

CARACTERIZACIÓN E IMPACTO DE PATÓGENOS DE SUELO EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA EN EL ALBARDÓN COSTERO SANTAFESINO

Paviotti Sofía¹

¹Facultad de Ciencias Agrarias UNL
Director/a: Favaro María Alejandra
Codirector/a: Maumary Roxana

Área: Ingeniería

INTRODUCCIÓN

En la Argentina se cultivan anualmente entre 7.000 y 9.800 hectáreas de zanahoria, representando Santa Fe un 7,8% de la superficie (Alessandro y col., 2011). El departamento Garay es la zona principal de cultivo de zanahoria en la provincia, se ubica en el centro este y forma el conocido “albardón costero” que rodea a la Ruta provincial N° 1, extendiéndose desde la localidad de Santa Rosa de Calchines hasta Helvecia.

En esta región, el principal cultivo hortícola es la zanahoria, cultivándose anualmente entre 1.000 y 1.500 ha, lo que representa entre el 33% y el 50% de la superficie anual implantada con hortalizas (Gaviola, 2013). Los volúmenes de zanahoria cosechados varían entre 50.000 y 65.000 t anuales. Esta región ha tomado importancia, desplazando a este cultivo del cinturón hortícola rosarino y convirtiéndose en un núcleo fuerte de producción debido a la presencia de suelos ideales para el cultivo (Gaviola, 2013).

Durante los últimos años, la producción de zanahoria ha atravesado distintas problemáticas fitosanitarias, destacándose la presencia de patógenos de suelo que generan cavidades en las raíces y pueden causar pérdidas de calidad y rendimiento de hasta un 40-50%, dificultando seriamente el cultivo en el albardón costero. Dentro de las enfermedades más relevantes que afectan la raíz se mencionan a aquellas causadas por hongos de suelo, como el género *Fusarium sp.* En mediciones del mercado Central de Buenos Aires se encontró una participación del mismo en un 12% de las enfermedades relevadas (Gaviola, 2013).

En la zona del albardón costero santafesino existen carencias de conocimiento acerca de los patógenos de suelo presentes, lo que dificulta establecer estrategias y métodos de control eficientes. Durante la ejecución de esta investigación se identificó cuáles son las especies de patógenos de suelo prevalentes en cultivos de zanahoria de la región.

Título del proyecto: Abordaje de la problemática sanitaria del cultivo de zanahoria en el albardón costero santafesino. Efecto de medidas de manejo de bajo impacto ambiental.

Instrumento: Proyecto de Investigación Orientado

Año convocatoria: 2016

Organismo financiador: Agencia Santafesina de Ciencia Tecnología e Innovación (ASaCTel)

Director/a: Favaro, María Alejandra

OBJETIVOS

Contribuir al conocimiento y caracterización de patógenos de suelo presentes en el cultivo de zanahoria en el albardón costero santafesino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Generación de una colección de aislamientos de patógenos de suelo

Se recolectaron zanahorias de diferentes lotes con sintomatología de patógenos de suelo. A partir de los márgenes de la lesión se cortaron fragmentos de tejido necrótico (5 mm²), se desinfectaron en 0,5 % de NaOCl por 15 seg, se lavaron 3 veces en agua destilada estéril y se cortaron en siete fragmentos pequeños de 1-2 mm (Suffert y col., 2007). Los fragmentos se sembraron en medio Agar Papa Glucosado (APG) para el aislamiento de patógenos. Las placas se incubaron a 20°C durante 7 días para el desarrollo de la colonia fúngica. A partir de los cultivos obtenidos se realizaron aislamientos monospóricos que fueron conservados en papel de filtro deshidratado con sílica gel en el freezer a -18°C.

Identificación morfológica y molecular de los aislamientos

Los aislamientos monospóricos obtenidos se caracterizaron morfológicamente por medio de la observación macroscópica de las colonias desarrolladas en medios de cultivo, se determinó el color. La observación microscópica de estructuras somáticas y reproductivas se realizó utilizando microscopio y claves taxonómicas. Posteriormente, se obtuvo el ADN de los aislamientos a partir de micelio y esporas de colonias crecidas durante siete a diez días en medio APG a 25°C en oscuridad. Se utilizó un protocolo de extracción de ADN de rutina (Palocci et al., 1999). Luego se amplificó, mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la región ITS (del inglés "internal transcribed spacer") del ADN nuclear ribosomal (rDNA) utilizando los cebadores universales ITS1/ITS4 (Suffert y col., 2007; White et al., 1990), y el factor de elongación de la traducción 1- α (TEF, del inglés translation elongation factor), utilizandolos cebadores EF1 y EF2 (O'Donnell et al., 1998). Los productos de amplificación obtenidos fueron secuenciados y las secuencias fueron comparadas con las depositadas en GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) para su identificación, utilizando BLAST.

RESULTADOS/ CONCLUSIONES

Colección de aislamientos de patógenos de suelo

Se recolectaron zanahorias provenientes de diferentes lotes del albardón costero santafesino con lesiones provocadas por patógenos de suelo, cuya sintomatología se muestra en la Figura 1, las mismas se conforman por cavidades irregulares, de coloración amarroada a negra y presencia de podredumbre seca. Del tejido



Figura 1: zanahorias 'Bolero', con lesión típica de las que se realizaron los aislamientos.

sintomático se obtuvieron 9 aislamientos monospóricos, provenientes de distintas zanahorias.

A partir de los aislamientos obtenidos se realizaron pruebas de patogenicidad, se observó que de los 9 aislamientos obtenidos, sólo Z₈ y Z₉ no presentaron síntomas. El resto las actividades se continuaron solo en aquellos aislamientos donde la patogenicidad se manifestó.

Descripción morfológica y molecular

La observación macroscópica y microscópica de las colonias obtenidas en los diferentes aislamientos permitió determinar que todos pertenecían al género *Fusarium* sp.

A partir del color de las colonias se conformaron dos grupos, como se muestra en la Figura 2. El primer grupo, conformado por Z₁, Z₃, Z₅ y Z₆, presenta colonias color crema. El segundo grupo de colonias color salmón, integrado por los demás aislamientos (Z₂, Z₄ y Z₇).

Los conidios en ambos casos fueron alunados, hialinos y septados promediando 4,9 y 4,2 µm de ancho y 28,4 y 25,6 µm de largo, respectivamente (Figura 3). El número de tabiques fue en todos los casos de 3 a 4 sin presentar variación.

Los datos morfológicos no permitieron determinar especie, por lo que se realizó extracción del ADN de cada aislamiento, el cual fue amplificado mediante la técnica de PCR, utilizando los cebadores que codifican para ITS y TEF1-α. Las secuencias amplificadas se compararon con las depositadas en GenBank para su identificación, utilizando BLAST y arrojaron un 100% de identidad con *Fusarium solani* en los aislamientos Z₁, Z₃, Z₅ y Z₆ y con *F. oxysporum* en Z₂, Z₄ y Z₇.

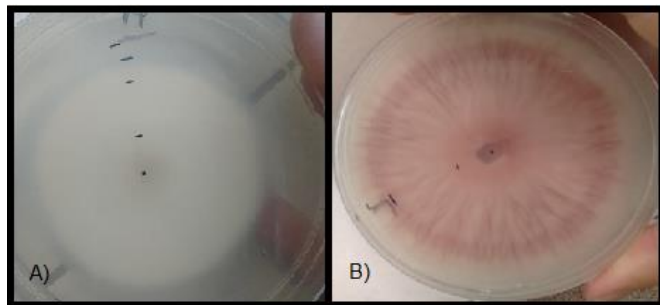


Figura 2: Pigmentación de las colonias, A) Z₃ perteneciente al grupo color crema y B) Z₇ perteneciente al color purpura.

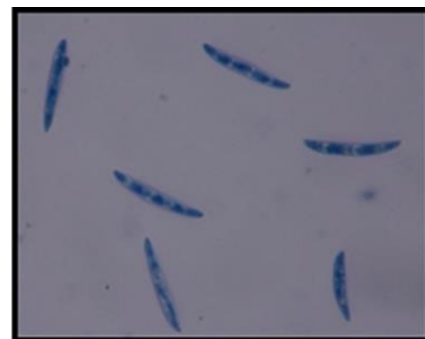


Figura 3: Macroconidios del género *Fusarium* sp.

De acuerdo a la bibliografía, *F. solani* presenta pigmentación del micelio blanco grisáceo a azul o marrón azulado y macroconidios con 1-5 tabiques, de 35-55 µm largo y 4,5-6 µm de ancho (Booth, 1977). En cuanto a *F. oxysporum* este presenta pigmentación algo variada encontrándose colonias blancas, melocotón, salmón, gris a purpura o violeta y macroconidios con 3-5 tabiques, de 27-60 µm de largo y 3-5 µm de ancho (Booth, 1977). En comparación con los resultados obtenidos, la pigmentación de las colonias detalladas coincidió con las observadas en los aislamientos estudiados. Además el largo de los macroconidios presentó variaciones con respecto a las descritas por Booth (1977). Estas diferencias pueden deberse a modificaciones en la temperatura y al tiempo de crecimiento al que se expuso el cultivo.

Estos resultados muestran la importancia de la identificación molecular mediante PCR, que permite complementar la caracterización morfológica, determinando con mayor certeza las

especies encontradas.

La manifestación del patógeno del género *Fusarium sp.* ha sido reportado anteriormente en otros países como causante de sintomatologías diversas en zanahoria en los últimos años (Han et al., 2012; Stankovic et al., 2015; Zhang et al., 2014). Entre ellas, la sintomatología semejante a la encontrada en el albardón costero es la podredumbre seca causada por *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. avenaceum*. Dicha enfermedad se caracteriza por producir lesiones deprimidas en la superficie de la raíz, con formas definidas redondeadas o irregulares las cuales presentan color marrón claro a marrón oscuro (Stankovic et al., 2015; Zhang et al., 2014).

La presencia de dichos patógenos afectando el cultivo de zanahorias fue reportando en China y Corea (Zhang et al., 2014, You-Kyoung Han, 2011). La especie *F. oxysporum* fue detectada en ambos países, mientras que *F. solani* solo lo fue en China. Las cepas descritas presentaron características similares a las observadas en el presente trabajo.

Esta caracterización es la primera de este tipo en la región. Sus resultados revisten gran importancia ya que permitirán el desarrollo de estrategias de manejo especie-específicas, orientadas hacia los patógenos identificados.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Alessandro M. S., Gabriel E. L., 2011. El panorama varietal del cultivo de zanahoria en Argentina. Horticultura Argentina.

Booth C., 1977. *Fusarium*. Laboratory guide to the identification of the major species. Commonwealth Mycological Institute.

Gaviola J. C., 2013. Manual de producción de zanahoria. Mendoza, Argentina: INTA, 97-98.

Han Y. K., Han K. S., Lee S. C., Kim S., 2012. First report of fusarium wilt of carrot in Korea. The Plant Pathology Journal, 28(2), 216-216.

O'Donnell G., 1998. Accountability horizontal. IEP.

Paolocci F., Rubini A., Granetti B., Arcioni S., 1999. Rapid molecular approach for a reliable identification of Tuber spp. ectomycorrhizae. FEMS Microbiology Ecology, 28(1), 23-30.

Stanković I., Milojević K., Vučurović A., Nikolić D., Krstić B., Bulajić A., 2015. First report of Fusarium root rot of stored carrot caused by *Fusarium avenaceum* in Serbia. Plant Disease, 99(2), 286-286.

Suffert F., Guibert M., 2007. The ecology of a Pythium community in relation to the epidemiology of carrot cavity spot. Applied soil ecology, 35(3), 488-501.

Zhang X. Y., Hu J., Zhou H. Y., Hao J. J., Xue Y. F., Chen H., Wang B. G., 2014. First Report of *Fusarium oxysporum* and *F. solani* Causing Fusarium Dry Rot of Carrot in China. Plant Disease, 98(9), 1273-1273.