

Patogenicidad de *Colletotrichum* asociado a mango y efecto *in vitro* de fungicidas

José Ariel Carreño Toala¹, Luis Sánchez Francisco Medranda², Ángel Monserrate Guzmán Cedeño^{3,4}, Katty Paola Ormaza Cedeño⁴, Sergio Miguel Vélez Zambrano⁴

¹Ecuaplantas compañía limitada, Quito, Ecuador

²Manahaya S.A, Manta, Ecuador

³Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Manta, Ecuador

⁴Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Calceta, Ecuador

Dirección de contacto: smvelez@espam.edu.ec

Resumen

La antracnosis es una enfermedad provocada por el hongo *Colletotrichum* spp, que afecta a diversos cultivos frutícolas como el mango. El objetivo de este trabajo fue determinar la patogenicidad de aislados de *Colletotrichum* proveniente de frutos de mango y definir la eficacia *in vitro* de fungicidas. Los frutos con síntomas de antracnosis se colectaron en campo en la provincia de Manabí y se lavaron con agua corriente para después cortar pequeños fragmentos que se desinfectaron con alcohol e hipoclorito de sodio, se lavaron con agua destilada esterilizada y se secaron con papel filtro, se sembraron en medio de cultivo PDA. Se realizaron pruebas de patogenicidad utilizando el método de palito de madera con micelio, inoculado en frutos sanos de la variedad Tommy Atkins. Para corroborar la presencia del fitopatógeno se realizaron reaislamientos a partir de tejido afectados y se observaron las estructuras en microscopio óptico. La prueba de sensibilidad *in vitro* se realizó con ocho tipos de fungicidas y tres repeticiones más testigo (sin fungicida) en un diseño completamente al azar. La inoculación artificial confirmó la patogenicidad de los aislamientos obtenidos. Mediante el análisis morfológico, se pudo verificar que los hongos aislados pertenecen a *Colletotrichum* spp. En la prueba de sensibilidad *in vitro* la mayoría de fungicidas sistémicos evaluados inhibieron totalmente el crecimiento del microorganismo, a diferencia de los fungicidas protectantes que permitieron el desarrollo del fitopatógeno. De esta manera, se considera que sería fundamental realizar pruebas sobre frutos de mango para comprobar la eficacia de estos fitosanitarios en vivo.

Palabras clave: hongos, fungicida, patogenicidad, sensibilidad.

Introducción

La antracnosis provocada por el hongo (*Colletotrichum gloeosporioides*) es una enfermedad grave que afecta la calidad de los productos agrícolas y por ende a la economía de los productores. Este problema fitosanitario está ampliamente distribuido en todas las regiones del mundo donde se cultivan frutales. La incidencia de la enfermedad varía marcadamente en función de la susceptibilidad de los frutales, las condiciones climáticas y la virulencia del patógeno (Carboni, 2018; Sreenivasaprasad y Talhinhos 2005).

El género *C. gloeosporioides* es causante de muchas enfermedades prácticamente en todas las cosechas agrícolas del mundo. Los síntomas típicos de la infección se denominan 'antracnosis' que se caracterizan por el hundimiento necrosado del tejido donde se producen masas de conidias dentro de un acérvulo. La antracnosis se presenta en tejidos de plantas en desarrollo y maduros, afecta frutos durante su desarrollo en el campo, así como frutos maduros durante su almacenaje (Rodríguez, Cárdenas, Hernández, Gutiérrez y Pérez, 2013; Latunde y Akinwunmi, 2001;).

A nivel del Ecuador no existe mucha información de esta enfermedad en mango, menos aún en la provincia de Manabí y por ende, el conocimiento adecuado de los patógenos que provocan estas enfermedades, es una necesidad de vital importancia para los cantones productores de esta fruta. Por esta razón el objetivo de esta investigación fue evaluar la patogenicidad y sensibilidad *in vitro* de *Colletotrichum* spp asociado a mango.

Materiales y Métodos

1. Colecta de frutos

Esta fase fue de manera exploratoria donde se recorrieron las localidades del Cantón Bolívar, que presentaran frutos de mango de diferentes variedades con síntomas de antracnosis, se procedió a guardarlos en una funda plástica con su respectiva etiqueta, posteriormente se llevó a procesar al laboratorio de Biología Molecular de la ESPAM MFL.

2. Desinfección de los frutos y siembra

Primero se desinfectaron 20 frutos en estado de madurez, lavándolos con agua y jabón líquido, después se secaron con servilletas o toallas absorbentes, para proceder a retirar una capa de tejido entre el epicarpio y mesocarpio para obtener pequeños pedazos con una medida de (1 cm x 1 cm) del tejido adyacente al punto de la lesión, de acuerdo a procedimientos sugeridos por Larran, Vera y Dal Bello (2011). Luego fueron cortados de forma diminuta (0,05 cm x 0,05 cm) y desinfectados con alcohol al 70 % e hipoclorito de sodio 2%, cada muestra se sumergió un minuto en cada solución, luego se sometió a tres lavados con agua destilada, para su posterior secado se colocaron en caja Petri (90 mm Ø) con papel toalla esterilizada y fueron llevados a la cámara de flujo laminar, según recomendaciones de Mazzoni y Peixoto (2016).

El medio que se utilizó es el PDA (papa dextrosa agar) con una concentración de 39 g/L de agua previamente autoclavado, la dispensación del medio y la siembra de los aislados se hicieron en la cámara de flujo laminar para evitar una contaminación de agentes externos. Se sembraron cuatro fragmentos por aislados por caja Petri en orientación a los puntos cardinales, luego se sellaron las cajas con plástico adherente, y por último se ubicaron en un lugar a temperatura ambiente $25^{\circ}\text{C}\pm 4$ y un periodo de alternancia de luz y oscuridad de 12 horas según sugerencias de Acosta *et al.* (2003), Larran *et al.* (2011) y Mazzoni y Peixoto (2016). Posteriormente se realizaron repiques para tener aislamientos purificados.

Sensibilidad *in vitro*

Se seleccionó un aislado representativo entre los aislados obtenidos y se lo sometió a una prueba con ocho fungicidas, tres dosis y cuatro réplicas, en un diseño DCA.. Los fungicidas se escogieron de acuerdo a su ingrediente activo, la dosis que se utilizaron fueron las comerciales. Se midió el crecimiento del hongo con un calibrador vernier para conocer si existía resistencia frente a fungicidas e ingredientes activos, metodología propuesta por Sartorato (2006).

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos al análisis de varianza y la separación de medias se utilizó la prueba de tukey al 0.05 de probabilidades del error

Resultados y Discusión

Identificación de *Colletotrichum* spp

De los aislamientos obtenidos se pudo comprobar al observar las características morfológicas como forma de conidios, ausencia de septos en los conidios, así como la presencia de acervulos en frutos inoculados, que el hongo en estudio se trataba de *Colletotrichum* spp. en comparación con las características relatadas en (Barnett y Hunter 1998).

Sensibilidad *in vitro*

Los tratamientos presentaron inhibición de *Colletotrichum* spp en relación al Testigo, mientras que clorotalonil y cobre pentahidratado que alcanzaron menor inhibición, pero a su vez inhibiendo significativamente más que el testigo, esto indistintamente del aislado y especie frutal donde se colecto el patógeno. Los fungicidas difeconazol, propiconazol, carbendazin, benomil, azoxystrobin, tebuconazol en sus respectivas dosis inhibieron en su totalidad el desarrollo micelial del hongo. (Tabla 1)

Tabla 1. Porcentaje de Inhibición de *Colletotrichum* spp aislado de mango

FUNGICIDAS	MEDIAS	P-VALOR
DIFECONAZOL	100 ^a	0,0001
PROPICONAZOL	100 ^a	
CARBENDAZIN	100 ^a	
BENOMIL	100 ^a	
AZOXYSTROBIN	100 ^a	
TEBUCONAZOL	100 ^a	
CLORATHALONIL	58,98 ^b	
SULFATO COBRE PENTAHIDRTADO	35,93 ^c	
TESTIGO	0 ^d	

Conclusiones

Los hongos aislados de frutos de mango Miguelillo y Tommy atkins, con síntomas de antracnosis pertenecen al género *Colletotrichum*.

Los fungicidas evaluados fueron eficaces en el control *in vitro* de *Colletotrichum* y deberían ser evaluados en condiciones semi controladas.

Bibliografía

- Acosta, R., Nieto, A. & Domínguez, D. 2003. Calidad y tolerancia en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) a la inoculación del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., en poscosecha. *Chapingo Serie Horticultura*, 7, 119-124
- Carboni, R. 2018. Complexos de espécies de *Colletotrichum* associados aos citros e a outras frutíferas no Brasil. Tesis de Doctorado. Unesp, Brasil
- Barnett, H. y Hunter, B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. St. Paul, Minnesota, USA: The American Phytopathological Society.
- Larran, S., Vera. B., & Dal Bello. 2011. First report of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose on *Blepharocalyx salicifolius* in Argentina. *Australasian Plant Dis. Notes* 6: 18-19.
- Latunde-Dada, O. y Akinwunmi O. 2001. *Colletotrichum*: tales of forcible entry, stealth, transient confinement and breakout. *Molecular plant pathology* 2(4):187-98.
- Rodríguez, S., Cárdenas, E., Hernández, S., Guitierrez, A., & Pere, N. 2013. Análisis de la infección de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc. de frutos de aguacatero. scielo. Recuperado el 29 de octubre de 2018, de <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v35n3/a29v35n3.pdf>
- Sartorato, A. 2006. Sensibilidad “*in vitro*” de aislados de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas. *Pesquisa Agropecuária Tropical* (Agricultural Research in the Tropics), 211-213.
- Sreenivasaprasad, S., y Pedro Talhinhos. (2005). Genotypic and phenotypic diversity in *Colletotrichum acutatum*, a cosmopolitan pathogen causing anthracnose on a wide range of hosts». *Molecular plant pathology* 6(4):361-78.