

Marchitez descendente en cultivos de gulupa: Aislamiento y caracterización del agente causal

Laura María Muñoz Echeverri

TecnoParque nodo Rionegro, Immunoze@gmail.com

Laura Cristina Rojas Bedoya

TecnoParque nodo Rionegro, laurarojasb22@gmail.com

Resumen

Los cambios en los ciclos del agua que se han venido presentando en el Oriente Antioqueño, han traído consigo de diversas enfermedades a los cultivos de gulupa, entre ellas la marchitez descendente poco conocida en la región. Con el fin de dar un pronto diagnóstico y consecuentemente tomar medidas correctivas respecto a esta enfermedad, se realizó un aislamiento microbiano desde tejidos vegetales enfermos. Mediante claves taxonómicas, morfología de colonia y síntomas de la enfermedad, en el 96% de las submuestras se encontró que el agente causal más probable es el hongo *Fusarium oxysporum*. Así, la marchitez descendente podría estar relacionada o corresponder a la marchitez vascular o fusariosis reportada para los cultivos de gulupa

Palabras clave: aislamiento, identificación, fitopatógeno, gulupa, marchitez descendente.

1 Introducción

Actualmente, la gulupa se encuentra dentro de las frutas más apetecidas en el exterior, y ocupa el segundo lugar de las más vendidas en Colombia, después del banano. En el 2014 se exportaban hacia Europa, Asia y América aproximadamente 3.000 toneladas anuales de gulupa, frente a 523 toneladas en el 2007, presentando un crecimiento en ventas externas del 417% (Delgado; 2014).

Por otro lado, uno de los principales retos que afronta la agroindustria de la gulupa y de los cuales depende su competitividad y ventas a nivel internacional, es el manejo integral de enfermedades. De manera particular, en los municipios de Marinilla y El Peñol del Oriente Antioqueño, los cambios climáticos han



traído consigo enfermedades poco frecuentes en la zona como la marchitez descendente, cuya incidencia se comenzó a acentuar a principios del presente año, y de acuerdo a los productores, ha venido arrasando con los cultivos.

Dado el impacto que ha tenido la marchitez descendente sobre los cultivos de gulupa en Marinilla y El Peñol, el desconocimiento sobre su agente causal y las posibles medidas de intervención. En colaboración con la asociación Agrofenix, instructores del SENA-CIAA y haciendo uso de las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología del TecnoParque nodo Rionegro, se realizó un estudio corto, con el objetivo de aislar e identificar taxonómicamente el agente fitopatogeno asociado a la enfermedad, dar un posible diagnóstico y algunas medidas de control.

2 Metodología

En mayo de 2016 se colectaron en tres fincas de la vereda Rosario municipio de Marinilla - Antioquia, muestras destructivas de plantas de gulupa con presencia de marchitez descendente. Cada muestra fue envuelta en papel estéril y se guardó en una bolsa de papel debidamente rotulada. En el laboratorio las muestras fueron conservadas a 4°C, hasta su procesamiento. La Tabla 1 presenta los datos de procedencia de cada muestra y el código asignado.

Tabla 1. Procedencia de las muestras y codificación.

Finca 1			
Árbol	Muestra	Parte de la planta	Código
1	1	Tallo con avance de la enfermedad	111T
	2	Tallo parte interna	112T
	3	Corteza interna del tallo	113C
2	1	Tallo interno con hongo	121T
	2	Tallo putrefacto	122T
	3	Tallo inferior aparentemente sano	123T
	4	Corteza de tallo	124C
Finca 2			
Árbol	Muestra	Parte de la planta	Código
1	1	Tallo	211T
	2	Raspado interno de tallo	212Z
Finca 3			
Árbol	Muestra	Parte de la planta	Código
1	1	Parte interna del tallo	311T
	1	Tallo	321T

2	2	Tallo	322T
	3	Corteza de tallo	323C
	4	Rebrote	324R
	5	Tallo	325T

Posteriormente, de cada muestra se cortaron trozos pequeños de tejido afectado, para un total de 45 submuestras. Se limpiaron, sembraron en Agar Papa Dextrosa (PDA) y se dejaron en incubación por siete días. Cada morfotipo resultante, fue resembrado por separado en PDA. Finalmente, se realizaron observaciones al microscopio usando los objetivos de 40X y 100X y azul de lactofenol como colorante de contraste

3 Resultados y discusión

3.1. Sintomatología de las plantas enfermas y asociación con enfermedades reportadas

En todas las plantas muestreadas, se observó clorosis y/o marchitez en las hojas, y enrojecimiento de las ramas y tallo. En los tallos se observó necrosis de haces vasculares y presencia de micelio en la parte interna de uno de ellos (Figura 1). En ninguna de las fincas visitadas se observaron patrones específicos respecto a la distribución de la enfermedad, los árboles enfermos se encontraban localizados de manera aleatoria.

De acuerdo a lo reportado en la literatura, la sintomatología previamente descrita es similar a la que se presenta por marchitez vascular o fusariosis, una enfermedad causada por el hongo *Fusarium oxysporum*, la cual según Angulo *et al.* (2007) afecta a la planta de arriba hacia abajo. El primer síntoma se presenta en las hojas superiores con clorosis, sobreviene marchitez gradual, caída de las hojas y arrugamiento de los frutos (Angulo *et al.* 2007; ICA, 2011). Eventualmente se presenta un enrojecimiento unilateral del tallo o ramas principales y, en estados avanzados, decoloración vascular y necrosis en las raíces, decoloración de haces vasculares en tallos y cuello, y necrosis diseminada hasta la medula, de la cual puede surgir micelio (Ortiz, 2012). Por lo general *F. oxysporum* sobrevive en el suelo y penetra por las raíces jóvenes debido a las heridas que causan los insectos, nematodos y las herramientas durante las podas, una vez en la planta, el hongo infecta los haces vasculares causando su taponamiento. Cuando se completa el ciclo de la enfermedad, *Fusarium* forma sus esporas sobre el tejido muerto. Las esporas pueden dispersarse distancias cortas a través de las aguas superficiales y las herramientas contaminadas; y mediante plántulas con suelo infectado hacia distancias mayores (ICA, 2011).



Figura 1. Sintomatología de plántulas de gulupa con marchitez descendente. **A.** Cloración y marchitez en hojas. **B.** Herida por ahorcamiento, tallo con enfermedad avanzada. **C.** Enrojecimiento y podredumbre del tallo de arriba hacia abajo. **D.** Necrosis de haces vasculares. **E.** Micelio de Hongo en tallo.

Otra enfermedad con síntomas ligeramente similares es la “secadera” o pudrición café del tallo, causada por el fitopatógeno *Fusarium solani*. ICA (2011) la cataloga como una enfermedad de gran importancia en el cultivo de las pasifloras, debido a que conlleva a la muerte prematura de las plantas. De acuerdo al Instituto Colombiano Agropecuario (ICA, 2011), entre los síntomas se encuentran la presencia de clorosis y marchitez severa en la parte aérea, además se reconoce por la presencia de manchas cafés en la base del tallo, quienes presentan ruptura y pudrición que avanza hacia el interior del tejido. En el cuello de la planta se desarrollan cuerpos esféricos de color rojo intenso.

3.2. Hongos fitopatógenos aislados e identificación taxonómica.

El 96% de las submuestras sembradas en PDA, derivó un morfotipo predominante característico de hongo, cuya colonia presentaba un color violeta pálido en el centro con variaciones hacia blanco en la parte superior (micelio aéreo), y predominantemente morada, con variaciones hacia rosado, en la parte inferior. El micelio presentó una consistencia algodonosa y abundante (Figura 2).

El 4% restante correspondió a dos morfotipos diferentes, el primero de colonia blanca, micelio algodonoso poco abundante presente en un trozo de la muestra 324R (rebrote). El segundo morfotipo se observó en dos trozos de la muestra 212Z, la colonia presentaba características del morfotipo más abundante, asociado a crecimiento amarillo con consistencia dura en la parte inferior. En algunas de las submuestras, junto al morfotipo predominante, crecieron otros morfotipos de hongos, posiblemente patógenos oportunistas o contaminantes ambientales procedentes de las muestras vegetales.

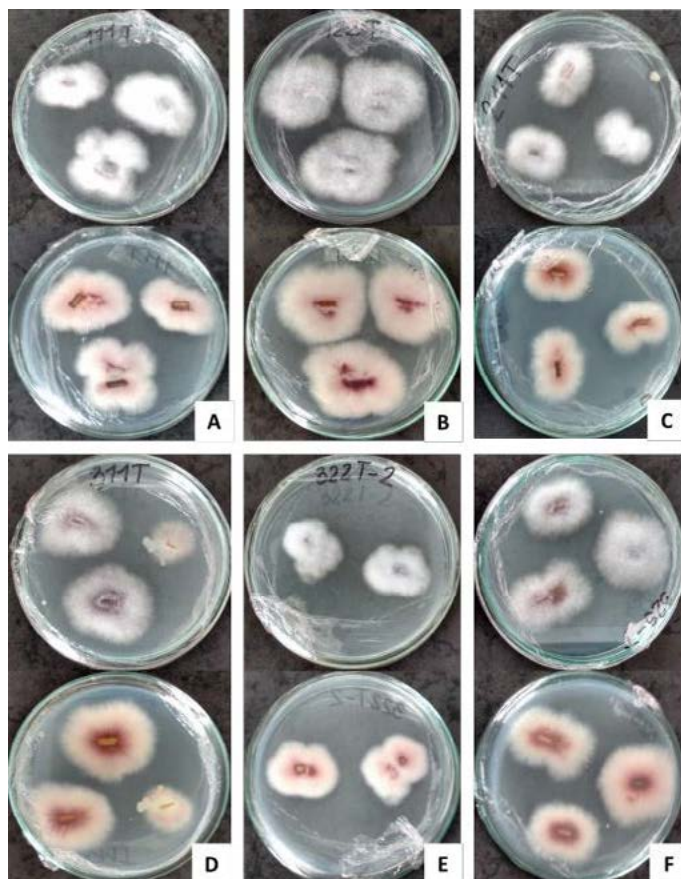


Figura 2. Colonias de hongos derivadas desde muestras y submuestras de tejidos vegetales. A. muestra 111T. B. muestra 122T. C. muestra 211T. D. muestra 311T. E. muestra 322T. F. muestra 325T.

A nivel microscópico, en todas las muestras procedentes de las colonias predominantes, se observaron microconidias con formas elipsoidales y ovoides, en su mayoría sin septos. Hifas septadas y monofiliades con longitudes variables entre $2\mu\text{m}$ y $26\mu\text{m}$. Solo en la muestra 122T se observaron macroconidias ligeramente curvadas en los extremos, tres septos y con tamaños que variaban entre $22.5\mu\text{m}$ - $41.4\mu\text{m}$ de longitud y $2.7\mu\text{m}$ - $4.7\mu\text{m}$ de ancho. En la muestra 121T se presentó una clamidospora intercalar e individual (Figura 3).

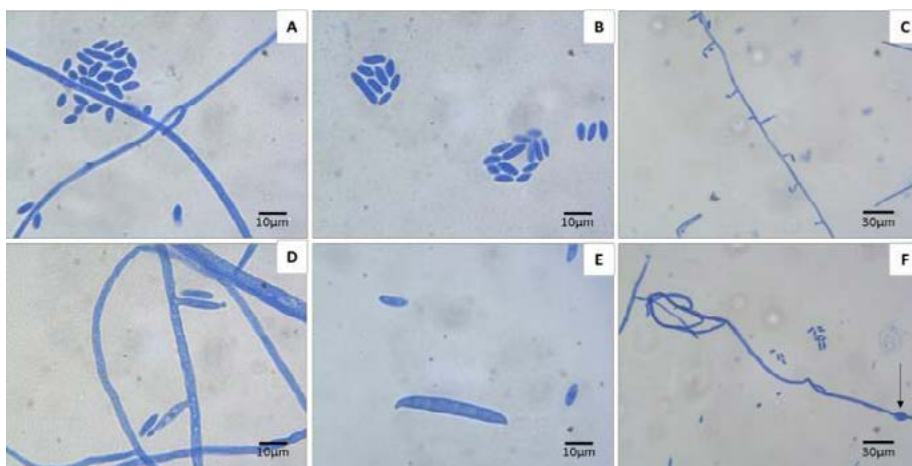


Figura 3. Estructuras microscópicas encontradas en aislamientos obtenidos desde tejidos de gulupa enfermos. **A.** Microconidias, hifas y monofiliades en muestra 323T. **B.** Microconidias en muestra 211T. **C.** Monofiliades en muestra 212Z. **D.** Monofiliades, hifas y microconidias en muestra 311T. **E.** Macroconidia y microconidias en muestra 122T. **F.** Estructura compatible con clamidospora en muestra 121T.

Las estructuras microscópicas encontradas en la mayoría de los aislamientos se asemejan a las reportadas por Ortiz (2012) y Leslie y Summerell (2006), que a su vez se asocian al género *Fusarium sp.* De manera particular y de acuerdo a estos autores, *Fusarium oxysporum* se caracterizan por presentar macroconidias delgadas y ligeramente curvadas en los extremos, célula basal en forma de pie, célula apical en forma de gancho y tres septos; clamidosporas intercalares o terminales con arreglo individual o en pares, microconidias sin septo y monofiliades cortas. *Fusarium solani*, presenta macroconidias robustas y ligeramente rectas, célula basal con forma de pie romo y apical redondeada, de cinco a siete septos; clamidosporas intercalares o terminales, solas, en pares o encadenas cortas; microconidias con cero, uno o dos septos.

Respecto a la morfología de las colonias, Leslie y Summerell (2006) y Burgess *et al.* (2008) afirman que en PDA *Fusarium oxysporum* presenta una amplia variedad de colonias; generalmente el micelio puede ser flocoso, abundante o escaso, y con rango de colores que varían desde blanco a violeta. Esclerocio café, azul, negro o violeta. Usualmente produce un pigmento violeta pálido u oscuro, o fucsia oscuro sobre el agar. *Fusarium solani* presentan colonias con micelio escaso cuyo color varía de blanco a crema. A menudo produce esporodoquios en abundancia de color crema, azul o verde. Muchos aislamientos no producen pigmentos en el agar, no obstante, en algunos se presentan coloraciones violetas o cafés.

3.3. Diagnóstico de la enfermedad y recomendaciones sobre manejo

Teniendo en cuenta las características de los morfotipos aislados (colonias de hongos con pigmentación violeta en el agar con variaciones hacia rosado, centro violeta, micelio blanco, algodonoso y abundante), los hallazgos a nivel microscópico (hongos con microconidias sin septos, macroconidias con 3 septos y delgadas, clamidosporas intercalares y filiades no muy largas) y los reportes científicos, se considera que los aislamientos fúngicos obtenidos desde las plantas enfermas de gulupa, corresponden probablemente al hongo *Fusarium oxysporum*. En este sentido, la enfermedad que posiblemente se está presentando en los cultivos de gulupa visitados corresponde a marchitez vascular o fusariosis.

Para el tratamiento de la marchitez o fusariosis, diversos autores recomiendan

Manejo preventivo (ICA, 2011):

Conocer la historia del terreno, los cultivos que se han sembrado y su estado fitosanitario.

Adquirir plántulas en viveros certificados ante el ICA, esto para garantizar su calidad sanitaria, así como la del suelo donde vienen sembradas.

Rotar los cultivos con especies distintas a pasiflora



En presencia de la enfermedad (ICA, 2011; Agrios, 2011):

Monitorear la enfermedad permanentemente, esto para detectar las plantas enfermas de manera temprana.

Eradicar las plantas enfermas, cuidando de no diseminar la infección durante el procedimiento. Estas plantas deben ser destruidas mediante quema.

Marcar y delimitar los focos donde se han erradicado plantas enfermas, de esta manera se evita la circulación de los trabajadores.

Desinfectar el suelo de los focos y dejar el sitio libre de vegetación.

Incorporar al suelo agentes biocontroladores como *Trichoderma* y *Clonostachys*. Esto se recomienda incluso antes de presentarse la enfermedad. Debe hacerse bajo la recomendación de un ingeniero agrónomo.

MIP (2008) recomienda:

Inocular en el suelo hongos antagonistas como *Trichoderma sp* y *Burkholderia cepacea*, asegurar una humedad adecuada, alrededor y en el pie del tallo de cada planta.

Realizar podas sanitarias, de formación y mantenimiento, que permitan eliminar las partes de la planta que se encuentren afectadas.

Al momento de la poda se debe hacer desinfección de la tijera, planta a planta, además de la posterior cicatrización y desinfección de los cortes.

De acuerdo a Escobar *et al.* (2006), una solución al problema de marchitez por *Fusarium* es la obtención mediante ingeniería genética de una especie de gulupa, resistente al fitopatógeno. Según los autores esto ya se encuentra en investigación para el maracuyá.

4 Conclusiones y recomendaciones finales

Con base en la sintomatología de las plantas, las características macro y microscópicas encontradas en los aislamientos fúngicos y lo que se reporta en la literatura, este estudio sugiere que el principal agente causal de la marchitez descendente en las plántulas de gulupa es el hongo *Fusarium oxysporum*.

Siendo posiblemente *Fusarium oxysporum* el hongo más frecuente, apareciendo en el 96% de las submuestras vegetales sembradas en PDA, se considera que la marchitez descendente puede corresponder a la marchitez vascular o fusariosis reportada en la literatura.

Aunque en el presente informe se entregan algunas recomendaciones sobre la marchitez vascular o fusariosis, se considera necesaria la asesoría de un ingeniero agrónomo o experto en manejo de plagas y enfermedades, sobre cómo proceder respecto a la marchitez vascular o fusariosis en los cultivos de gulupa.

Se recomienda, además, realizar un análisis exhaustivo, haciendo un reconocimiento más completo de los síntomas y tomando muestras de otras partes de las plantas incluidas hojas, frutos, raíces y ramas. Así mismo, complementar el estudio microbiológico con identificación molecular de él o los fitopatógenos hallados y realizar una caracterización patogénica. De esta manera se podría asegurar con un 99% de confianza la identidad de los organismos (macro o microscópicos) causales de la marchitez descendente.

Agradecimientos

Al instructor Jaime Alberto López Mejía del área agropecuaria y agroindustria (SENA-CIAA), por su asistencia y asesoría durante la toma de las muestras. Al instructor Giovani Mora del programa Sena Emprende Rural SER (SENA-CIAA), por su apoyo constante y asesoría. A la profesora Liliana Hoyos de la Universidad Nacional de Colombia por su colaboración en la identificación del hongo. A la Asociación Agrofenix y en especial a la gerente comercial Luz Dary Giraldo, por su acompañamiento y apoyo durante la realización de este breve estudio.



Referencias

- Agrios, G.N. (2001): Fitopatología. UTEHA-Noriega., México. Angulo, C.R., Cooman, A., Gómez, D. Fuentes, L.S., Niño, N.
- Espinoza, L., Cuellas, J., Medina, A., Escolbar, H. (2006). Lulo: el cultivo. Fundación Universitaria de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Bogota, pp 39.
- Burgess, L. W., Knight, T. E., Tesoriero, L., Phan, H.T. (2008). Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam. Australian Centre for International Agricultural Research. Camberra.
- Delgado, G.P. (2014). Exportaciones de fruta Gulupa crecieron 5 veces en los últimos seis años. La Republica. http://www.larepublica.co/economia/exportaciones-de-fruta-gulupa-crecieron-5-veces-en-los-%C3%BAltimos-seis-a%C3%B1os_106811. (consultado el 09/03/2016)
- Escobar, T.W. Cabrera, C.A. (2006). Manual técnico del cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis* L) en el departamento del Huila. Litocentral. Neiva.
- ICA (2011). Instituto Colombiano Agropecuario. Manejo de problemas fitosanitarios del cultivo de gulupa (*Passiflora edulis* Sims), medidas para la temporada invernal. Produmedios. Bogotá.
- Leslie, J. F y B. A. Summerell. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing Professional. USA. 388p.
- MIP. (2010). Manejo integral de plagas (MIP) Gulupa. http://idbdocs.iadb.org/wsdocs/getdocument.aspx?docnum=35_536898. (Consultado el 31/05/2016)
- Ortiz, E. (2012). Etiología de enfermedades asociadas a fusariosis en el cultivo de gulupa (*Passiflora edulis* Sims) en la región de Sumapaz. [Tesis de maestría]. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.