



**Colletotrichum gloeosporioides y Fusarium equiseti  
CAUSAN LA ANTRACNOSIS Y PUDRICIÓN DEL GRANO DEL GUANDUL EN LA  
REPÚBLICA DOMINICANA**

Y. Segura, J. Arias G. Godoy de Lutz



**INTRODUCCIÓN**

La Antracnosis es una enfermedad causada por especies de *Colletotrichum* que induce manchas necróticas en las vainas verdes y se extienden hasta destruir la vaina, y luego pudre los granos reduciendo la calidad y producción del grano. El hongo se transmite por la semilla (Lenné, 1992) y ha causado pérdidas de > 50% de cosecha de granos en el valle de San Juan donde se siembra la mayor parte del cultivo (Segura et al., 2005). En adición a *Colletotrichum* se han aislado cultivos puros de *Fusarium*. Actualmente no existen variedades comerciales resistentes.

**OBJETIVOS**

Determinar las especies de hongos asociadas a la antracnosis y manchado o podredumbre del grano por tecnología PCR

Realizar pruebas de patogenicidad para determinar si los aislados de *Fusarium* son patógenos o contaminantes en el manchado o podredumbre del grano

**MATERIALES Y MÉTODOS**

**Colección de aislados**

Se obtuvieron un total 24 aislados colectados de plantas enfermas en la Estación Experimental de Arroyo Loro y Pedro Corto en San Juan.

**Extracción de ADN genómico**

Para la extracción del ADN (Ácido desoxirribonucleico) genómico se utilizó un protocolo de UltraClean DNA Isolation kit de MoBio Laboratories, Inc.

**Amplificación por PCR**

Oligonucleótidos utilizados para secuenciación de aislados de *Colletotrichum* y *Fusarium*:

ITS 1 5'-TCGGTAGGTGAACCTGCGG-3' y ITS4 5'-TCTCCGCTTATTGATATGC-3' (White et al., 1990).

Para identificación de *C. gloeosporioides*: CgInt 5'-GGCTCCCGCCTCCGGGCGG-3' y ITS4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' (Brown et al., 1996)

Para identificación de *Fusarium*: FEF1 *F. equiseti* 5'-CATACCTATACGTTGCCTCG-3' y FER1 TTACCAGTAACGAGGTGTATG (Mishra et al., 2003)

**Secuenciación de la región ITS**

Aislados de *Colletotrichum* (4) y *Fusarium* (4) fueron secuenciados en el Genomics Core Research Facility de la Universidad de Nebraska-Lincoln, Lincoln, Nebraska, EUA. Las secuencias resultantes sometidas a un análisis con MEGA-BLAST (MEGA Basic Local Alignment Search Tool), nucleótido-nucleótido (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

**Prueba de patogenicidad:**

Vainas desinfectadas de las variedades IDIAF Primor e IDIAF Navideño se inocularon con discos de 5 mm de micelio de 8 y 10 aislados de *Colletotrichum* y *Fusarium*, respectivamente e incubados a 25 °C hasta el desarrollo de síntomas. La patogenicidad se evaluó utilizando la escala de Van Schoonhoven y Pastor-Corrales, 1987. Se reaislaron los hongos para completar los postulados de Koch.

**RESUMEN DE RESULTADOS**

En base a las secuencias de la región ITS rADN se determinó que los aislados corresponden a las especies *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium equiseti*. Todos los aislados de *Fusarium* y *Colletotrichum* en este estudio amplificaron fragmentos de 400 y 450 pb respectivamente con los oligonucleótidos específicos para cada especie.

Todos los aislados *C. gloeosporioides* y *F. equiseti* inoculados fueron patógenos a las vainas y granos a las 72 horas después de la inoculación.

Se demostró que *F. equiseti* es un patógeno y no un contaminante.

**CONCLUSIONES**

La presencia de *C. gloeosporioides* y *F. equiseti* amenazan la productividad del cultivo y calidad de guandul en la República Dominicana. Ambas son detectables en análisis de semilla para evitar su diseminación a nivel nacional. Este es el primer reporte de *F. equiseti* asociado a pudrición de la semilla de guandul.

**REFERENCIAS**

Brown A.E., Sreenivasaprasad S., Timmer L.W., 1996. Molecular characterization of slow-growing orange and key lime anthracnose strains of *Colletotrichum* from citrus as *C. oocrotium*. *Phytopathology* 86, 523-527  
Lenné, J.M. (1992). *Colletotrichum* disease in legumes. In: *Colletotrichum - Biology, Pathology and Control* (eds. J.A. Bailey and M.J. Jeger). CAB International, Wallingford, UK: 237-249.  
Mishra, P.K., Fox, R.T.V., Culham, A., 2003. Development of a PCR-based assay for rapid and reliable identification of pathogenic *Fusaria*. *FEMS Microbiology Letters* 218, 329-332.  
Segura, Y., J. Arias y G. Godoy de Lutz. 2005. Efecto de azoxystrobin en la antracnosis del guandul (*Cajanus cajan* L.) Millsp. Segundo Congreso BIANUAL SODIAF, 24-25 de Noviembre, Santo Domingo, Rep. Dominicana  
Van Schoonhoven, A. y M. A. Pastor-Corrales. 1987. Standard system for the evaluation of bean gemplasm. CIAT, Cali Colombia, 53 pp.  
White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, eds. Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White. Academic Press, Inc., New York.

Comparación y similitud de secuencias de la región ITS-rADN de hongos aislados de semillas y vainas de guandul con secuencias de accesiones publicadas en el NCBI Genbank

ID aislados	% de similitud con secuencias en el Genbank	Score	Especie	Nº de accesion	Origen
G01	99	968	<i>Fusarium equiseti</i>	FJ459976	China
G02	100	966	"	"	"
G03	99	963	<i>Fusarium equiseti</i>	EU585566	EUA
G16	95	924	"	"	"
GEEAL-2	99	1005	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	AY266383	Tailandia
GEEAL-3	99	1002	"	"	"
GA	98	1027	"	"	"
GB	99	1027	"	"	"



ADN extraído de tejido de la semilla y la vaina de guandul infectado fue amplificado con marcadores específicos para *F. equiseti* y *C. gloeosporioides*

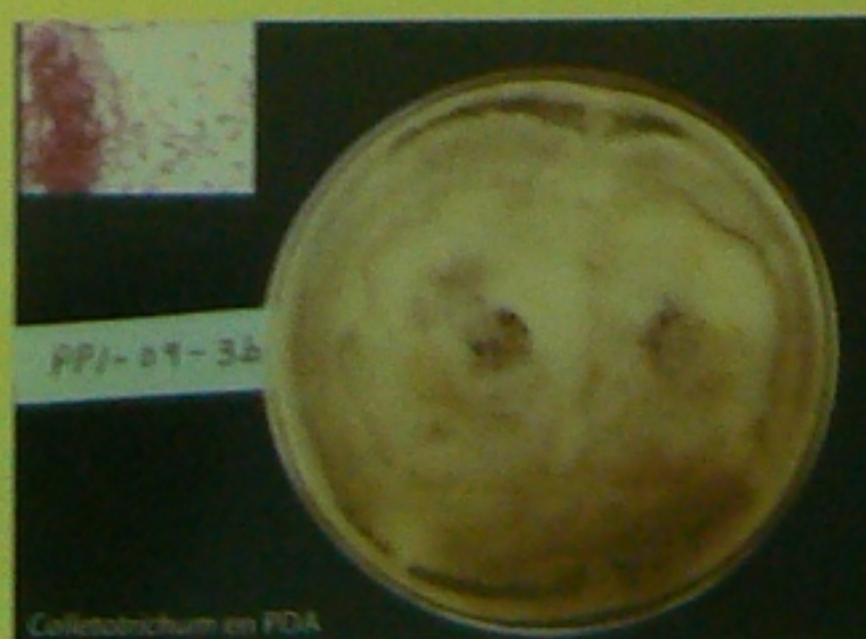


Inoculación con *Colletotrichum*

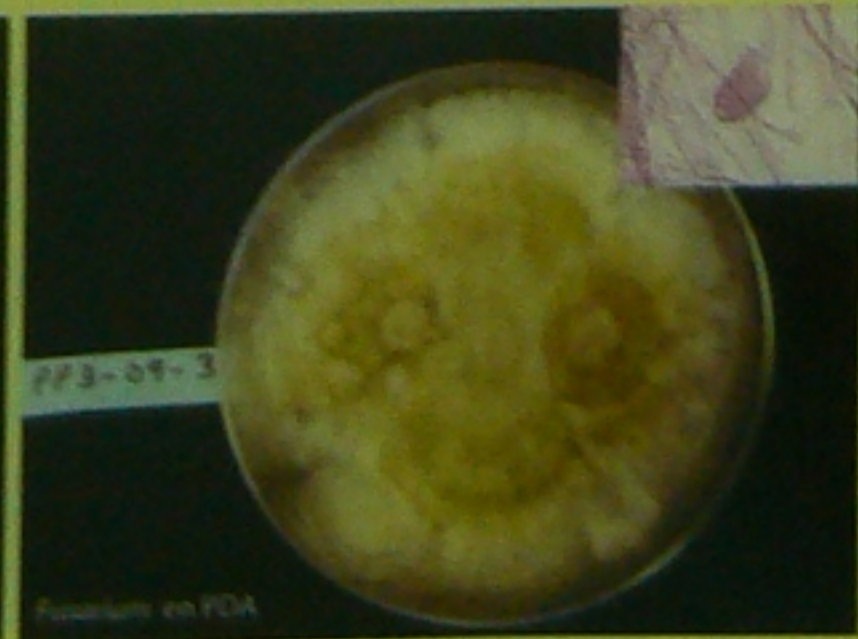


Inoculación con *Fusarium*

Prueba de patogenicidad *in vitro* en vainas de guandul: (A) vainas de guandul inoculadas con *Colletotrichum* y (B) vainas de guandul inoculadas con *Fusarium*



*Colletotrichum* en PDA



*Fusarium* en PDA

Todos los aislados de ambos hongos incitaron síntomas de podredumbre de la vaina y granos en periodo de 72 horas cubriendo de 75-100% vaina