

ETIOLOGIA DE LA PODREDUMBRE AMARGA DEL MANZANO EN LA PROVINCIA DE SANTA FE

POLINI, Fernando

Facultad de Ciencias Agrarias - UNL

Área: Ingeniería

Sub-área: Agronomía

INTRODUCCION

La provincia de Santa Fe presenta una baja importancia relativa dentro del mapa frutícola del país. La producción de frutales, según el censo nacional agropecuario de 2002, se restringe a 1234 ha. Históricamente, la producción de manzano en Argentina estuvo restringida a zonas frías como el Alto Valle de Río Negro, debido a que estos frutales caducifolios necesitan acumular horas de frío (HF) para producir bien. En áreas de inviernos suaves, como en la zona centro-este de la provincia de Santa Fe, estos requerimientos de frío no son cubiertos adecuadamente. Sin embargo, el mejoramiento genético ha permitido desarrollar cultivares de bajos requerimientos de frío, cuyo comportamiento ha demostrado ser muy auspicioso en la Provincia de Santa Fe (Gariglio *et al.*, 2014). Con la incorporación de nuevos cultivos, surgen también nuevas problemáticas que son necesarias resolver antes de que su difusión sea extendida. En relevamientos realizados durante los últimos años en la zona central de Santa Fe, se detectó en los frutos de manzanos una podredumbre en forma de anillos concéntricos, conocida como podredumbre amarga, cuyo agente causal era desconocido. Cuando en una región se presenta una enfermedad desconocida, es necesario aplicar los postulados Koch para identificar al agente causal (Agrios, 2005), a fin de poder establecer estrategias de manejo eficientes.

OBJETIVO

- Caracterizar el agente causal de la podredumbre amarga de los frutos del manzano en la zona central de Santa Fe.

METODOLOGÍA

Se realizó un seguimiento de los síntomas generados por el agente causal de la podredumbre de los frutos del manzano, a partir de muestras de frutos extraídas de 3 cultivares, 'Caricia' (IAPAR 77; 'Anna' x 'Prima'), 'Princesa' ('Anna' x 'NJ56') y 'Eva' (IAPAR 75; 'Anna' x 'Gala'), implantados en 2 montes, uno en el Campo Experimental de Cultivos Intensivos y Forestales (CECIF) de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Litoral y el otro perteneciente al productor Pilatti Rubén, ubicados en Esperanza, en el centro-este de la provincia de Santa Fe. Las muestras, se colocaron en cámaras húmedas en estufa y al término de 7 días, se observaron con lupa y microscopio, los síntomas y signos del hongo. A partir del signo observado se realizaron aislamientos en medio agar papa glucosa (APG), realizando un toque con el ansa sobre las estructuras del hongo. Posteriormente, para asegurar la homogeneidad genética del hongo, se recurrió a la técnica de cultivo monospórico. A partir de los aislamientos realizados, se identificaron acérvulos bien desarrollados de color salmón en cuyo interior se encontraban conidióforos y conidias. Se tocó con un ansa la masa de conidios del acérvulo elegido y se lo diluyó en 500 µl de agua destilada estéril, de los cuales 200 µl fueron esparcidos con la espátula Drigalsky en APG. Las placas se incubaron a 27°C bajo un fotoperíodo de 12 hs con luz fluorescente durante 1 semana, envueltas en papel. Luego de una semana, se analizó a simple vista la morfología de

Programa de becas de iniciación a la investigación para estudiantes de carreras de grado de la UNL-cientibeca-convocatoria 2014. Tema: "Desarrollo de una estrategia de manejo integrado para *botryosphaeria* sp. y *colletotrichum* sp. en manzano". Director: FAVARO, María Alejandra.

las colonias desarrolladas, y posteriormente la de los conidios, utilizando microscopio, y siguiendo la metodología descrita por Velho et al. (2015).

Posteriormente, con el fin de demostrar que el microorganismo aislado y estudiado era el causante de la podredumbre observada como sintomatología, se realizaron pruebas de patogenicidad *in vitro*. Estas pruebas son rápidas, efectivas y facilitan la detección de un agente infeccioso gracias a la rapidez con que se pueden observar sus efectos (Agrios, 2005). Se utilizaron para la prueba, frutos de manzana maduros y sanos de la variedad *Cripps Pink*, muy susceptible al patógeno identificado. Una vez seleccionados se sometieron a desinfección mediante lavado con alcohol 70% por 20 seg y 2 min en hipoclorito al 1%. Posteriormente, los frutos fueron enjuagados 2 veces con agua destilada estéril para eliminar el exceso de desinfectante y luego secados con papel toalla estéril. A cada fruto se le realizó 1 herida (1 x 2mm) mediante aguja estéril en la zona ecuatorial. La zona herida (lado derecho del fruto) y la zona opuesta sin herir fueron inoculadas con 10 µl de una suspensión de 5×10^5 conidios ml⁻¹. Se inocularon 5 frutos por aislamiento. Los frutos se colocaron en bandejas junto a una fuente de humedad y se cubrieron con bolsas de plástico, en estufa a una temperatura de 25 °C. Diariamente fueron observados para registrar la aparición de síntomas.

RESULTADOS

Los frutos recolectados de las tres variedades con síntomas del patógeno presentaron podredumbres deprimidas, conformadas por lesiones concéntricas de color marrón claro. Luego de permanecer en cámara húmeda se pudo visualizar la presencia del signo, en forma de masas de conidios de color salmón crema, dispuestas en acérvulas. Mediante revisión de la bibliografía (Sutton, 1990; Velho et al. 2015) se pudo determinar que los síntomas y signos desarrollados por los frutos son característicos del género *Colletotrichum*. *C. gloesporioides* y *C. acutatum* son las dos especies de *Colletotrichum* tradicionalmente asociadas a esta enfermedad en el mundo (Sutton, 1990). Sin embargo, con el avance de las técnicas de caracterización molecular, se ha descubierto que en realidad estas dos especies constituyen en realidad dos complejos de especies (Cannon et al. 2012), dentro de los cuales se han reportado muchas nuevas especies asociadas a la enfermedad.

En la tabla 1 se muestran los aislamientos que se seleccionaron para realizar los estudios de morfología y las pruebas de patogenicidad. Las colonias fúngicas desarrolladas, fueron similares en todos los aislamientos estudiados (Figura 1). En su cara superior el micelio se visualizó denso, algodonoso, blanco grisáceo, con un gran número de acérvulos visibles en el punto de siembra, siendo la cara inferior color blanco grisáceo en los primeros días de crecimiento y luego marrón pálido a rosáceo (Figura 1). La morfología de los conidios contenidos en los acérvulos fue similar en todos los aislamientos estudiados, de pared lisa, hialinos, fusiformes con extremos ligeramente redondeados, a veces oblongo, y con un tamaño variable entre 11-15 um de largo y 3-5 um de ancho (Tabla 1). Las características morfológicas de las colonias y de los conidios permitieron identificar que la especie de *Colletotrichum* estudiada pertenece al complejo *gloesporioides* (Weir et al., 2012). Lamentablemente, la caracterización morfológica, sólo permite concluir dentro de que complejo se ubica taxonómicamente la especie en estudio. Para identificar con precisión de qué especie se trata, actualmente se está realizando en el laboratorio la caracterización molecular de acuerdo a Velho et al. (2015).

Tabla 1. Características de los aislamientos de *Colletotrichum* sp. obtenidos de frutos de manzano en la región centro de Santa Fe.

Código	Variedad	Lugar	Fecha	Conidio		
				Forma	Largo (um)	Ancho (um)
E6	'Eva' (IAPAR 75; 'Anna' x 'Gala')	CECIF	13/11/15	Fusiforme a cilíndrico	12-15	3-5
E7	'Caricia' (IAPAR 77; 'Anna' x 'Prima')	CECIF	30/10/15	Fusiforme a cilíndrico	11-15	3-5
E8	'Princesa' ('Anna' x 'NJ56')	CECIF	13/11/15	Fusiforme a cilíndrico	12-15	3-5
E10	'Caricia' (IAPAR 77; 'Anna' x 'Prima')	CECIF	13/11/15	Fusiforme a cilíndrico	11-14	4-5

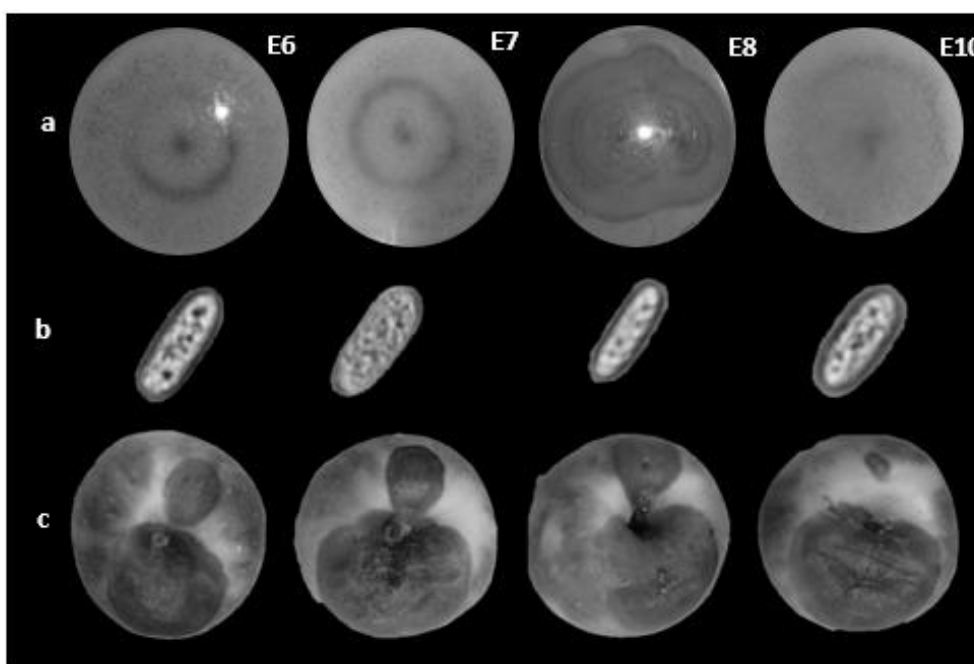


Fig. 1. Caracterización morfológica y pruebas de patogenicidad de diferentes aislamientos de *Colletotrichum* sp. a: Aspecto morfológico de la colonia, **b:** conidio, **c:** Pruebas de patogenicidad, para evaluar la virulencia de los aislados sobre hospedero sano de manzana variedad *Cripps Pink*, 12 dpi.

Una vez identificado el agente causal de la enfermedad, se procedió a realizar pruebas de patogenicidad en frutos de una variedad de manzano altamente susceptible a la podredumbre, para confirmar que el patógeno aislado era el que realmente estaba causando la enfermedad. Los síntomas iniciales se observaron a los 4 días post inoculación (dpi), en la zona herida de todos los frutos, comenzando con una mancha de color marrón que a medida que transcurrieron los días fue tornándose marrón oscuro. Con respecto a la zona opuesta sin herir, la sintomatología fue mínima durante los primeros dpi. A los 8 dpi en todos los frutos se visualizó una podredumbre deprimida, color marrón oscuro, partiendo desde la zona herida, el aislamiento E7 provocó en este momento el comienzo de la aparición del signo, conidios de color salmón. A los 12 dpi, se observó en todos los frutos una podredumbre deprimida, con lesiones concéntricas de color marrón claro y presencia de masas de conidios de color oscuro, en la zona donde se había efectuado la herida, mientras que en la zona

opuesta sin herir, todos los aislamientos comenzaron a provocar la misma sintomatología que en las zonas del fruto heridas.

CONCLUSIONES

- Se identificó el agente causal de la podredumbre del manzano en Santa Fe como perteneciente al complejo *Colletotrichum gloeosporioides*.
- Se demostró, mediante pruebas de patogenicidad, que el hongo aislado era el causante de la enfermedad, debido a que se reprodujeron los síntomas en frutos de una variedad susceptible.
- El conocimiento de la etiología de la enfermedad es el primer paso para poder diseñar una estrategia de manejo eficiente.
- Dada la variación que existe en la susceptibilidad de los diferentes materiales genéticos, el uso de cultivares resistentes puede convertirse en una medida importante de manejo de la podredumbre de los frutos (Alaniz, *et al.*, 2012). Este aspecto será el próximo a investigar en el marco de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Agrios, G., N.** 2005. Plant Pathology (5th ed.), Elsevier Academic Press, Burlington, MA. 922 p.
- 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 Disease. 96: 458-458 p.
- Cannon, P.F.; Damm, U.; Johnston, P. R.; Weir, B.S.** 2012. Colletotrichum - current status and future directions. Study Mycol, 73: 181-213 p.
- Gariglio, N.F.; Bouzo, C.; & Travadelo, M.** 2014. Cultivos Frutales y Ornamentales para zonas templadas cálidas. Experiencias en la zona central de Santa Fe. Ediciones UNL, Santa Fe, 288 p.
- Sutton, T.B.** 1990. Bitter rot. Compendium of Apple and Pear Diseases. Jones, A.L. & Aldwinckle, H.S. (Ed.). The American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 15-16 p.
- Velho, A.C.; Stadnik, M.J.; Casanova, L.; Mondino, P. y Alaniz, S.** 2014. First Report of *Colletotrichum karstii* Causing *Glomerella* Leaf Spot on Apple in Santa Catarina State, Brazil. Plant Disease, 98: 157-157 p.
- Weir, B.S.; Johnston, P.R. y Damm, U.** 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. Studies in Mycology 73: 115–180 p.