

DETERMINACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LA PODREDUMBRE AMARGA Y PODREDUMBRES POR BOTRYOSPHAERiace EN URUGUAY

Alaniz, Sandra¹; Delgado, Leonardo¹; Hernández, Laura¹; Leoni, Carolina²; Mondino, Pedro¹

¹ Cátedra de Fitopatología, Dto. de Protección Vegetal, Facultad de Agronomía – UDELAR, Montevideo, Uruguay.

² Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria; INIA Las Brujas

E-mail: salaniz@fagro.edu.uy

Palabras clave: manzana, enfermedades de verano, *Colletotrichum*, podredumbre de fruta, Botryosphaeriaceae

Introducción

La podredumbre amarga y las podredumbres causadas por especies de Botryosphaeriaceae son dos de las dos principales enfermedades incluidas en el complejo denominado “enfermedades de verano”. Si bien la incidencia de ambas enfermedades suele ser muy variable entre años y entre montes, en los años favorables a su desarrollo las pérdidas suelen ser cuantiosas.

Podredumbre amarga

La podredumbre amarga del manzano es causada por especies del género *Colletotrichum*. Esta enfermedad se ve favorecida por la ocurrencia de abundantes precipitaciones y altas temperaturas, sobre todo en los períodos cercanos a la cosecha. En los años favorables para su desarrollo, veranos lluviosos y cálidos, las pérdidas de fruta pueden superar el 50%. En general todas las variedades de manzana pueden ser infectadas, sin embargo las de cosecha tardía suelen ser las más afectadas como es el caso de Granny Smith, Cripps Pink o Fuji. Otras variedades que pueden ser afectadas son las rojas o de estación como Early Red One, Oregon Spur, Red Delicious o Red Spur.

El síntoma principal es una podredumbre blanda que externamente aparece como una mancha redondeada, de color café claro, generando una depresión en el centro con un diámetro de entre 0,5 y 6 cm. En la sección transversal la podredumbre avanza hacia el interior de la fruta formando una “V” característica. Sobre la mancha aparecen numerosas estructuras, principalmente cerca del centro de las mismas, que se corresponden con los acérvulos de *Colletotrichum* spp., los que con frecuencia se disponen en círculos concéntricos. En ataques severos es frecuente observar infecciones múltiples sobre un mismo fruto, a medida que avanzan las podredumbres estas se fusionan afectando la mayor parte de la fruta (Figura 1).

Las dos especies de *Colletotrichum* que tradicionalmente han sido reportadas como causantes de la podredumbre amarga del manzano son *Colletotrichum gloeosporioides* y *C. acutatum* (Agrios, 2005; Jones y Aldwinckle, 2002).

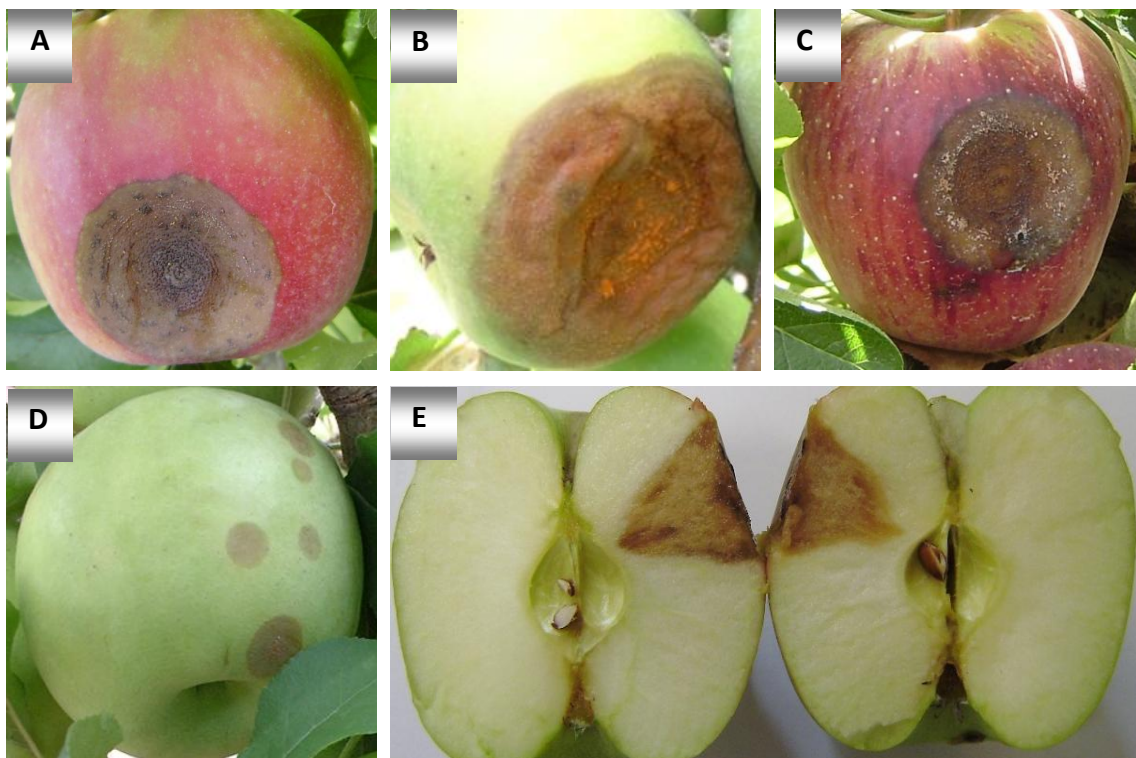


Figura 1: Síntomas y signo causados por *Colletotrichum* spp. en frutos de manzana (A) Cripps Pink, (B) Granny Smith y (C) Red Delicious; (D) infecciones múltiples y (E) avance típico de la podredumbre en forma de “V” hacia el centro de la fruta.

Re-identificación de los agentes causales de la podredumbre amarga en Uruguay

En un estudio previo, se identificaron las especies de *Colletotrichum* asociadas a la podredumbre amarga del manzano en Uruguay utilizando características fenotípicas y el análisis de la región ITS que codifica para el ADN ribosomal (Alaniz *et al.*, 2012).

En los últimos años se ha revisado exhaustivamente la identidad de numerosos aislados de *Colletotrichum* provenientes de diversos cultivos y de diversas regiones en el mundo. En base a análisis multigénicos se describieron nuevas especies, otras fueron re-identificadas y los sinónimos fueron enfatizados. Por este motivo se revisó la identidad de los 41 aislados Uruguayos de *Colletotrichum* provenientes de frutos de manzana con síntomas de podredumbre amarga, pertenecientes a la colección de hongos del laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía. Para ello se analizaron dos nuevas regiones génicas, parte de los genes gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) y β -tubulina2 (BTUB2). La secuencia de estos dos genes junto con el de la región ITS, se combinó en un análisis multigénico y se analizaron por dos métodos, Máxima Parsimonia e Inferencia Bayesiana.

Dentro del complejo de especies de *C. gloeosporioides*, los 33 aislados antes identificados como *C. gloeosporioides* fueron re-identificados como *C. fructicola*, mientras que los 6 aislados identificados como *C. fragariae* se identifican como *C. theobromicola* (sinónimo de *C. fragariae*). Dentro del complejo de especies de *C. acutatum*, de los 2 aislados identificados como *C. acutatum* uno fue re-identificado como *C. melonis* y el otro no pudo ser identificado a nivel de especie (Hernández *et al.*, 2014) (Tabla 1).

De acuerdo a estos resultados las dos especies que tradicionalmente se han asociado a la podredumbre amarga del manzano, *C. gloeosporioides* y *C. acutatum*, no son las causantes de esta enfermedad en nuestro país.

Tabla 1. Resultados de la identificación molecular de 41 aislados de *Colletotrichum* obtenidos de frutos de manzana con síntomas típicos de podredumbre amarga, mediante el análisis tres regiones génicas (ITS, GAPDH y BTUB2).

Especie	Aislados	Origen geográfico	Variedad
<i>C. fructicola</i>	C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C13, C14, C16, C17, C18, C20, C22, C23, C24, C26, C27, C28, C29, C30, C31, C32, C33, C35, C36, C37, C38, C39, C40, C41, C42	Rincón de Melilla, Melilla, Juanicó, Progreso, Las Violetas	Cripps Pink, Fuji, Granny Smith, Oregon Spur, Red Delicious
<i>C. theobromicola</i>	C12, C15, C19, C21, C25 y C37	Progreso, Melilla	Cripps Pink, Fuji, Granny Smith
<i>C. melonis</i>	C11	Juanicó	Granny Smith
<i>Colletotrichum</i> sp.	C18	Juanicó	Early Red One

Podredumbres por Botryosphaeriaceae

Tradicionalmente las especies de la familia Botryosphaeriaceae *Botryosphaeria dothidea* y *Diplodia seriata* (= “*B. obtusa*”) se han asociado a dos enfermedades que afectan la fruta de manzano, podredumbre blanca y podredumbre negra respectivamente (Jones y Aldwinckle, 2002). El síntoma consiste en una podredumbre que avanza con rapidez afectando toda la fruta en poco tiempo y tomando, con frecuencia, el aspecto de una “manzana asada”. Se desarrolla principalmente durante el verano, sobre todo en el período próximo a la cosecha. Externamente suele observarse pequeñas puntuaciones de color negro sobre la podredumbre que corresponden a las estructuras reproductivas de estos hongos.

La diferencia principal entre ambas enfermedades radica en la coloración y consistencia de la podredumbre. En el caso de podredumbre blanca la coloración externa suele ser castaño claro y de consistencia blanda, mientras que la podredumbre negra presenta coloración más bien castaño oscuro y de consistencia más firme (Figura 2). Con frecuencia no se diferencian fácilmente ambas enfermedades en el campo.

En Uruguay las variedades más afectadas son las de del grupo de manzanas rojas o de cosecha de estación como Red Delicious estándar y Red Delicious Spur. También se ha observado incidencia, aunque menor, en el grupo constituido por Cripps Pink, Fuji y Granny Smith que son de cosecha tardía. En el caso del grupo de las Galas o de cosecha temprana como Royal Gala, Mondial Gala entre otras, prácticamente no se ha observado la incidencia de estas enfermedades.

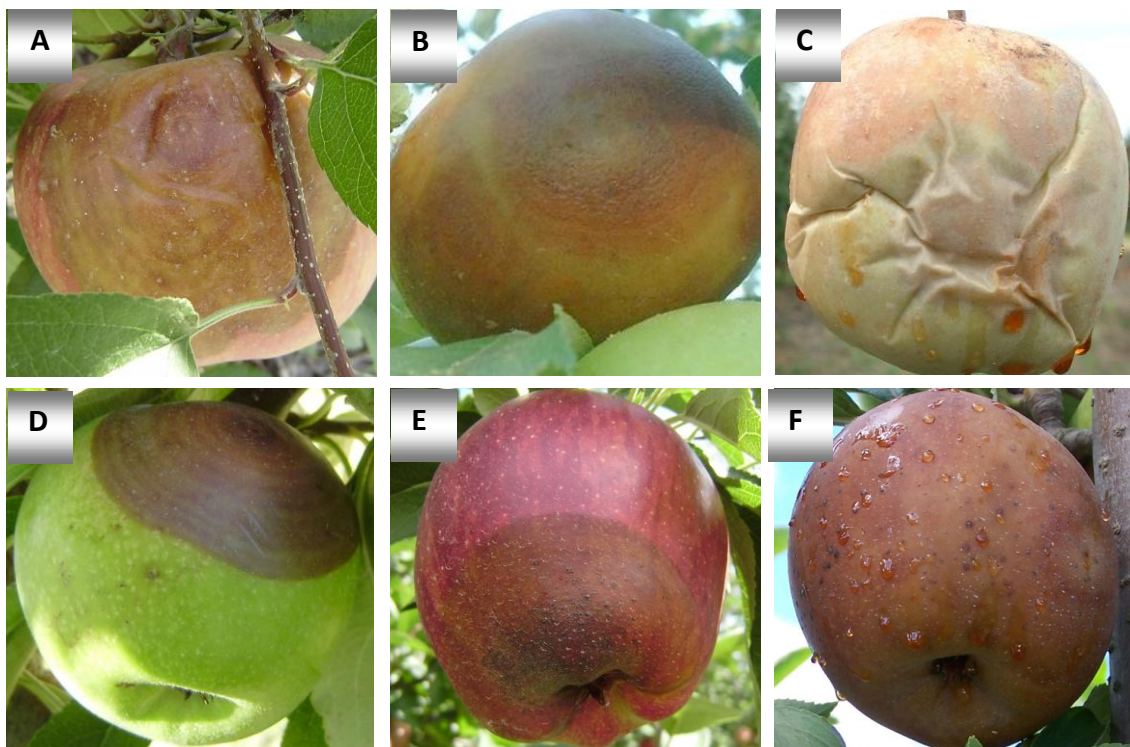


Figura 2: Síntomas y signo causados por especies de Botryosphaeriaceae en frutos de manzano. Observe las podredumbres de color castaño claro (A, B, C) y color castaño oscuro (D, E, F), presencia de pequeñas puntuaciones oscuras sobre la podredumbre que corresponden a las estructuras reproductivas del hongo (B y E), y aspecto de manzana asada (C y F).

Identificación de los agentes causales de las podredumbres causadas por Botryosphaeriaceae

De distintas zonas de producción de manzano en los departamentos de Canelones, Montevideo y San José, se colectaron frutos con síntomas sospechosos de ser causados por especies de Botryosphaeriaceae.

En el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía, se realizaron los aislamientos obteniéndose un total de 43 cultivos de Botryosphaeriaceae. La identificación de los aislados se realizó mediante el análisis de dos regiones génicas, la región ITS que codifica para el ADN ribosomal y parte del gen de la β -tubulina (BTUB2). La secuencia de las dos regiones se unió en un análisis multigénico y se analizaron filogenéticamente por dos métodos, Máxima Parsimonia e Interferencia Bayesiana. Se identificaron un total de 7 especies de Botryosphaeriaceae, 22 de los aislados como *B. dothidea*, 7 como *D. seriata*, 5 como *D. intermedia*, 4 como *Neofusicoccum parvum*, 2 como *N. luteum*, 1 como *N. australe* y 1 como *Lasiodiplodia theobromae* (Delgado, 2013) (Tabla 2).

Inoculaciones artificiales en frutos de manzano con aislados de todas las especies identificadas, mostraron que las especies de Botryosphaeriaceae que producen conidios hialinos (Tabla 2), tienden a producir podredumbres de color castaño claro. Por otra parte, que aquellas especies que generan conidios de color marrón, las podredumbres que producen son más bien de color castaño oscuro.

Estos resultados indican que además de las dos especies de Botryosphaeriaceae que tradicionalmente se han asociado a podredumbres de fruta en manzano, otras 5 especies de esta familia también causan este síntoma en los frutos de manzano de Uruguay.

Tabla 1. Resultados de la identificación molecular de 43 aislados de Botryosphaeriaceae obtenidos de frutos de manzana con síntomas de podredumbre, mediante el análisis de las regiones génicas (ITS y BTUB2).

Especie	Coloración de los conidios	Aislamientos	Origen geográfico	Variedad
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	hialino	B26, B57, B103, B105, B108, B109, B116, B119, B120, B127, B128, B141, B143, B147, B155, B159, B160, B161, B162, B165, B169, B170, B172	Melilla, Rincón de Melilla, Progreso, Juanicó, Las Violetas, El Colorado, Rincón del Colorado, Canelón Chico	Red Delicious, Red Chief, Early Red One, Oregon Spur, Cripps Pink, Fuji, Granny Smith
<i>Neofusicoccum parvum</i>	hialino	B32, B134, B168, B171	Melilla, Canelón Chico, El Colorado, Rincón del Colorado, Juanicó	Early Red One, Top Red, Cripps Pink, Granny Smith
<i>N. luteum</i>	hialino	B55, B107	Melilla, Canelón Chico	Granny Smith
<i>N. australe</i>	hialino	B112	Melilla	Red Chief
<i>Diplodia seriata</i> (=“ <i>B. obtusa</i> ”)	marrón	B2, B3, B115, B125, B149, B164, B167	Melilla, Juanicó	Red Delicious, Red Chief, Cripps Pink, Granny Smith
<i>D. intermedia</i>	marrón	B4, B5, B117, B118, B144	Melilla, Progreso	Red chief, Fuji, Granny Smith
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	marrón	B113	Melilla	Red Chief

Bibliografía

- Agrios GN.** 2005. Plant pathology 5th ed. San Diego, California: Elsevier. 495 p.
- Alaniz S, Hernández L, Damasco D, Mondino P.** 2012. First report of *Colletotrichum acutatum* and *C. fragariae* causing bitter rot of apple in Uruguay. Plant Disease, 96: 458.
- Delgado L.** 2013. Caracterización de especies de Botryosphaeriaceae asociadas al cultivo de manzano en Uruguay. [Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas opción Microbiología]. Montevideo, PEDECIBA-Biología, Universidad de la República. 78 p.
- Hernández L, Mondino P, Alaniz S.** 2014. Re-identificación de especies de *Colletotrichum* causantes de la podredumbre amarga del manzano en Uruguay, mediante análisis multigénicos. En: 13^o Congreso Nacional de Horti-Fruticultura; 3-7-setiembre; 2014; Montevideo, Uruguay. p.71.
- Jones A, Aldwinckle H.** 2002. Compendium of apple and pear diseases. St. Paul, MN, USA, APS. 100 p.