d. Micelio blanco algodonoso y esclerocios negros formados en la superficie del tallo. e. Colonia de *Sclerotinia sclerotiorum*. f. Hifas septadas y hialinas agregadas formando masas hifales de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Por su parte el micelio blanco que se encontró sobre las inflorescencias de Cannabis en las etapas de producción y presecado se relacionó con los hongos *Fusarium graminearum* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Estos resultados difieren a lo reportado por Punja (2018) quienes detectaron micelio de los hongos *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *Penicillium olsonii*, *P. copticola* y *Aspergillus niger* sobre botones florales de plantas de *Cannabis sativa*. Sin embargo Ferrrell y Thiessen (2019) y Thiessen (2019) indican que los patógenos *F. graminearum* y *S. sclerotiorum* generan un moho sobre los botones florales.

La mancha foliar caracterizada por presentar puntos blancos con halo clorótico fue atribuida a *Bipolaris* sp. y *Corynespora asiicola* de la cual se obtuvieron cinco aislamientos. Es la primera vez que se reporta *Corynespora asiicola* como causante de mancha foliar en plantas de Cannabis (Figura 2).

Otros autores reportan como agentes causales de mancha foliar a *Septoria*

cannabis, *S. neocannabina*, *Cercospora cannabis* y *Pseudocercospora cannabina* (McPartland, 2019) *M. capricolum*, *M. mycoioides* subsp. *capri*, *M. mycoioides* subsp. *mycoioides* of the large colony (LC. En el presente estudio no se encontraron aislamientos de estas especies.

A pesar de que *Bipolaris* spp. y *Corynespora asiicola* no han sido reportados en Cannabis, si se han reportado como causantes de mancha foliar en otras especies que incluyen *Arachis ipogea*, *Avena sativa*, *Brassica campestris*, *Cicer arietinum*, *Glycine max*, *Halianthus annuus*, *Hordeum vulgare*, *Lens culinaris*, *Oryza sativa*, *Pennisetum amaricanum*, *Sesamum indicum*, *Sorghum bicolor*, *Vigna mungo*, *Vigna radiata*, y *Zea mays* para el caso de *Corynespora asiicola* (Dixon et al., 2009) y Cebada (*Hordeum*), arroz (*Oryza*), avena (*Avena*) maíz (*Zea*), *Agropyron*, *Agrostis*, *Bromus*, *Calamagrostis*, *Cucumis*, *Echinochloa*, *Glycine*, *Hierochloe*, *Lolium*, *Lycopersicon*, *Medicago*, *Phleum*, *Poa*, *Schizachyr*, *Secale*, *Setaria*, *Sorghum*, *Spartina* y *Trifolium* para *Bipolaris* sp. (Iftikhar et al., 2009).

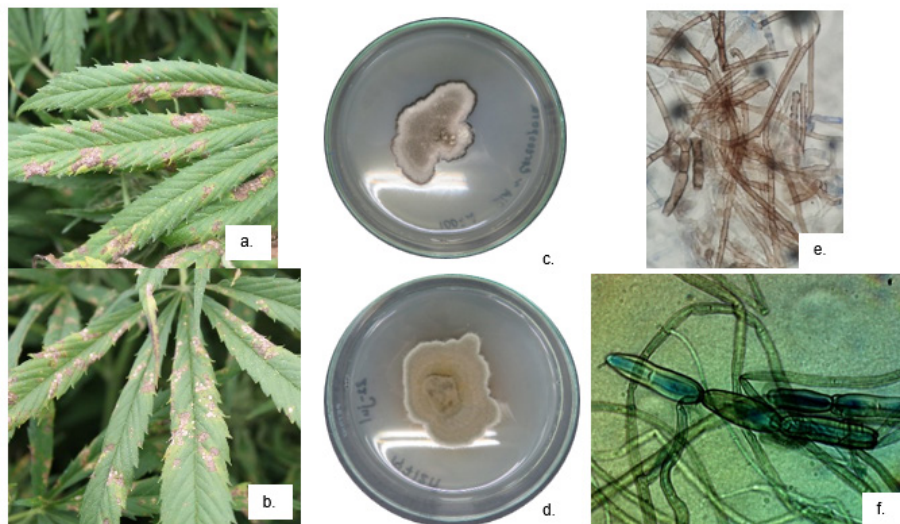


Figura 2. Mancha foliar causada por *Bipolaris* sp. y *Corynespora asiicola*. a y b. Manchas foliares circulares de color marrón claro con un centro blanco. d. Colonia de *Bipolaris* sp. c. Colonia de *Corynespora asiicola*. d. Hifas septadas dematiáceas y conidióforos rectos geniculados de *Bipolaris* sp. e. Conidios lisos de *Corynespora asiicola*.

El diagnóstico en repetidas ocasiones de los síntomas asociados a "Damping off" o de muestras de plantas y tejidos con marchitamiento, tanto en la zona de confinamiento y en otras áreas de producción reveló la presencia de *Rhizoctonia solani* y tres especies de *Fusarium*: *Fusarium fujikuroi*, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium graminearum*. Estos aislamientos conforman el clásico complejo de hongos causantes de "Damping off" reportado en Cannabis y muchas otras especies previamente reportadas (Mcpartland, 2019;

McPartland et al., 2000; Thiessen, 2019; Wang, 2018). Con excepción de *Botrytis cinerea*, oomycetes como *Pythium* no fueron encontrados durante el proceso de aislamiento e identificación. En muestras con "Damping off" se reconocieron dos síntomas característicos: estrangulamiento en cuello y pudrición en la base del esqueje sin enraizar. Un aislamiento diferencial de estos dos tejidos permitió identificar a *Rhizoctonia solani* como agente causal del estrangulamiento y *F. graminearum* en la pudrición en la base (Figura 3).

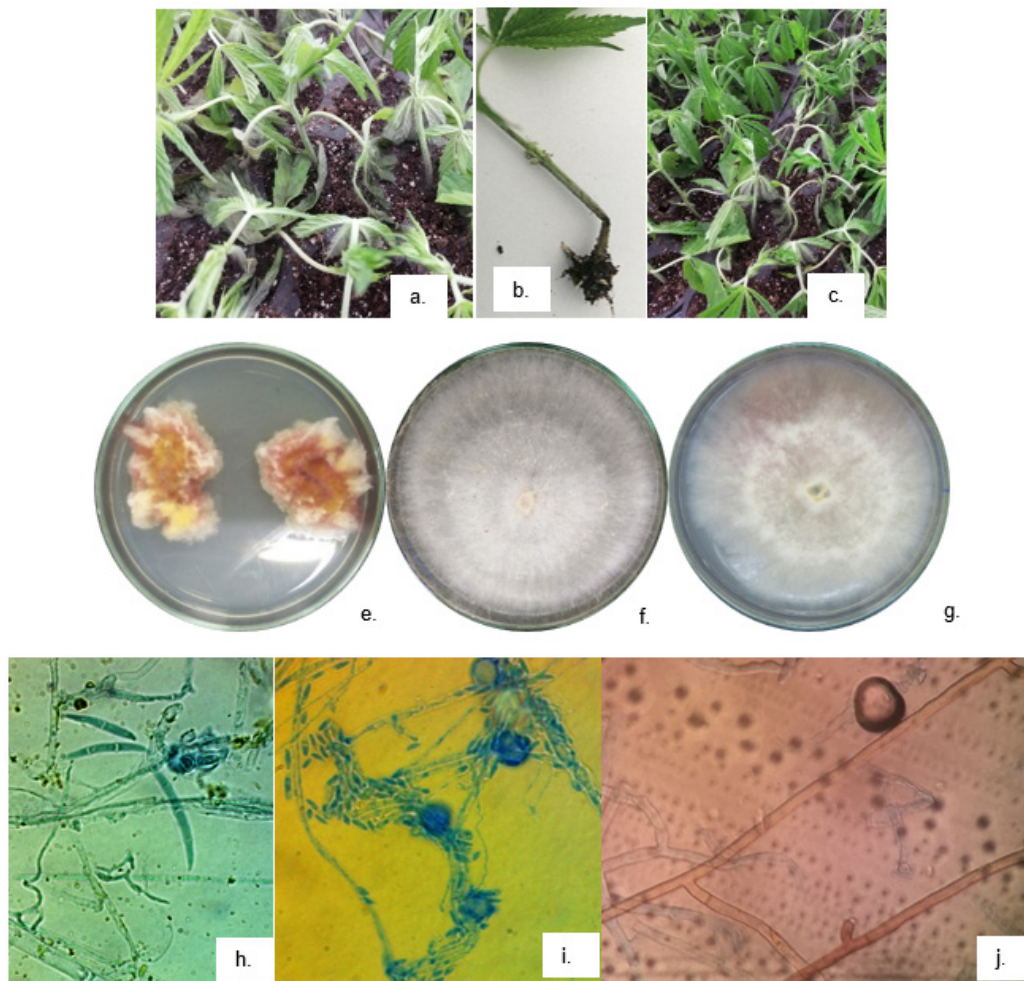


Figura 3. "Damping off" causado por el complejo de hongos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium graminearum*. a, b y c. Podredumbre marrón en la línea del suelo, marchitamiento y caída de esquejes. d. Colonia de *F. graminearum*. e. Colonia de *R. solani*. f. Colonia de *F. oxysporum*. g. Macroconidias, con forma de canoa, hialinas y septadas de *Fusarium graminearum*. h. Microconidias en masa y clamidosporas de *F. oxysporum*. i. Hifas maduras de *Rhizoctonia solani* formando ramas en ángulo recto. j. Microscopio de un clamidospora de *Fusarium oxysporum*.

Los síntomas de podredumbre marrón y moho gris en flor y tallo pueden presentarse en todas las etapas del sistema de producción. En la etapa de confinamiento pueden causar "Damping off" y muerte del esqueje en condiciones de baja temperatura y alta humedad relativa. En el resto de las etapas las lesiones pueden rodear el tallo y causar la rotura de las extremidades o del tallo. Los síntomas de pudrición blanca son más frecuentes en las etapas de plantas madre y en plantas adultas durante la fase reproductiva en la cual se puede llegar a presentar moho blanco con esclerocios en la flor. Por su parte, síntomas de mancha foliar causados por *Bipolaris* sp. y *Corynespora casiiicola* se pueden presentar en cualquier etapa del cultivo, sin embargo, la severidad de la enfermedad es mayor cuando las plantas son adultas y tienen entre 10 y 12 semanas de edad posteriores al trasplante.

Las especies de *Fusarium* spp. generan diferentes síntomas dependiendo de la etapa del sistema productivo. *F. graminearum* puede ocasionar "Damping off" (pudrición en la base del esqueje), marchitamiento en plantas adultas y moho en la flor durante las fases productiva, cosecha y pre-secado. *F. oxysporum* es capaz de ocasionar "Damping off" en esquejes durante el proceso de enraizamiento y marchitamiento en plantas trasplantadas a campo. Finalmente, los síntomas de *R. solani* son restringidos a la etapa de enraizamiento de esquejes donde se puede presentar estrangulamientos de este.

De tejidos con síntomas de mildiu se reconocieron estructuras características de *Erysiphe* sp. y *Sphaeroteca* sp (mildeo polvoso) y *Peronospora* sp. (mildeo veloso) (Figura 4).



Figura 4. Mildeo polvoso y veloso causado por *Erysiphe* sp. y *Sphaeroteca* sp. (mildeo polvoso) y *Peronospora* sp. a. Síntomas de mildiu polvoso. b. Síntomas de mildiu veloso. c y d. Apéndices hifales, conidioforos y conidios libres de *Erysiphe* sp.

CONCLUSIONES

Se identificaron y caracterizaron los diferentes agentes causales de enfermedades en un sistema de producción de cannabis en invernadero bajo altas densidades en distintas áreas de producción. Este trabajo permite aproximarse al control de los patógenos en el cultivo de cannabis de una manera más apropiada al conocerse los agentes causales específicos.

RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar con la investigación de los problemas fitosanitarios del cultivo, así como la caracterización de la resistencia o tolerancia de diversos materiales registrados a dichas enfermedades o plagas. Igualmente es importante avanzar con el desarrollo y evaluación de estrategias de manejo integrado y desarrollo de productos biológicos con registro para este tipo de cultivos.

AGRADECIMIENTOS

A la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-AGROSAVIA por los recursos asociados al proyecto ID 1001057: Caracterización materiales *Cannabis*.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que es un trabajo original y no existió conflicto de intereses de ningún tipo en la elaboración y publicación del manuscrito.

REFERENCIAS

- Bains, P. S., Bennypaul, H. S., Blade, S. F. and Weeks, C. 2000.** First Report of Hemp Canker Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in Alberta, Canada. *Plant Disease*, 84(3), 372.
<https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.3.372B>
- Bakro, F., Wielgusz, K., Bunalski, M. and Jedryczka, M. 2018.** An overview of pathogen and insect threats to fibre and oilseed hemp (*Cannabis sativa* L.) and methods for their biocontrol. *Integrated Control in Oilseed Crops*, 136(September), 9–20.
- Baron, E. P. 2018.** Medicinal Properties of Cannabinoids, Terpenes, and Flavonoids in Cannabis, and Benefits in Migraine, Headache, and Pain: An Update on Current Evidence and Cannabis Science. *Headache*, 58(7), 1139–1186.
<https://doi.org/10.1111/head.13345>
- Booth, J. K. and Bohlmann, J. 2019.** Terpenes in Cannabis sativa – From plant genome to humans. *Plant Science*, Vol. 284, pp. 67–72.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.03.022>
- Casano, S., Cotan, A. H., Delgado, M. M., García-Tejero, I. F., Saavedra, O. G., Puig, A. A. and Santos, B. de los. 2018.** First Report of Charcoal Rot Caused by *Macrophomina phaseolina* on Hemp (*Cannabis sativa*) Varieties Cultivated in Southern Spain. *Plant Disease*, 102(8), 1669.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-01-18-0152-PDN>
- Dixon, L. J., Schlub, R. L., Pernezny, K. and Datnoff, L. E. 2009.** Host specialization and phylogenetic diversity of *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology*, 99(9), 1015–1027.
<https://doi.org/10.1094/PHTO-99-9-1015>
- Ferrell, S. and Thiessen, L. 2019.** Gray Mold of Industrial Hemp Industrial Hemp Disease Information. NC State Extension Publications, 1–6.

- Griffith, G. W. and Shaw, D. S. 1998.** Polymorphisms in *Phytophthora infestans*: Four mitochondrial haplotypes are detected after PCR amplification of DNA from pure cultures or from host lesions. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 4007–4014.
<https://doi.org/10.1128/aem.64.10.4007-4014.1998>
- Iftikhar, S., Asad, S., Munir, A., Sultan, A. and Ahmad, I. 2009.** Hosts of *Bipolaris sorokiniana*, the major pathogen of spot blotch of wheat in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 41(3), 1433–1436.
- McCain, A. H. and Noviello, C. 1985.** Biological control of *Cannabis sativa*. *Proceedings of the VI International Symposium on Biological Control of Weeds*, 635–642. Ottawa Canada: Agriculture Canada.
- Mcpartland, J. M. 2019.** A review of Cannabis diseases. *Journal of the International Hemp Association*, 3(1), 19–23. Retrieved from
<http://www.internationalhempassociation.org/jiha/iha03111.html>
- McPartland, J. M., Clarke, R. C. and Watson, D. P. 2000.** Hemp diseases and pests. CABI Publications, Wallingford, UK
- McPartland, J. M. and Cubeta, M. A. 1997.** New species, combinations, host associations and location records of fungi associated with hemp (*Cannabis sativa*). *Mycological Research* 101:853–857
- Mushtaque, M., Baloch, G. M. and Ghani, M. A. 1973.** Natural enemies of *Papaver* spp. and *Cannabis sativa*. In *Annual report, Commonwealth Institute of Biological Control, Pakistan station*.
- Omari, D. F. D., Laline, B., Bruna, B. R., Edilaine, D. V. G.-T., Sidiane, C.-R., Emanuele, G. D. and Odair, J. K. 2016.** Trichoderma-bean interaction: Defense enzymes activity and endophytism. *African Journal of Agricultural Research*, 11(43), 4286–4292.
<https://doi.org/10.5897/ajar2016.11687>
- Pane, A., Cosentino, S. L., Copani, V. and Cacciola, S. O. 2007.** First Report of Southern Blight Caused by *Sclerotium rolfsii* on Hemp (*Cannabis sativa*) in Sicily and Southern Italy. *Plant Disease*, 91(5), 636.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-91-5-0636A>
- Punja, Z. K. 2018.** Flower and foliage-infecting pathogens of marijuana (*Cannabis sativa* L.) plants. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 40(4), 514–527.
<https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1535467>
- Punja, Z. K., Collyer, D., Scott, C., Lung, S., Holmes, J. and Sutton, D. 2019.** Pathogens and Molds Affecting Production and Quality of *Cannabis sativa* L. *Frontiers in Plant Science*, 10(October), 1–23.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01120>
- Righetti, L., Paris, R., Ratti, C., Calassanzio, M., Onofri, C., Calzolari, D. and Grassi, G. 2018.** Not the one, but the only one: about Cannabis cryptic virus in plants showing ‘hemp streak’ disease symptoms. *European Journal of Plant Pathology*, 150(3), 575–588.
<https://doi.org/10.1007/s10658-017-1301-y>
- Rivera-Hernández, J. F. 2020.** Principales plagas y enfermedades asociadas al cultivo de Cannabis, cómo combatirlos? *II Seminario Técnico La Agronomía Del Cannabis 2020*. Bogotá D.C.

- Rosero, A. A. 2019.** SITUACION ACTUAL Y CANNABIS EN COLOMBIA Semilla certificada. *ACOSEMILLAS*, 32. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).
- Rubiano Moreno, D. R. 2019.** DISEÑO DE UN PLAN DE NEGOCIOS PARA EL CULTIVO, PROCESAMIENTO Y COMERCIALIZACIÓN DE CANNABIS MEDICINAL. In *Monografía para optar por el título de Especialista en Gerencia de Empresas*.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Scott, M., Rani, M., Samsatly, J., Charron, J. B. and Jabaji, S. 2018.** Endophytes of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivars: Identification of culturable bacteria and fungi in leaves, petioles, and seeds. *Canadian Journal of Microbiology*, 64(10), 664–680.
<https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0108>
- Song, Z. Q., Cheng, F. X., Zhang, D. Y., Liu, Y. and Chen, X. W. 2017.** First Report of *Meloidogyne javanica* Infecting Hemp (*Cannabis sativa*) in China. *Plant Disease*, 101(5), 842.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-10-16-1537-PDN>
- Szarka, D., McCulloch, M., Beale, J., Long, S., Dixon, E. and Gauthier, N. 2020.** First Report of Anthracnose Leaf Spot Caused by *Colletotrichum fioriniae* on Hemp (*Cannabis sativa*). *Plant Disease*, 104(5), 1560.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-10-19-2216-PDN>
- Szarka, Desiree, Amsden, B., Beale, J., Dixon, E. and Schardl, C. L. N. G. 2020.** First Report of Hemp Leaf Spot Caused by a *Bipolaris* Species on Hemp (*Cannabis sativa*) in Kentucky. *Plant Health Progress*, 82–84.
<https://doi.org/10.1094/PHP-01-20-0004-BR>
- Thiessen, L. 2019.** Hemp Diseases in North Carolina. *NC Cooperative Extension*, 1–22.
- Wang, S. 2018.** Industrial Hemp Crop Diseases What We've Seen and What We Know. Nevada Department of Agriculture.