

## CARACTERIZACIÓN DEL AGENTE CAUSAL Y DE LA EPIDEMIOLOGÍA DE LA PODREDUMBRE AMARGA DEL MANZANO EN LA PROVINCIA DE SANTA FE

**Giorgis, María P.**

*Facultad de Ciencias Agrarias, UNL  
Director/a: Favaro, María A.  
Codirector/a: Ribero Gustavo*

**Área: Ingeniería**

### INTRODUCCIÓN

La provincia de Santa Fe presenta una baja importancia relativa dentro del mapa frutícola del país. El mejoramiento genético ha permitido obtener manzanos con bajos requerimientos de frío que se adaptan bien a esta región, lo que representa un potencial productivo y una oportunidad de diversificación importante para los productores del sector frutihortícola. Las principales variedades incorporadas son: “Caricia” (IAPAR 77; ‘Anna’ x ‘Prima’), “Princesa” (‘Anna’ x ‘NJ56’) y “Eva” (IAPAR 75; ‘Anna’ x ‘Gala’). En las últimas cosechas se ha observado sobre los frutos una podredumbre causada por una enfermedad identificada como Podredumbre Amarga del manzano (PA). A nivel mundial, esta enfermedad está causada por diferentes especies de *Colletotrichum*. En algunas regiones, este patógeno causa también una enfermedad emergente conocida como mancha foliar por *Glomerella* (MFG) que provoca defoliación temprana, pérdida de calidad y rendimiento en plantas de manzano. Por haber sido recientemente incorporada la producción de manzanos a la región, todavía se desconocen muchos aspectos sobre los patógenos y las condiciones bajo las que se desarrollan. En este trabajo se pretende generar información útil acerca del agente causal de la PA y MFG, que sirva como herramienta para evaluar distintas alternativas de manejo para la misma.

### OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo son: identificar y caracterizar el agente causal de la PA en la provincia de Santa Fe, determinar los sitios de sobrevivencia del patógeno en el campo y evaluar la susceptibilidad de los tres cultivares de manzano que se han incorporado en la región

<p>Título del proyecto: Estudios etiológicos y epidemiológicos de la podredumbre amarga del manzano en la provincia de Santa Fe, para el desarrollo de estrategias de manejo de la enfermedad Instrumento: CAI+D joven 2016 Año convocatoria: 2016 Organismo financiador: UNL Director/a: Favaro, María Alejandra.</p>
--

## METODOLOGIA

La identificación y caracterización del agente causal de la PA se realizó mediante la amplificación de la región del gen calmodulina, mediante la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) utilizando los cebadores CL1C Y CL2C, como lo detalla Weir et al (2012). Luego los resultados obtenidos fueron comparados con las secuencias depositadas en GenBank utilizando BLAST. Se analizó un total de 35 aislados, 29 de ellos obtenidos de frutos y 6 de hojas.

Para determinar los sitios de sobrevivencia del patógeno se recolectaron muestras de órganos vivos y restos vegetales y luego se los sometió a cámaras húmedas para forzar la aparición del signo del mismo. Las cámaras húmedas se llevaron a cabo a temperatura ambiente. Se tomó registro de la incidencia. Para las muestras se tomaron del suelo: restos de poda y hojarasca, y de la parte aérea: ramas, frutos momificados y hojas. Se adoptó la metodología usada por Hamada & De-mio (2012).

En condiciones de inoculación artificial se evaluó la susceptibilidad de los cultivares “Caricia”, “Eva” y “Princesa”, siguiendo la metodología propuesta por Alaniz et al. (2012). Las inoculaciones se realizaron sobre frutos maduros y sanos de los tres cultivares, previamente desinfectados con alcohol al 70% y posteriormente se los sumergió en hipoclorito al 1%. Estos frutos fueron enjuagados con agua destilada. Las inoculaciones se realizaron bajo la técnica de: gota, lesión y aspersión utilizando un total de seis aislados obtenidos de lesiones de hojas que fueron recolectadas del Campo Experimental de Cultivos Intensivos, sobre la ruta 6, en la ciudad de Esperanza y seis aislados obtenidos de frutos, cinco de ellos provenientes del mismo campo donde se obtuvieron las muestras de hojas y uno de ellos de la localidad de Arroyo Leyes.

## RESULTADOS

En relación a la identificación con el gen CAL, la secuenciación de los aislamientos y posterior comparación con datos almacenados en GenBank arrojó un 99-100% de coincidencia con *Colletotrichum siamense*. Esto indica que hasta el momento *C. siamense* es el único responsable de la PA y de la MFG (mancha foliar de la gala) en la provincia de Santa Fe.

Respecto a la sobrevivencia del patógeno en las muestras tomadas de frutos ramas y hojas, fue posible determinar la existencia del hongo a partir de la presencia de masa de conidios en forma de cirros. No se constató la presencia de peritecios. Se realizaron preparados para observar al microscopio a fines de constatar que se tratara de *Colletotrichum*. Estos resultados indican que el inóculo primario permanecería latente en frutos momificados y ramas. Respecto de las cámaras húmedas realizadas con restos de poda y hojarasca, no se pudo llegar a una conclusión ya que las muestras estaban muy contaminadas con otros organismos descomponedores.

Para evaluar la capacidad de los aislamientos que causan MFG para producir PA en frutos de manzano de las tres variedades, se realizaron pruebas de patogenicidad sobre frutos utilizando como inóculo aislados de hojas. Como se detalla en la metodología, las mismas se realizaron a partir de gotas con y sin lesión y método de aspersión. A los 3 DPI (días post inoculación) los resultados muestran la lesión característica de PA por el

método de inoculación con gota y herida en todas las variedades y en todos los frutos (Tabla 1). Por el contrario, no se presentaron lesiones con el método por aspersión a los 3 DPI; ya que la evolución de la enfermedad con ese método requiere un período de tiempo mayor. Con este método, los porcentajes de incidencia fueron de 50%, 25% y 13% para “CARICIA”, “PRINCESA” Y “EVA” respectivamente a los 5 DPI. Al cabo de 12 días el porcentaje de incidencia fue de 100% para todos los métodos y todas las variedades (Tabla 1). La infección por aspersión a igual temperatura necesita de un período de mojado mayor que la penetración por heridas, lo que resulta razonable ya que el patógeno tiene entrada directa a la fruta mediante la presencia de lesiones, acelerándose el proceso de colonización y de desarrollo de síntomas.

**Tabla 1:** Evaluación de la susceptibilidad de los cultivares de manzano de la provincia de Santa Fe a la PA. (Inoculación de aislados de hojas sobre frutos). Los valores corresponden al porcentaje de incidencia registrado.

		CARICIA			PRINCESA			EVA		
Días después de Inoculación		3	5	12	3	5	12	2	5	12
Método de inoculación	LESION	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	GOTA	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	ASPERSION	0	50	100	0	25	100	0	13	100

En otro experimento, se realizaron inoculaciones cruzadas de aislamientos obtenidos de frutos sobre frutos de las tres variedades, con el objetivo de evaluar la susceptibilidad de los cultivares. A los 3 DPI sólo se produjeron síntomas en las inoculaciones realizadas con lesión en las tres variedades, “CARICIA”, “PRINCESA” y “EVA”. Los porcentajes de incidencia para cada una de ellas fueron de 100%, 83% y 100%. Al cabo de 7 días todas las inoculaciones realizadas por el método de lesión y aspersión fueron positivas. Con respecto a la inoculación por gota sin lesión, encontramos diferencias en los porcentajes de incidencia luego de 7 DPI. La variedad más afectada fue “CARICIA”, con un 97% de incidencia. Esto coincide con la mayoría de las bibliografías consultadas en las que se indica que esta variedad es muy susceptible a la PA. Para las dos variedades restantes se obtuvo un porcentaje de incidencia del 67%. Los resultados se presentan en la Tabla 2.

**Tabla 2:** Evaluación de la susceptibilidad de los cultivares de manzano de la provincia de Santa Fe a la PA. (Inoculaciones cruzadas). Los valores corresponden al porcentaje de incidencia registrado.

		CARICIA		PRINCESA		EVA	
Días después de Inoculación		3	7	3	7	3	7
Método de inoculación	LESION	100	100	83	100	100	100
	GOTA	0	97	0	67	0	67
	ASPERSION	0	100	0	100	0	100

Al comparar el tamaño de las lesiones observadas podemos ordenar de mayor a menor las variedades de la siguiente manera: “CARICIA”>”EVA”>”PRINCESA”. Como conclusión preliminar en esta etapa se puede decir que la variedad “CARICIA” es más propensa a contraer la enfermedad.

## CONCLUSIONES

Luego del trabajo de investigación realizado se ha profundizado el conocimiento sobre la enfermedad de la PA que afecta los manzanos de la provincia de Santa Fe. Se ha logrado identificar que *Colletotrichum siamense* es el causal de la misma. Para futuras investigaciones y recomendaciones para el manejo es importante destacar que se ha visto que el hongo sobrevive al período desfavorable en su forma asexual y que las principales fuentes de inóculo primario son los frutos momificados y ramas afectadas. También se debe remarcar que la información hasta aquí obtenida indicaría que el agente causal sobrevive sobre órganos vivos. La variedad “CARICIA” resultó ser la más susceptible siendo la que presenta síntomas de la enfermedad con mayor velocidad y mayor tamaño de lesiones, por lo que podría recomendarse otra variedad de mejor comportamiento para afrontar esta adversidad.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Alaniz, S; Hernández, L.; Damasco, D. y Mondino, P.** 2012. First Report of *Colletotrichum acutatum* and *C. fragariae* causing Bitter Rot of Apple in Uruguay. *Plant dis.*, 96:458-458
- Hamada, N.A & M. DeMio, L.L** 2012. Metodología para detección de *Colletotrichum spp.* em flores de macieira, XXXV Congreso Paulista de Fitopatología. 14 al 16 de Febrero 2012. Jaguariuna, SP, Brasil.
- Weir B, Johnston PR, Damm U,** 2012. The *Colletotrichum* gleosporoides species complex. *Studies in Mycology* 73:115e180. <http://dx.doi.org/10.3114/sim0011>.