

IDENTIFICACIÓN DE *Lasiodiplodia theobromae* CAUSANTE DE PUDRICIÓN RADICULAR NEGRA EN *Manihot esculenta*

GONZALEZ, Romina D. ^a; MADRASSI, Lucas M. ^{a,b}; ZAPATA, Pedro D. ^{a,b} MÓNACO, Cecilia I. ^c; ALVARENGA, Adriana E. ^{a,b}

^a UNaM, FCEQyN, InBioMis. Laboratorio de Biotecnología Molecular. Posadas - Misiones - Argentina. ^b CONICET. Buenos Aires - Argentina. ^c CIDEFI, FCAyF, UNLP. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

INTRODUCCIÓN

En Misiones, el cultivo de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), enfrenta significativos desafíos fitosanitarios como, la pudrición radical, que causa pérdidas considerables en los cultivos. De los tres tipos conocidos de pudrición radical, la negra (PRMN), ha sido recientemente reportada en la provincia por nuestro grupo de investigación. Para la identificación precisa de complejos de especies, es necesaria la caracterización morfológica y la identificación molecular con marcadores específicos.

OBJETIVOS

Identificar taxonómicamente dos aislamientos causantes de PRMN mediante la utilización de los marcadores ITS (*Internal Transcribed Spacer*) y TUB β (*Tubulin β*).

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Aislamientos de *Lasiodiplodia*: LAS01 y LAS02.

2. Extracción de ADN genómico total, a partir de cultivos de micelio en medio líquido de sacarosa y extracto de levadura incubados a 28°C durante 2 días.

3. Amplificación por PCR de región ITS (ITS1-5,8-ITS2) y región TUB β (Bt2a-Bt2b)

4. Secuenciación por método Sanger.

5. Concatenación de secuencias. Análisis filogenéticos usando NCBI y BLASTn, recuperando 21 secuencias en total. Construcción de árbol filogenético con programa MEGA-X11 mediante el método de *Maximum Likelihood* junto al Modelo de Kimura 2-parámetros y un *bootstrap* de 1000 replicas.

RESULTADOS

La identificación molecular mostró que en el género *Lasiodiplodia* se forma el complejo de especies *L. theobromae*, diferenciando las especies *L. theobromae sensu stricto* con un *bootstrap* de 78 (LAS01) y *L. parva* con un *bootstrap* 82 (LAS02). Estos resultados, corroborados por análisis morfológicos previos, respaldan la existencia de especies patógenas pertenecientes al complejo *L. theobromae*.

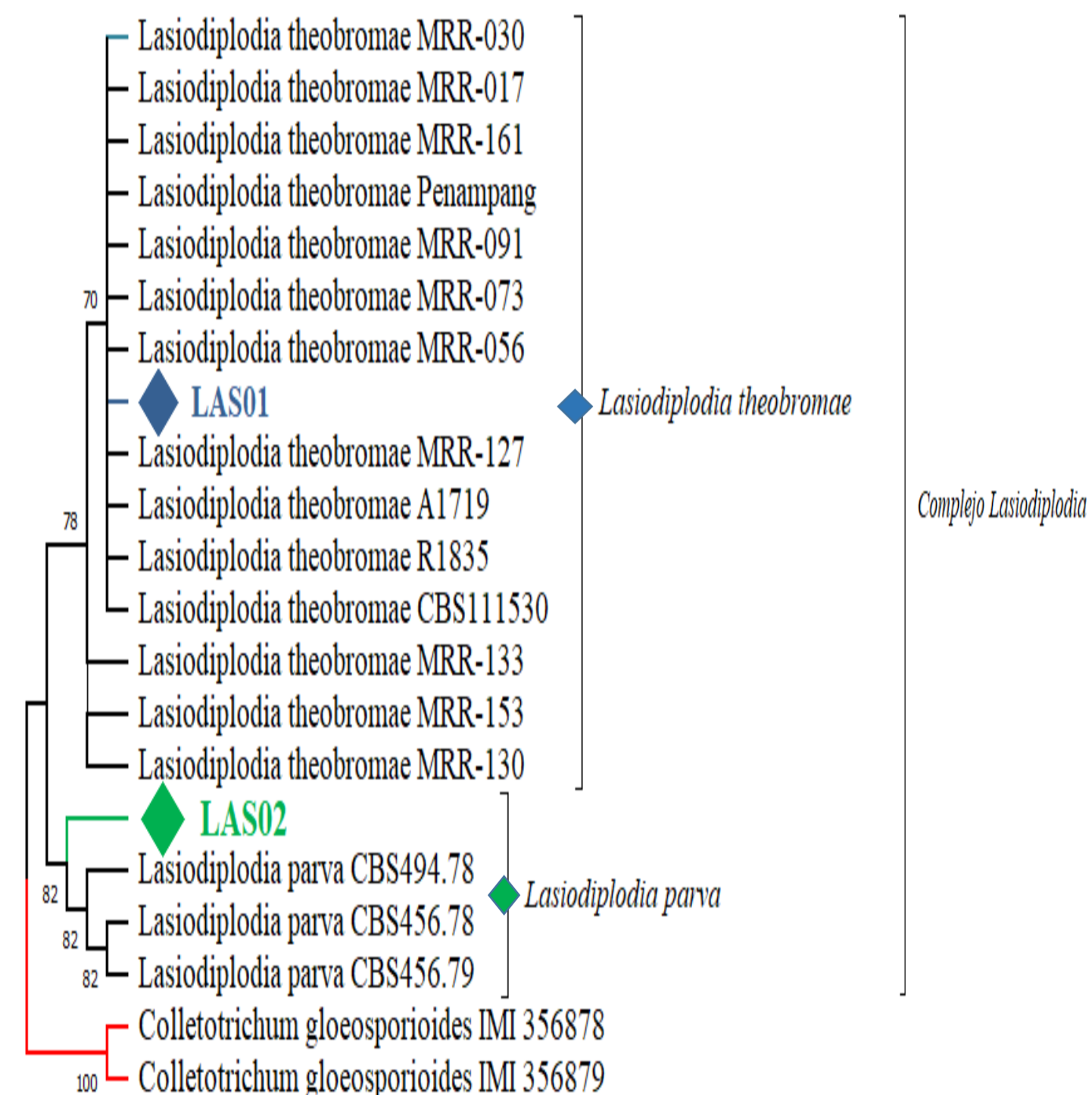


Figura 1: Árbol obtenido a partir del método *Maximum Likelihood*, utilizando el alineamiento de secuencias concatenadas de las regiones ITS1-5,8S-ITS2 y Bt2a-Bt2b. En la escala de la figura se indica en número de sustituciones por sitio y solo se muestran valores de bootstrap superiores al 70%, se utilizo *Colletotrichum gloeosporioides* como grupo externo en el análisis.

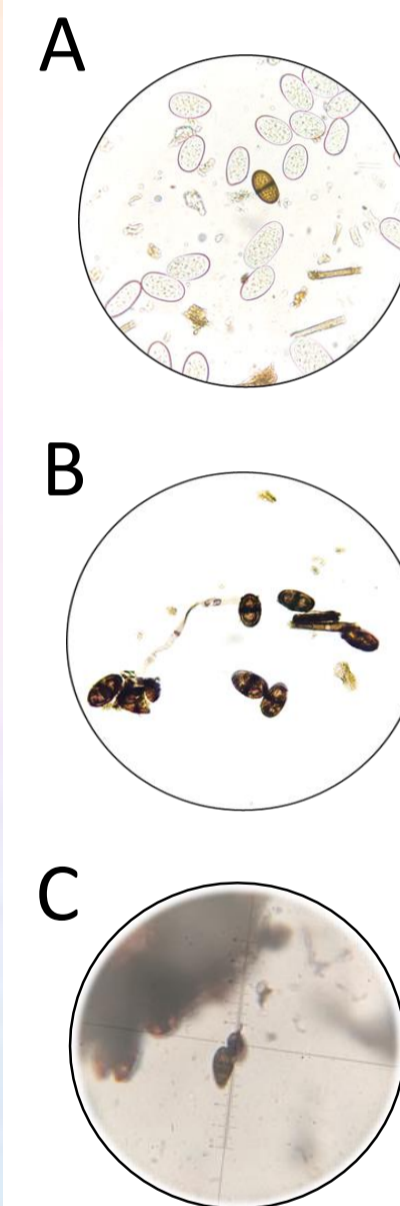


Figura 2: Imágenes al microscopio (100X) representativas de conidios de *Lasiodiplodia* LAS01, inmaduros (A) y maduros de paredes oscuras unitabacadas con más de 30 días de crecimiento (B); y *L. LAS02* (C). (fotos tomadas de Gonzalez y col. 2023).

CONCLUSIÓN

Este es el primer reporte de *L. theobromae sensu stricto* y de *L. parva*, causales de PRMN, en Misiones. La identificación taxonómica de estas especies podría permitir la implementación de estrategias de control más precisas para la pudrición radical en mandioca.