



LASIODIPLODIA THEOBROMAE Y COLLETOTRICHUM QUEENSLANDICUM, PATÓGENOS DEL FOLLAJE DEL PANAPÉN (ARTOCARPUS ALTILIS) EN PUERTO RICO

Daniel González Rodríguez¹, Casiani Soto Ramos², Lorena Simbaña³ y Lydia I. Rivera Vargas⁴

Estudiante graduado¹, Investigadora Asistente², Investigadora Asistente³ Catedrática⁴

Departamento de Ciencias Agroambientales.

Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.



Resumen

Artocarpus altilis (Moraceae), es un árbol frutal de origen tropical reconocido globalmente por su valor cultural, alta producción de frutos y potencial de refinamiento. A nivel mundial se han documentado reportes de patógenos y enfermedades, sin embargo, en el Caribe estos estudios han sido limitados. A partir de esto, los objetivos de este estudio se dirigieron a la identificación y caracterización de agentes patogénicos de *Artocarpus altilis* en Puerto Rico. En el 2018 se observaron síntomas de etiología desconocida en predios de panapén localizados en las Estaciones Experimentales de Lajas e Isabela de la UPR. Los síntomas foliares observados fueron manchas anulares necróticas irregulares en los márgenes y en ambos lados de la hoja. Se identificaron los géneros de hongos: *Lasioidiplodia* spp. y *Colletotrichum* spp. luego de su aislamiento a partir de tejido sintomático, utilizando claves taxonómicas. Las colonias de *Lasioidiplodia* spp. produjeron micelio aéreo de color gris, tornándose negro con el tiempo. Inicialmente los conidios inmaduros fueron hialinos, unicelulares de forma ovoide. Al madurar, los conidios se tornaron marrón oscuro, bicelulares con líneas estriadas. Las colonias de *Colletotrichum* spp. produjeron micelio algodonoso blanco con acérvulos y masas de conidios de color salmón. El tamaño de los conidios (n=30) de *Lasioidiplodia* sp. promediaron 30.68 x 18.96 µm (largo x ancho), mientras que los de *Colletotrichum* sp. fueron de 11.65 x 3.58 µm (largo x ancho). Las pruebas de patogenicidad realizadas en árboles a nivel de vivero demostraron sintomatología patogénica con los aislados evaluados y se completaron los postulados de Koch. Se observó el desarrollo de picnidios en tejidos vegetales afectados por *Lasioidiplodia* sp. y exudados de color naranja producidos conteniendo masas de conidios de *Colletotrichum* sp. Los árboles control no presentaron síntomas. La identificación molecular fue realizada mediante análisis de secuenciación de ADN para ambas especies utilizando los genes ITS4/ITS5, Bt2a/Bt2b, EF688/EF1251, LROR/LR5 para *Lasioidiplodia* sp. e ITS-1F/ITS-4, T1F/T2R, GSF/GSR, ACT-512F/ACT-783R, HIS CYCLIN 3F/HIS CYCLIN-1b, GDF/GDR, CHS-79F/CHS-34R y SODglo2-F/SODglo2-R para *Colletotrichum* sp. Se identificaron las especies: *Lasioidiplodia theobromae* y *Colletotrichum queenslandicum* del tejido vegetal colectado en Lajas e Isabela, luego de comparar las secuencias con la base de datos del GenBank. Ambas especies han sido identificadas como patógenos importantes causantes de epidemias como antracnosis, muerte regresiva y canchales en ramas en un rango de cultivos tropicales. Este es el primer reporte de *Lasioidiplodia theobromae* y *Colletotrichum queenslandicum* afectando follaje de panapén en Puerto Rico y el Caribe.

Introducción

El árbol de pana (*Artocarpus altilis*) es un árbol frutal perenne de origen tropical, perteneciente a la familia Moraceae. Este es caracterizado por crecimiento vigoroso, alto rendimiento, y gran potencial de refinación. Diversos estudios han caracterizado patógenos de este cultivo causando enfermedades foliares y de pudrición (raíz, fruto y muerte descendente); a pesar de esto reportes en el Caribe son muy limitados. Predios de pana localizados en las Estaciones Experimentales Agrícolas de Lajas e Isabela han sido observados con sintomatología foliar desconocida consistiendo en manchas anulares y necrosis irregular a través de márgenes, haz y envés de hojas. Considerando la limitada literatura sobre patógenos en este cultivo en Puerto Rico y el Caribe, se propuso identificar los hongos patogénicos asociados a los síntomas foliares. Los objetivos de esta investigación fueron identificar y caracterizar los agentes causales utilizando criterios como los son: morfología, patogenicidad y análisis de ADN. Esta investigación aporta conocimiento básico sobre los hongos fitopatógenos que afectan el panapén y su desarrollo en Puerto Rico.

Materiales y Métodos

➤ Muestreo en EEA de Lajas e Isabela.

Síntomas foliares observados: Pequeños anillos necróticos, clorosis y marchitez a través de la hoja

➤ Aislamiento de hongos y caracterización morfológica

Medio de cultivo utilizado: Agar de papa y dextrosa (PDA). La caracterización morfológica se realizó utilizando microscopía de luz utilizando claves taxonómicas. Criterios como tamaño, forma y dimensiones de conidias fueron considerados. Protocolo Monospórico fue realizado para aislados de *Colletotrichum* sp.

➤ Pruebas de patogenicidad

Pruebas de patogenicidad fueron realizadas en árboles de panapén en condiciones de Vivero, se realizaron 2 replicas simultaneas. Postulados de Koch fueron completados.

➤ Identificación molecular

El micelio fue raspado de colonias de hongos esporuladas y macerado en Lysing Matrix E-tubes, el DNA genómico fue extraído utilizando FastDNA™ Spin Kit para amplificar genes mediante PCR y observación a través de gel de Electroforesis. Los cebadores utilizados fueron ITS5-ITS4, Efa1-Efa2 688F-1251R (Phillips et al. 2010) LSU (LROR – LR5) (Rehner & Samuels et al. 1994 y Vilgalys & Hestres et al. 1990) para *Lasioidiplodia* sp. e ITS, Btb, So2, H3, ACT, GS, CHS-1 y GADPH (Weir et al. 2012) en *Colletotrichum* sp..

Resultados

Aislados a partir de hojas sintomáticas (Fig. 1-A) fueron identificados morfológicamente a través de claves taxonómicas y microscopía de luz como *Lasioidiplodia* spp. y *Colletotrichum* spp. (Izquierda a derecha) Fig. 1-B. Para aislados de *Colletotrichum* sp. protocolo de cultivo monospórico fue realizado. Pruebas de Patogenicidad de esto aislados fueron realizadas en árboles en condiciones de invernadero con dos repeticiones Fig. 1-C. Ambas especies demostraron patogenicidad en árboles de panapén inoculados. Estructuras características sobre la hoja fueron observadas y aislados fueron obtenidos nuevamente a partir de tejido sintomático completando los postulados de Koch. A partir de AND obtenido se identificaron las especies como *Colletotrichum queenslandicum* y *Lasioidiplodia theobromae* con 95 - 99% de homología con secuencias depositadas en (NCBI) Genbank.



Fig. 1. A) Sintomatología observada en predios de panapén EEA Lajas e Isabela. **B)** Aislados fúngicos obtenidos y morfología a partir de sintomatología (Izquierda *L. theobromae* y derecha *C. queenslandicum*) **C)** Árboles utilizados en Pruebas de Patogenicidad. **D)** Estructuras observadas sobre la hoja (Izquierda *L. theobromae* y derecha *C. queenslandicum*) **E)** Aislados y morfología de conidias de *Lasioidiplodia theobromae* Y *Colletotrichum queenslandicum* mediante de microscopía de luz (arriba *L. theobromae* y abajo *C. queenslandicum*).

Conclusión

- Pruebas de patogenicidad en *Artocarpus altilis* demostraron síntomas visibles luego de inoculación para ambos aislados.
- Se identificaron los hongos causales de síntomas desconocidos en las hojas de panapén.
- EL análisis molecular utilizando ADN nos ha permitido identificar las especies: *Colletotrichum queenslandicum* y *Lasioidiplodia theobromae* con 95 - 99% de homología con secuencias depositadas en Genbank.

Agradecimientos

Al increíble equipo de trabajo de Investigación en laboratorios de Fitopatología AP-102 y AP-108, Agro. Víctor M. González y Agro. Luis E. Collazo e Inv. Casiani Soto Ramos. A la Dr. Lydia I. Rivera por la oportunidad de participar en su laboratorio a través de los proyectos, Plants: Friends and Foes en colaboración con Penn State University; y ECaFSS: "Encouraging Careers in Food Security and Safety: a multi - institutional collaborative approach in Puerto Rico" (Award No. 2016-38422-25541) del USDA NIFA.

Referencias

- Phillips, Alan J. L.; Hyde, Kevin D.; Alves, Artur; Liu, Jian-Kui (2018). *Families in Botryosphaeriales: a phylogenetic, morphological and evolutionary perspective. Fungal Diversity*, (), - . doi:10.1007/s13225-018-0416-6
- Weir, B.S., P.R. Johnston, and U. Damm, 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology* 73: 115–180.