

In vitro response of *Penicillium ulaiense* to postharvest fungicides

Respuesta *in vitro* de *Penicillium ulaiense* a fungicidas poscosecha

M.A. Parra^{1*}, R. Pérez¹, J.A. Martínez¹

¹Grupo de Protección de Cultivos. Dpto. Producción Vegetal, Universidad Politécnica de Cartagena, P^o Alfonso XIII, 48. 30203 Cartagena, Spain.

* ma.parra@upct.es

Abstract

Penicillium ulaiense is a pathogen of citrus fruits little known to date, since traditionally, pathogens belong to *Penicillium* sp. of citrus fruits have been identified as *P. digitatum* and *P. italicum*. However, *P. ulaiense* has been cited as a citrus pathogen since the 1980s in several countries, especially in Asia. The continuous development of fruits throughout the five continents increases the hypothesis that this species has expanded to Europe, including Spain. In fact, *P. ulaiense* has already been detected in our country. It is possible that it is widespread can be unnoticed due to this species is very similar to the classical *Penicillium* species which cause citrus decay, such as *P. digitatum* and *P. italicum*. In this work, growth of an isolate of this species is characterised and compared to *P. digitatum* and *P. italicum*. Likewise, the effect of the thiabendazole and pyrimethanil fungicides is studied. The results showed a very low growth rate and conidial dispersion of *P. ulaiense* colonies with regard to *P. digitatum* and *P. italicum*. This low activity could be translated into a higher control of conidia production by the use of the two fungicides tested.

Keywords: Thiabendazole; pyrimethanil; *Penicillium digitatum*; *Penicillium italicum*.

Resumen

Penicillium ulaiense es un patógeno de frutos cítricos poco conocido hasta la fecha, ya que tradicionalmente, los patógenos penicílicos de los agrios se han identificado como *P. digitatum* y *P. italicum*. Sin embargo, *P. ulaiense* ha sido citado como patógeno de los cítricos en varios países desde la década de los 80, especialmente asiáticos. El continuo devenir de frutas a lo largo de los cinco continentes, acrecienta la sospecha de que la especie se haya infiltrado en Europa y, particularmente en España. En efecto, *P. ulaiense* ya ha sido detectado en nuestro país, es posible que se encuentre extendido, y que sea el agente causal de bastantes podredumbres penicílicas, pero puede pasar desapercibido por su enorme semejanza visual con las especies clásicas. En este trabajo, se pretende caracterizar el crecimiento de esta especie y compararla con *P. digitatum* y *P. italicum*. Así mismo, se estudia el efecto de los fungicidas tiabendazol y pirimetanil. Los resultados denotaron una tasa de crecimiento muy baja y dispersión de colonias de *P. ulaiense*, respecto a *P. digitatum* y *P. italicum*. Esta menor actividad se pudo traducir en un mayor control de la conidiogénesis por el uso de los dos fungicidas ensayados.

Palabras clave: Tiabendazol; pirimetanil; *Penicillium digitatum*; *Penicillium italicum*.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades más comunes y más graves de los frutos cítricos son los mohos verdes y azules, causados por *P. digitatum* y *P. italicum* respectivamente [1]. Sin embargo, se ha descrito *P. ulaiense* en otros países [2,3,4]. Tenemos constancia de que esta última especie se ha introducido ya en España, por lo que podría estar causando podredumbres que pueden pasar desapercibidas debido al extraordinario parentesco que tiene la podredumbre con las ocasionadas por las especies clásicas de *Penicillium* en cítricos. Fenotípicamente, *P. ulaiense* se puede diferenciar de *P. digitatum* y *P. italicum* por la presencia de sinemas o coremios que se forman principalmente en medio de cultivo sintético.

El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la patogenicidad de esta especie, y comprobar la efectividad de los fungicidas comúnmente utilizados contra *P. digitatum* y *P. italicum* en el control de este hongo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Origen de los aislados

El aislado de *P. ulaiense* fue suministrado en octubre de 2017 por la empresa Citrosol (Valencia; Spain). Fue obtenido de la microbiota de frutos cítricos producidos en esta comunidad. Los aislados de *P. digitatum* y *P. italicum* datan del año 2015 y son almacenados en la colección MAPYS (Microorganismos de la Agricultura, Poscosecha y Sostenibilidad) del Grupo Protección de Cultivos de la UPCT.

2.2. Aplicación de los postulados de Koch y desarrollo del hongo en agar-albedo

Se inocularon 4 limones maduros en una herida realizada con un punzón hasta alcanzar el albedo con 10 µL de una suspensión de conidios para cada hongo, se mantuvieron a 25°C y una humedad relativa del 90 a 95%. Después de 15 días, se desarrollaron síntomas y signos en la fruta inoculada con *Penicillium ulaiense*. El agente causal se volvió a aislar y caracterizar a nivel fenotípico, demostrando características propias de la especie y, por tanto, se confirmaron los postulados de Koch.

2.3. Tratamiento *in vitro* con los fungicidas tiabendazol y pirimetanil

Se preparó una batería de placas en medio de cultivo sintético de agar de patata de dextrosa (PDA Scharlab®, Barcelona) con los fungicidas Textar 60-T (60% p/v) y DECCO PYR (40% p/v) a diluciones sucesivas desde (10⁻¹ a 10⁻⁶). Se sembraron 4 placas para cada dilución y hongo, *Penicillium ulaiense* y los aislados de *Penicillium digitatum* y *P. italicum* [5].

Se determinó diariamente el área de crecimiento de la colonia (cm²), tasa de crecimiento (cm²/día), masa de micelio(g) y conidiogénesis (conidios/cm²), de acuerdo con Parra y Martínez (2016) [6]. En este trabajo se presentan los resultados correspondientes al crecimiento y efecto de los fungicidas sobre la conidiogénesis.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tasa de crecimiento de *P. ulaiense* fue significativamente inferior a la *P. digitatum* y *P. italicum*, ocupando el 9,6% del total de la placa para el día final del ensayo, *P. italicum* colonizó completamente la placa a partir del tercer día, mientras que *P. digitatum* mantuvo un crecimiento hasta completar el total de la placa el noveno día (Fig. 1). Esta diferencia tan elevada se debió a que *P. ulaiense* mostró una menor capacidad de dispersión de conidios por la placa de cultivo, de tal manera que el crecimiento cuantificado se redujo exclusivamente al de la colonia original. Este resultado demuestra una menor capacidad de dispersión de esta especie y, por tanto, un menor

riesgo de contaminación en cámara. Posiblemente, el mayor efecto de los fungicidas probados sobre esta especie se deba a su menor esporulación.

En *Penicillium* es común la dispersión del hongo a partir de la germinación de conidios producidos por la propia colonia principal, debido a la elevada tasa de conidiogénesis que presenta, ya que se trata de un hongo seco y pulverulento. Esto desemboca en la formación de colonias satélite en cultivos sintéticos que podrían interferir en el desarrollo de la colonia principal [6].

El tiabendazol fue más efectivo contra la esporulación de los aislados de *Penicillium*. El mayor efecto contra la esporulación de estos aislados se obtuvo con este fungicida. Se detectó crecimiento de las colonias y esporulación para la dilución (10^{-5}) (Fig. 2a), mientras que para el pirimetanil ya se obtuvo en la dilución (10^{-1}) (Fig 2b). *P. ulaiense* mostró valores similares de esporulación para las diluciones (10^{-5} y 10^{-6}), en ambos fungicidas (Fig. 2a, 2b). A la dosis más diluida, el tiabendazol redujo más del 50% la esporulación de *P. digitatum* y *P. italicum* frente al pirimetanil.

4. CONCLUSIONES

Los fungicidas tiabendazol y pirimetanil pueden ser utilizados para el control de *Penicillium ulaiense*, reduciendo la esporulación del hongo y por lo tanto su dispersión, con una mayor efectividad que para controlar a *P. digitatum* o *P. italicum*, especialmente con el uso de tiabendazol.

5. AGRADECIMIENTOS

A la empresa S.A.T. 9821 GRUPO CFM, por la financiación de este trabajo. A CITROSOL, especialmente a Celia Murciano, por el suministro e identificación del aislado de *P. ulaiense*. Finalmente, a Pablo Crespo de DECCÓ IBÉRICA por la entrega de DECCO PYR (pirimetanil).

6. REFERENCIAS

- [1] Plaza P., Usall J., Teizidó N., Viñas I. 2003. Effect of water activity and temperature on germination and growth of *Penicillium digitatum*, *P. italicum* and *Geotrichum candidum*. J. Appl. Microbiol. 94: 549-554.
- [2] Tashiro N., Manabe K., Ide Y. 2012 First report of whisker mold, a postharvest disease on citrus caused by *Penicillium ulaiense* (in Japan). J. Gen. Plant Pathol. 78: 140-144.
- [3] Khan A., Subhani M.N., Chatta M.B., Anwar W., Nawaz K. 2017. First report of whisker mold of citrus (*Citrus sinensis*) caused by *Penicillium ulaiense* in Pakistan. Plant Disease. 101: 1042.
- [4] Rouissi W., Cherif M., Ligorio A., Ippolito A., Sanzani S.M. 2015. First report of *Penicillium ulaiense* causing whisker mould on stored citrus fruit in Tunisia. J. Plant Pathol. 97: 402.
- [5] Pérez E., Blanco O., Berreta C., Dol I., Lado J. 2011. Imazalil concentration for *in vitro* monitoring of imazalil resistant isolates of *Penicillium digitatum* in citrus packinghouses. Postharvest Biology and Technology. 6: 258-262.
- [6] Parra, M.A., Martínez, J.A. 2016. Phenotypic variability and pathogenicity of different isolates of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* obtained from lemon fruits (*Citrus limon* (L.) Burm.) En: Proceedings of the 5th Workshop on Agri-Food research WiA-16. Editores: F. Artés-Hernández, J.A. Fernández-Hernández, J. Calatrava, E. Aguayo, J.J. Alarcón, J.E. Cos. Editorial: CRAI Biblioteca, Universidad Politécnica de Cartagena, Murcia, España. ISBN: 978-84-16325-29-0. 130-133. 223 pp. <http://hdl.handle.net/10317/5558>.

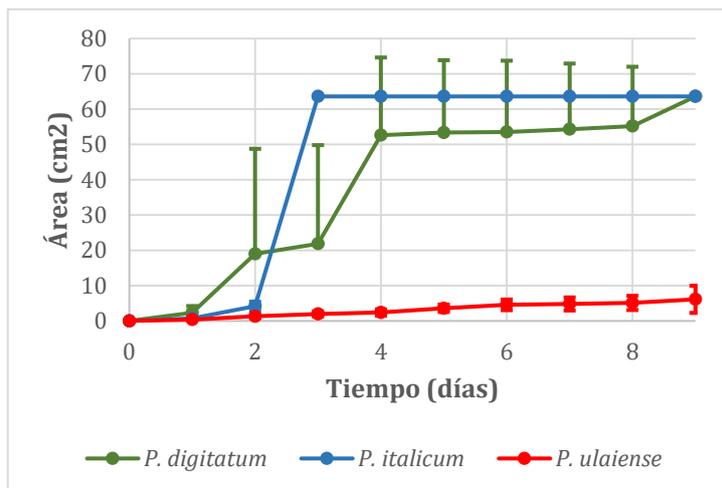


Figura 1. Curvas de cinética de crecimiento y dispersión de conidios de *Penicillium digitatum*, *P. italicum* y *P. ulaiense*, creciendo en PDA a 26°C.

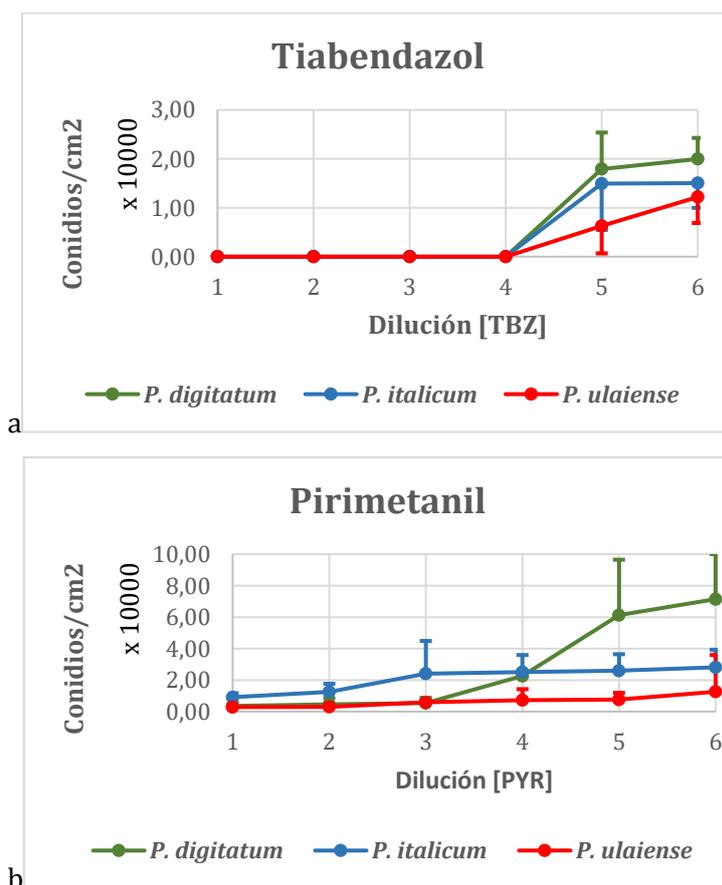


Figura 2. Efecto de los fungicidas tiabendazol (a) y pirimetanil (b) sobre la conidiogénesis de los diferentes aislados de *Penicillium* en diluciones decimales sucesivas de la materia activa, creciendo en PDA a 26°C.