



40° Congreso Argentino de Horticultura

Córdoba • 2 al 5 de octubre 2018



Identificación morfológica y molecular de aislamientos del agente etiológico del oídio del zapallo (*Cucurbita moschata*) en la provincia de San Juan.

Soria^{1, 2}, F.E.; Nally², M.C. y Paz³, R.C.

¹. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, UNaM. ². Instituto de Biotecnología (FI-UNSJ). ³. CIGEOBIO (CONICET/FCFEYn-UNSJ).

Correo-e: flory_soria@hotmail.com.

Introducción

El oídio del zapallo es una importante enfermedad fúngica foliar que afecta cultivos crecidos a campo e invernadero (Miazzi et al., 2011). Se caracteriza por que aparece sobre las hojas como puntos blancos pulverulentos, y puede cubrir por completo ambas superficies foliares y extenderse sobre peciolo y tallos. Como consecuencia de la infección, se produce una defoliación prematura, afectando el rendimiento y calidad de los frutos y, en casos severos, la muerte temprana de la planta (McGrath et al., 1996). Esta enfermedad se atribuye mayoritariamente a dos hongos biótrofos pertenecientes al orden Erysiphales (Ascomycota): *Podosphaera xanthii* y *Golovinomyces cichoracearum*. En nuestro país, y particularmente en San Juan, existe escasa información sobre la etiología de la enfermedad. Por consiguiente, el objetivo de este trabajo fue aislar e identificar morfológica y genéticamente al agente causal del oídio en un cultivo de *C. moschata* en la provincia de San Juan.

Materiales y métodos

1-Recolección de hojas sintomáticas Enero-abril 2018



2-Aislamiento



•Inoculación: transferencia de micelio, con pincel estéril, de una única colonia sobre los cotiledones de una plántula de 14 días sana.

3-Análisis microscópico y molecular



•Caracterización morfológica del anomorfo.

-Basada en caracteres de importancia taxonómica.
-Mediante microscopio óptico, registro fotográfico y mediciones micromorfológicas utilizando el software Imagen-Pro® Plus 4.5.

•Colony PCR:

-Iniciadores especie-específicos de la región ITS del rDNA.
-Ciclado modificado de Chen et al. (2008), con 15 min. iniciales a 97 °C de lisis celular.

Resultados

A partir de 18 aislamientos obtenidos y mantenidos en plántulas vivas de zapallo se realizó el análisis microscópico y molecular. En todos se observó conidióforos con conidios en cadena, conformados por una célula pie recta o ligeramente doblada, cilíndrica, ensanchada en la base y acompañada por 0-4 células anexas (fig. 1-A). Los conidios, hialinos, de forma ovoide-elipsoidal a cilíndricos, presentaron cuerpos de fibrosina en su interior cuando fueron tratados con K(OH) al 3 % (fig. 1-B). La germinación de los conidios fue usualmente lateral, con un tubo germinal corto, ancho, muchas veces orientado paralelo al eje longitudinal del conidio, simple o bifurcado (fig. 1-C). Las medidas de conidióforos, células pie y conidios se especifican en la tabla 1. Todas estas características se corresponden con los descriptores morfológicos de *P. xanthii*. Esta información fue corroborada mediante caracterización molecular, donde se obtuvo un amplicón de aprox. 450 pb con el par de iniciadores S1/S2, específicos de *P. xanthii*, para 8 de los 18 aislamientos analizados (fig. 2).

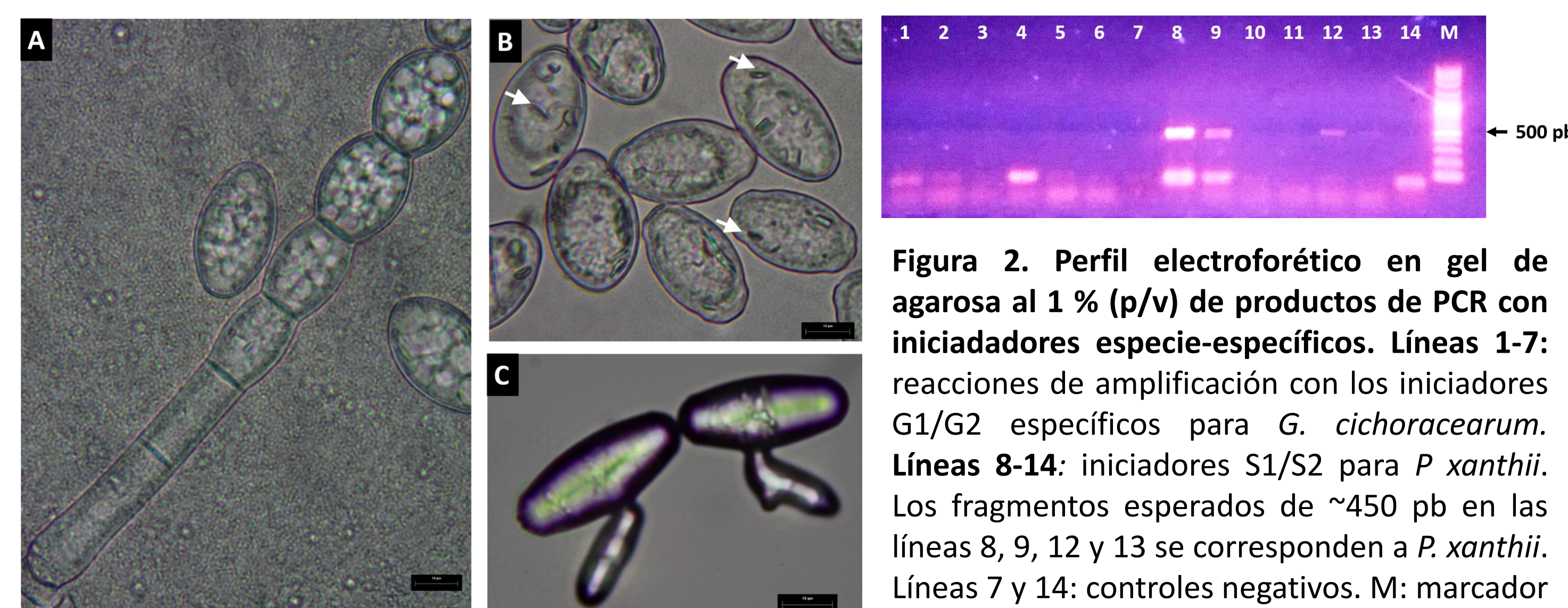


Figura 1. Características morfológicas encontradas en los 18 aislamientos de oídio. A) Conidióforo. B) Conidios con cuerpos de fibrosina (flechas). C) Patrón de germinación: conidios con tubos laterales simple y bifurcado. Barra=10 µm.

Figura 2. Perfil electroforético en gel de agarosa al 1 % (p/v) de productos de PCR con iniciadores especie-específicos. Líneas 1-7: reacciones de amplificación con los iniciadores G1/G2 específicos para *G. cichoracearum*. Líneas 8-14: iniciadores S1/S2 para *P. xanthii*. Los fragmentos esperados de ~450 pb en las líneas 8, 9, 12 y 13 se corresponden a *P. xanthii*. Líneas 7 y 14: controles negativos. M: marcador de peso molecular de 100 pb.

Características fúngicas		Media	D.E.	Rango de medias	*Min. Obs.	*Max. Obs.
Conidióforos	Longitud	103,40	16,07	77,16 - 133,39	41,85	184,90
	Célula pie					
Célula pie	Largo	67,58	8,78	55,71 - 85,82	33,89	151,37
	Ancho	10,97	0,59	10,01 - 11,96	8,50	13,10
Conidios	Largo	33,70	1,38	30,99 - 36,47	25,15	46,10
	Ancho	18,34	1,45	16,50 - 20,96	13,14	25,05
	Largo/Ancho	1,86	0,16	1,64 - 2,12	1,28	2,84

* Medidas mínimas y máximas observadas.

FINANCIAMIENTO

-Proyectos de Extensión Universitaria UNSJ 2017. Res. N° 050/17-CS. (Año 2017-2019) Hacia una nueva cultivar de zapallo anco resistente a oídio: Aislamiento y caracterización de cepas de oídio nativas y determinación del rango de tolerancia a las mismas de germoplasma de zapallo.

-3er Convocatoria del programa de educación en cooperativismo y economía social en la Universidad, Ministerio de Educación (Año 2017-2018). MinEdu: PCESU9-718 - INTERACCIÓN ZAPALLO ANCO-OÍDIO.

Discusión y Conclusiones

La presencia de conidios con cuerpos de fibrosina, un patrón de germinación del tipo *fibroidium* subtipo *brevitubus* y las características morfológicas de conidióforos, células pie y conidios se correspondieron con lo descrito para *P. xanthii* (Boesewinkel, 1980; Bojórquez-Ramos et al. 2012; Cook and Braun, 2009; Félix-Gastélum et al., 2007). La obtención de amplicones con iniciadores especie-específicos también determinó la identidad de la especie fúngica como *P. xanthii* (Chen et al., 2008). De acuerdo a esto, se concluye que *P. xanthii* es la especie fúngica preponderante asociada a los síntomas del oídio de zapallo en el lote evaluado en la provincia de San Juan.

REFERENCIAS

- Boesewinkel HJ (1980). The morphology of the imperfect states of powdery mildews (Erysiphaceae). Bot. Rev., 46: 167-224.
Bojórquez-Ramos C, León-Félix J, Allende-Molar R, Muy-Rangel MD, Carrillo-Fasio José Armando, Valdez-Torres JB, López-Soto FSM, García-Estrada RS (2012). Characterization of powdery mildew in cucumber plants under greenhouse conditions in the Culiacan Valley, Sinaloa, Mexico. Afr. J. Agric. Res., 7(21): 3237-3248.
Chen RS, Chu C, Cheng CW, Chen WY, Tsay JG (2008). Differentiation of two Powdery mildews of sunflower (*Helianthus annuus*) by PCR-mediated method based on ITS sequences. Eur. J. Plant Pathol., 121: 1-8.
Cook RTA, Braun U (2009). Conidial germination patterns in powdery mildews. Mycol. Res., 113: 616-636.
Félix-Gastélum R, Ávila-Díaz JA, Valenzuela-Cota BO, Trigueros-Salmeron JA, Longoria-Espinoza RM (2007). Identificación y control químico de los agentes causantes de la mancha foliar y la cenicilla del tomate (Physalis ixocarpa Brot.) en el Norte de Sinaloa, México. Mex. Rev. Fitopatología 25: 1-10.
McGrath MT, Staniszewska H, Shishkoff N (1996). Distribution of mating types of *Sphaerotheca fuliginea* in the United States. Plant Dis., 80: 1098-1102.
Miazzi M, Laguardia C, Faretra F (2011). Variation in *Podosphaera xanthii* on cucurbits in southern Italy. J. Phytopathol., 159: 538-545.