

Trejo María F., Carbajo María S.
E-mail: carbajoromero.maria@inta.gob.ar.
Estación Experimental Agropecuaria Famaillá. Ruta Provincial N° 301 Km 32 (4132) Famaillá, Tucumán,

INTRODUCCION

Argentina exporta parte de su producción cítrica a la Unión Europea (UE), bajo las normas de un programa de certificación de fruta fresca, para evitar el ingreso de plagas cuarentenarias. Entre estas se encuentra “la mancha negra de los cítricos”, causada por el hongo *Guignardia citricarpa* Kiely [anamorfo *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Van der Aa]. El objetivo general de este trabajo fue el aislamiento, caracterización morfológica, molecular y evaluación de patogenicidad de cepas de *Guignardia* sp. en frutos cítricos.

MATERIALES Y METODOS

Se colectaron muestras de frutos y hojas con síntomas, de diferentes lotes comerciales de *Citrus* sp. Los aislamientos se realizaron sembrando trozos de tejidos afectados en agar papa glucosado 2% (APG 2%) y la caracterización se realizó por observación macroscópica de las características de la colonia y por repique en agar avena. Para la caracterización cultural y morfológica de las cepas (figura 1), se realizó la siembra del hongo en los medios: APG, agar avena (AA) y agar zanahoria (AZ) y se evaluaron las características culturales de las colonias a los 7, 14, 21 y 28 días.



Figura 1. Caracterización en diferentes medios de cultivo.

La identificación de las cepas se realizó por técnicas moleculares a través de PCR con primers específicos para *G. citricarpa* (GCN/GCMR) y para *Guignardia* sp (GMN/GCMR) y se evaluó la patogenicidad de las cepas sobre frutos de naranja Valencia, lima Tahití y limón Limoneira 8-A durante 90 días (figura 2).



Figura 2. Ensayo de patogenicidad.

RESULTADOS

Como resultado de 189 muestras procesadas se obtuvieron 5 aislamientos de *Guignardia citricarpa*, (figura 3) y 6 posibles *Guignardia* sp. Todas las cepas de *G. citricarpa* formaron halo amarillo característico en medio AA, no así las cepas de *Guignardia* sp.

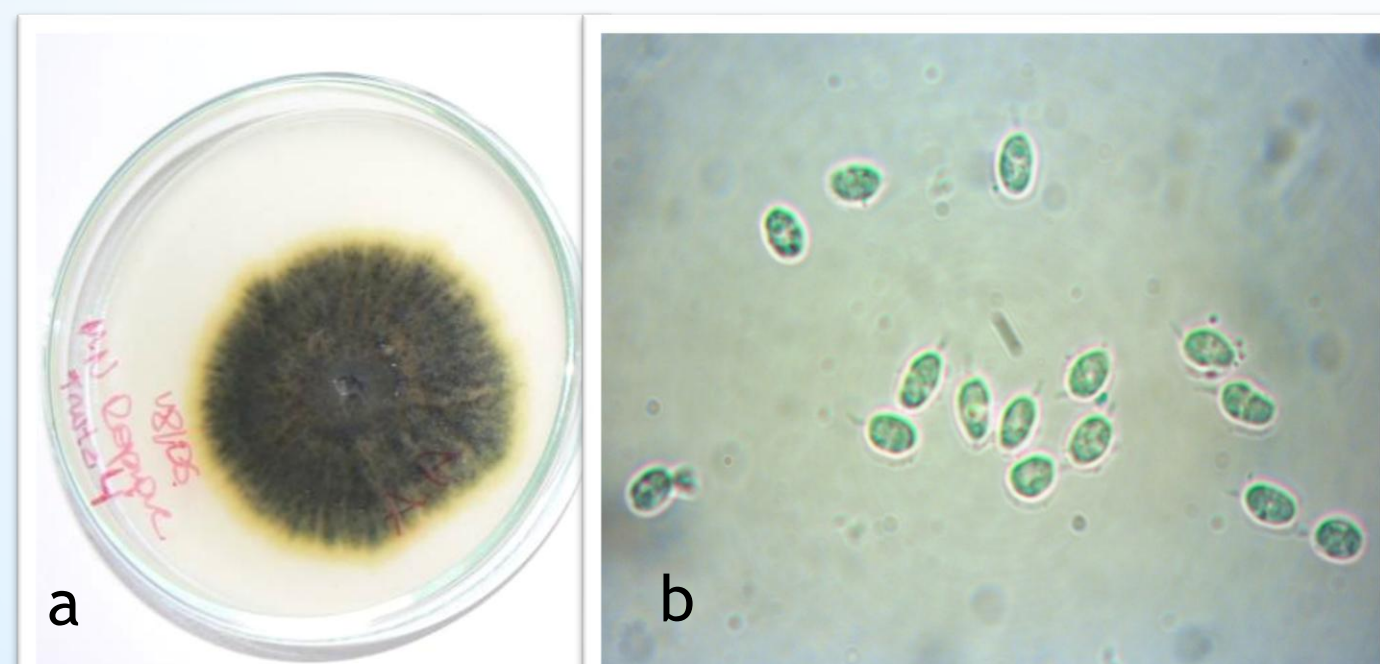


Figura 4. Aislamiento de *Guignardia citricarpa* a) Colonia b) Conidio.

En el ensayo de caracterización cultural y morfológica, las cepas de *Guignardia* sp. tuvieron un mayor crecimiento que las cepas de *G. citricarpa* en todos los medios (figura 5). Las cepas de *Guignardia* sp. fueron redondas y con bordes lisos mientras que *G. citricarpa* fueron estrelladas con bordes irregulares (figura 6).

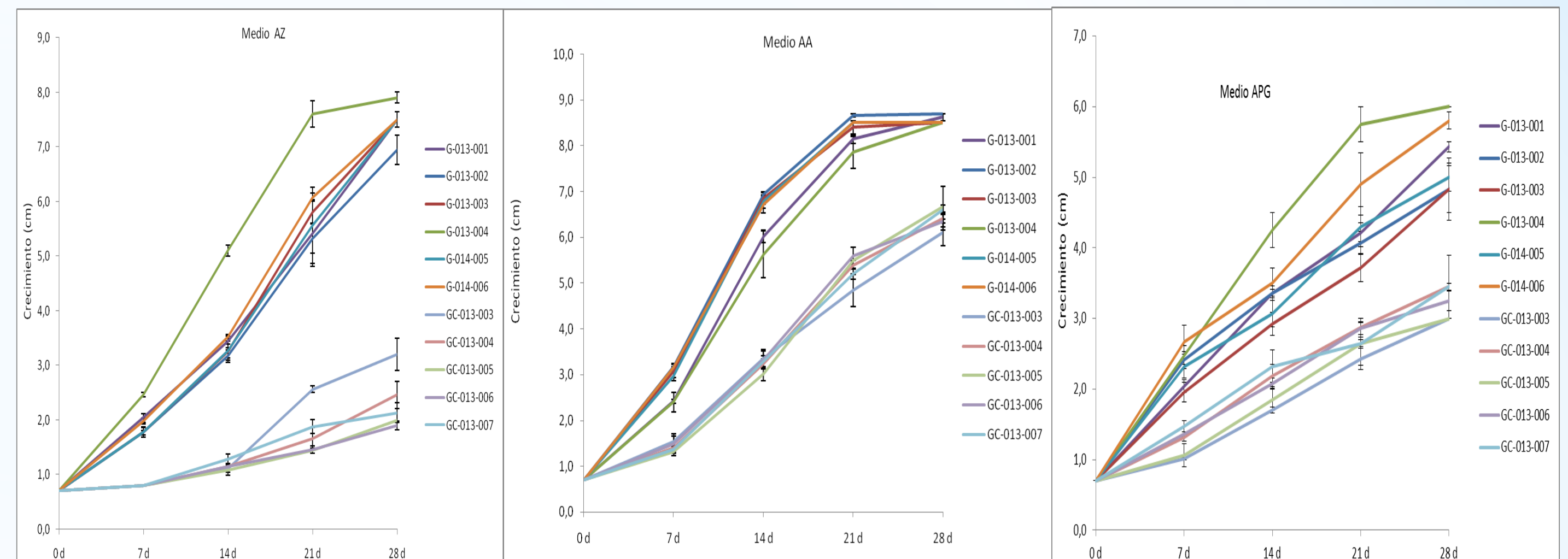


Figura 5. Curva de crecimiento de las cepas en tres medios diferentes.

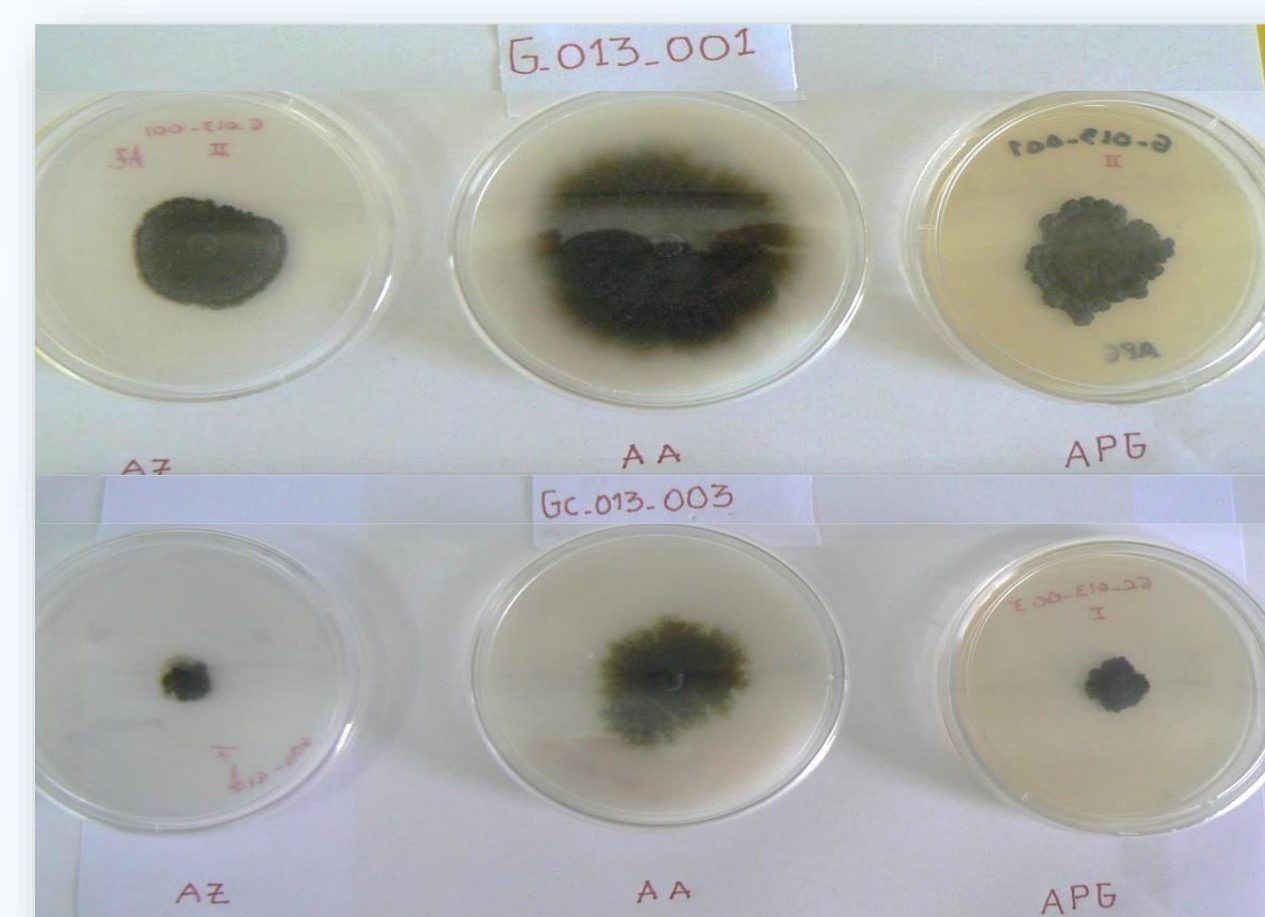


Figura 6. Caracterización de dos cepas en tres medios diferentes.

Se ajustó el protocolo de extracción de ADN a partir de micelio de las cepas de *Guignardia* y los resultados de PCR mostraron que los primers específicos para *G. citricarpa* amplificaron (figura 7) no así para *Guignardia* sp. ya que este último amplificó con el set de primers de *G. mangiferae*, confirmando que las cepas que formaron en medio AA pigmento amarillo son *G. citricarpa* mientras que las cepas que no lo formaron son *G. mangiferae*.

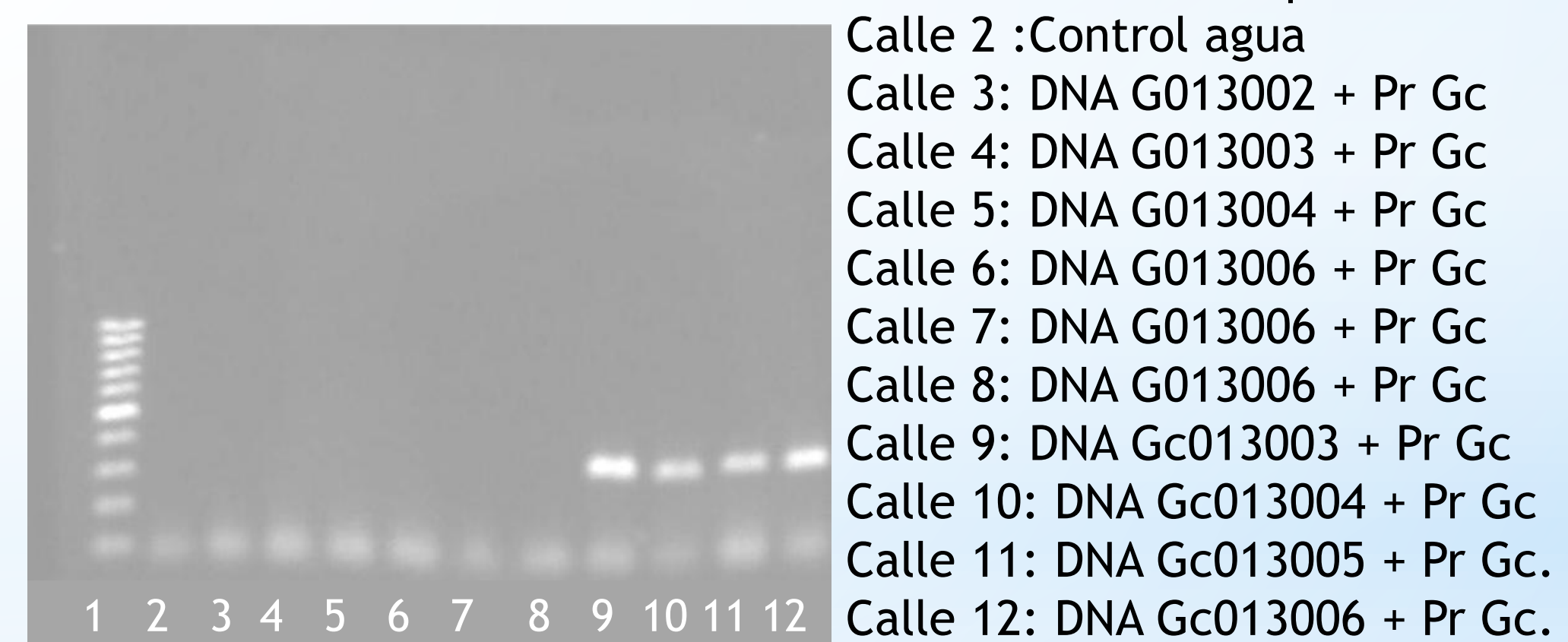
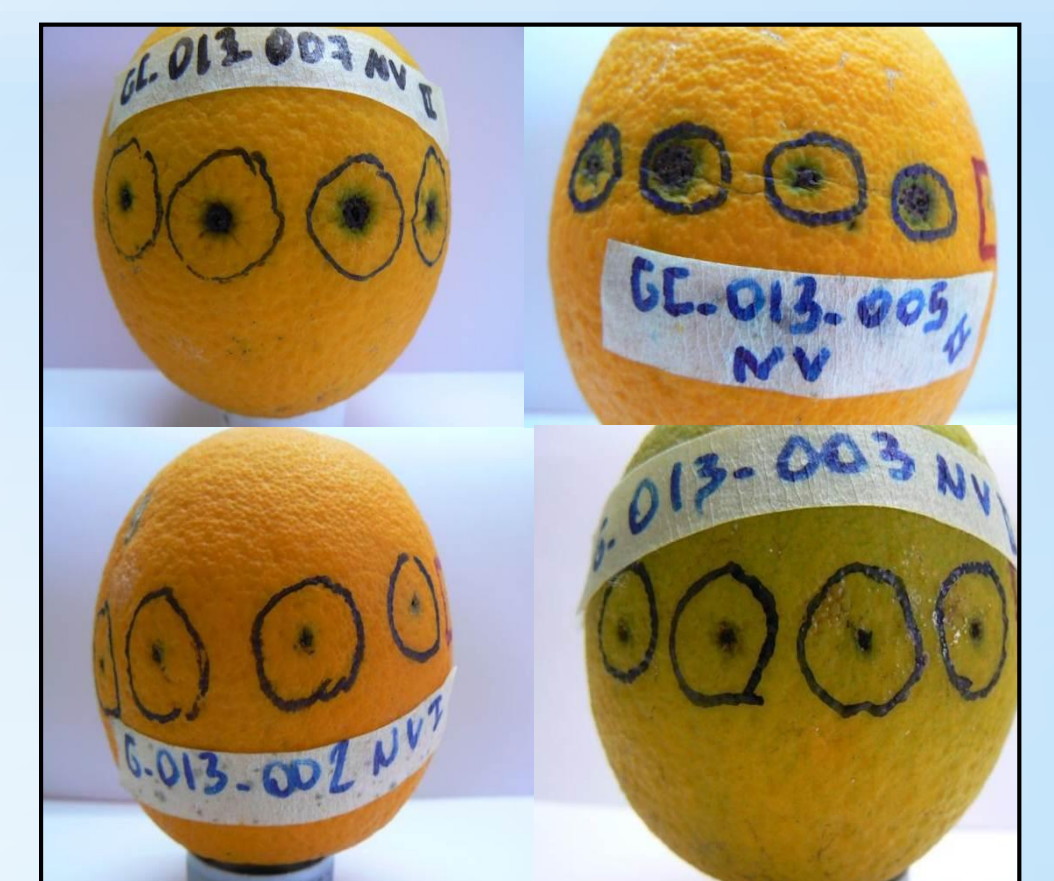


Figura 7. PCR con ADN de *Guignardia* sp. y *G. citricarpa* con primers específico de Gc.

En el ensayo de patogenicidad las cepas de *G. mangiferae* no desarrollaron síntoma, sin embargo las cepas de *G. citricarpa* presentaron síntomas alrededor de los 20 días de haber sido inoculadas las frutas.

Figura 8. Frutos de naranjas inoculada con cepas de *Guignardia* sp. y *G. citricarpa*



CONCLUSIONES

Estos resultados nos llevan a concluir que *G. mangiferae*, es asintomática y que junto *G. citricarpa* coexisten en un mismo huésped de *Citrus* sp.