

PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN: CARACTERIZACIÓN DEL HONGO FITOPATÓGENO FUSARIUM OXYSPORUM CAUSANTE DEL MARCHITAMIENTO VASCULAR EN CULTIVOS DE GULUPA (*PASSIFLORA EDULIS SIMS*) Y SU CONTROL CON EL HONGO ANTAGONISTA *TRICHODERMA SPP*

Susana Daza Gutiérrez¹, Melanny Vanesa Foronda Vallejo¹, Ana Sofía Jiménez Molina¹, Won Jeen Sanga Jiménez¹.

¹ Aprendiz Tecnoacademia, Biotecnología, Tecnoacademia, Centro, Medellín

Resumen

La Gulupa (*Passiflora edulis Sims.*) es la tercera fruta de exportación en Colombia, en Antioquia hay un 37 % de producción de Gulupa. Por riesgos Fitosanitarios, como el clima y por las enfermedades que la atacan (de 25 a 30 enfermedades clasificadas en bacterias, virus, hongos e insectos-gusanos) se pierden alrededor del 60 a 80 % de la producción (Restrepo et al. 2011). Además, se incumplen con algunas “normas” o “condiciones” de cultivos, disminuyendo la distancia entre fruto, para poder producir el doble de cantidad. Para dar solución a este problema se llevó a cabo un control biológico de la enfermedad (Rives, et al. 2009), en el cual según la literatura, se identificó que el *Trichoderma spp*; sería el hongo potencial antagonico, sobre el hongo fitopatogeno *Fusarium oxysporum*; mediante un enfrentamiento directo dual In vitro, al comprobar lo anterior, se propone elaborar un bioformulado a base de este hongo, para implementar en campo, y controlar la incidencia del hongo fitopatogeno en los cultivos de Gulupa y posiblemente en otros cultivos que presenten dicha sintomatología.

Palabras Clave: control antagonista, cultivos de Gulupa, hongo antagonista *Trichoderma spp*, hongo fitopatogeno *Fusarium oxysporum*, marchitamiento vascular, riesgos fitosanitarios.

Introducción

La Gulupa (*Passiflora edulis Sims.*) es una fruta originaria de Brasil (Figura 1) que ocupa el tercer lugar en exportaciones de Colombia, convirtiéndola en el mayor exportador a nivel mundial de Gulupa. Cuenta con 800 hectáreas, de las cuales 50 toneladas se producen anualmente en el departamento de Antioquia generando más de 310 empleos. Sin embargo, en los últimos años se ha visto afectada por riesgos fitosanitarios y la incidencia de enfermedades

como marchitamiento vascular, ocasionada por el hongo *Fusarium oxysporum* (Figura 2), generando una pérdida anual del 60 al 80 %.

Teniendo en cuenta estas características, es necesario realizar investigaciones enfocadas en el control de las enfermedades que atacan el cultivo, dado que estos problemas fitosanitarios han generado disminución en las ganancias de los productores, así como las posibilidades de abrir nuevos mercados, llevando a que los agricultores incumplan “normas” o “condiciones” para poder producir la cantidad necesaria en menos tiempo y no perder la inversión realizada. Teniendo en cuenta que el país tiene amplias zonas para este cultivo, se han venido aplicando prácticas tradicionales adaptadas a esta especie, algunas con éxito, pero se ve enfrentada a diferentes limitaciones, una de ellas las condiciones que genera la ola invernal. (Restrepo et al. 2011)). Dado esto se pretende con esta investigación, la implementación del control biológico como una alternativa, buscando la reducción de los agentes contaminantes como los agroquímicos (utilizados de forma indiscriminada), evitando que los cultivos se dañen a largo plazo y las plagas se vuelvan inmunes a los químicos usados, cuidando a su vez los suelos y las fuentes hídricas.

En este orden de ideas, se viene investigando el potencial antagonico del hongo *Trichoderma spp*, a partir de un enfrentamiento directo entre este y el de fitopatogeno *Fusarium oxysporum*, que permita a mediano y largo plazo la obtención de un bioformulado para controlar una de las principales enfermedades de la Gulupa (marchitamiento vascular), buscando obtener beneficios sobre el cultivo, como el incremento en la producción, las oportunidades de trabajo, el aumento de la demanda y el cuidado del ambiente.



Figura 1. Gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) finca los naranjos, Sonsón



Figura 2. Sintomatología de marchitamiento vascular en cultivos de Gulupa, finca los naranjos, Sonsón.

Metodología

La metodología de investigación del proyecto tiene como base un enfoque Empírico - Analítico con el cual se ha buscado controlar las diferentes variables a la hora de determinar el potencial antagonístico de *Trichoderma spp.*, en los cultivos de Gulupa frente al *Fusarium oxysporum*.

Se plantea la investigación de los factores a trabajar

(La Gulupa) y el agente patógeno (*Fusarium oxysporum*), luego investigar de qué forma se podría controlar o evitar la incidencia de ese hongo patógeno, hallando una técnica amigable con el medio ambiente denominada control biológico, que de ella desencadena varios procesos de inspección de enfermedades como el control biológico a base de hongos antagonistas, en el cual se basa este proyecto para resolver la pregunta planteada en el proceso de esta investigación, en el cual como fase final se debe hacer el enfrentamiento directo dual In vitro, entre los dos hongos; *Fusarium oxysporum*., (patógeno) y *Trichoderma spp.*, (antagonista).

Se han tenido en cuenta los medios de recolección de datos y para esto se ha construido una metodología en base a cada uno de los objetivos específicos y las actividades que desencadenan, para la construcción de una respuesta a la pregunta de investigación.



Figura 3. Ruta metodológica

Para el desarrollo de la metodología se identificó y estableció la zona de estudio en Sonsón, Finca los Naranjos; 8 días antes de ir a la zona de estudio, se prepararon los medios de cultivos, para estos se utilizaron 39 g de papa dextrosa agar, (PDA 39 g/L) en todos los casos, las cajas petri sembradas se incubaron durante 7 días a 24° C y estuvieron expuestas a un fotoperiodo de 12 horas luz, 12 horas oscuridad.

Toma de muestras

Para la toma de muestras, se identificó la sintomatología de marchitamiento vascular

ocasionada por *Fusarium Oxysporum* en el cultivo, para tomarlas se seleccionaron trozos del tejido vegetal y parte basal del tallo; se distribuyeron en raíz (5 muestras), tallo (5 muestras) y hojas (5 muestras) que fueron depositadas en una bolsa de polietileno debidamente rotuladas y se enviaron al laboratorio de Tecnoacademia. Cada muestra se cortó en pequeños trozos, los cuales fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 1.5 % durante 1 minuto y 30 segundos, también se lavaron con agua destilada y se transfirieron asépticamente a una cámara húmeda donde se cultivaron en el medio PDA (Figura 4).

Para la toma de muestra del hongo antagonista *Trichoderma* spp. se seleccionaron los mismos lugares de las plantas con sintomatología en forma de zig-zag cerca de las raíces de las plantas a una profundidad de 20 cm, se tomó un total de 30 g por muestra que fueron depositadas en una bolsa de polietileno debidamente rotuladas y se enviaron al laboratorio de Tecnoacademia. Se realizó una dilución del suelo de 10-5 en agua destilada, y cada muestra fue transferida a una cámara húmeda donde se cultivaron en el medio PDA (Figura 5).



Figura 5. Procedimiento de dilución de las muestras de suelo en cultivos de Gulupa; Tecnoacademia.

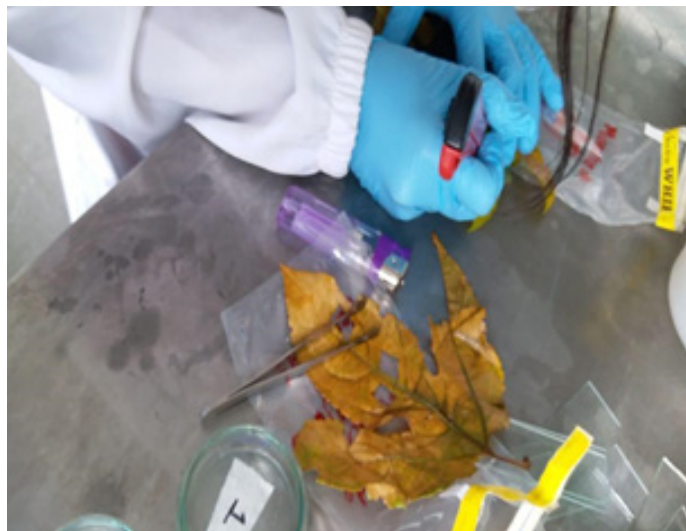


Figura 4. Procedimiento de selección y desinfección de las muestras con sintomatología de Gulupa; Tecnoacademia.

1) *Análisis macroscópico y microscópico:* Para ambos hongos se hicieron análisis macroscópicos y microscópicos después de 8 días de crecimiento, tomando muestras de los crecimientos a base de la morfología del hongo de interés, identificando posteriormente micelio de color violeta a púrpura (Figura 6. [a]) con macroconidios, clamidosporas esféricas y microconidios producidos en filídes cortas y ramificadas; en el caso del hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* (Figura 6 [b]), se realizó el mismo procedimiento para el hongo antagonista *Trichoderma* spp. en donde se identificaron colonias aterciopeladas de color blanco verdoso que se tornaban verde oliva con el tiempo, pero posteriormente fueron descartadas, ya que no presentaron las características microscópicas propias del hongo de interés (Figura 7).

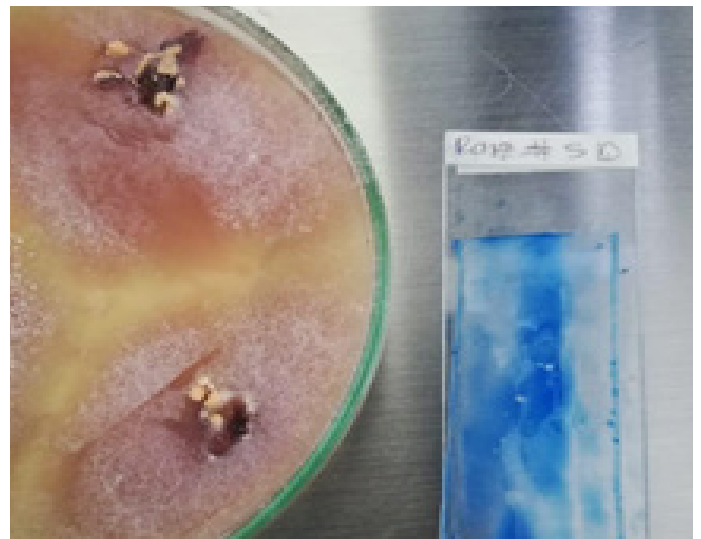


Figura 6 (a). Medio de cultivo con crecimiento del hongo *Fusarium oxysporum*; Tecnoacademia.



Figura 6 (b). Estructura del hongo *Fusarium oxysporum* vista con ayuda del microscopio; Tecnoacademia.



Figura 7. Medio de cultivo con posible crecimiento del hongo *Trichoderma spp.* Tecnoacademia.

2) **Purificación:** una vez identificado el hongo fitopatógeno se procedió con el primer aislamiento, en el cual se tomó una muestra de la parte identificada y se sembró en otro medio de cultivo; así mismo se hizo con el segundo aislamiento, ya que había crecido con contaminación en el primer momento (Figura 8), obteniendo así en el segundo aislamiento el hongo de interés aislado y purificado.

En el caso del hongo antagonista, al descartar las

muestras obtenidas se buscó por otro medio, consiguiendo una colaboración con el Colegio Mayor de Antioquia, que nos donó la cepa de *Trichoderma spp.* ya que tenían conocimiento del proceso (Figura 9).

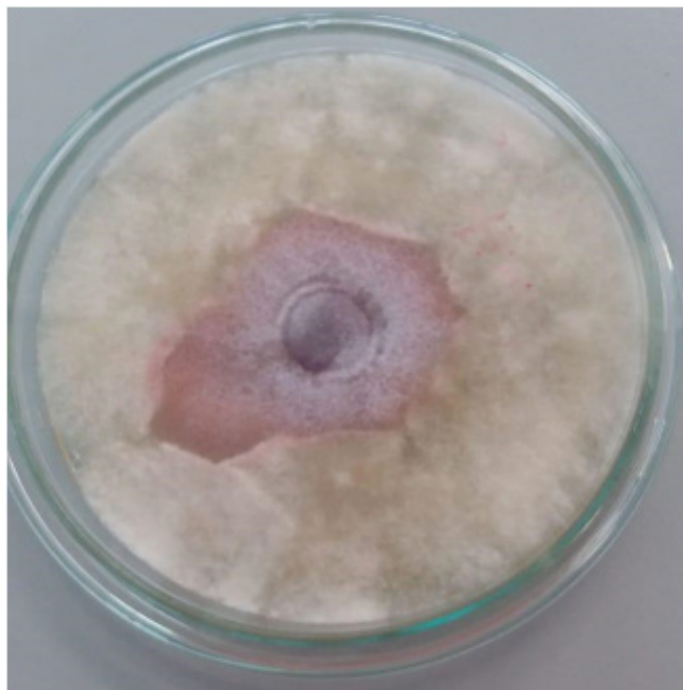


Figura 8. Contaminación del primer aislamiento del hongo *Fusarium oxysporum*. Tecnoacademia.

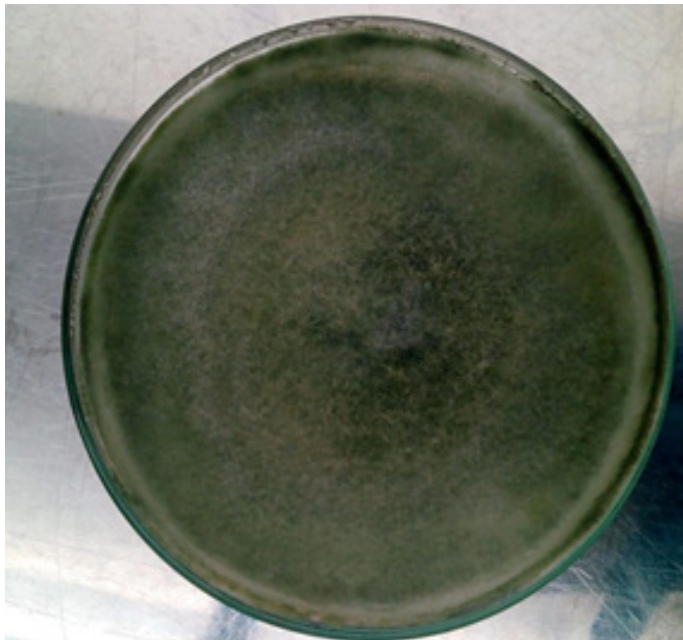


Figura 9. Cepa del hongo antagonista *Trichoderma spp.*, donada por el Colegio Mayor de Antioquia.

Resultados

En la zona de estudio se identificó fácilmente la presencia del *Fusarium oxysporum* debido a la visible sintomatología de marchitamiento vascular en las plantas de Gulupa (*Passiflora edulis Sims*), de las

cuales se aisló e identificó correctamente el hongo fitopatígeno de interés, para el cual se tomaron 5 muestras de cada estructura de la planta (raíz, tallo y hojas) siendo 15 el total y al duplicado 30; fueron cultivadas en medios de cultivo PDA y en un intervalo de 8 días se presencié el crecimiento de tres tipos de Fusarium, por ende se procedió a aislar 5 muestras del hongo de interés *Fusarium oxysporum*.

Después de hacer un análisis de las muestras en cultivos PDA de suelo (tomadas en el mismo sitio del cultivo que presentaba la sintomatología) no se logró identificar las estructuras propias del hongo antagonista *Trichoderma spp.* del mismo suelo en el que se encontraba el cultivo de Gulupa. No fue exitoso debido a la cantidad de organismos pertenecientes al terreno que se incubó en las muestras.

Conclusiones

Como resultado del progreso experimental, pudimos identificar varios cultivos viables del Hongo *Fusarium Oxysporum*, acorde a la descripción morfológica

de este. Se purificaron las muestras debido a los crecimientos extras de organismos y se adecuaron cinco muestras para el enfrentamiento. Después de recogerlas y cultivarlas, no se presentó ningún crecimiento del microorganismo *Trichoderma*, ya que crecieron muchos otros microorganismos pertenecientes del terreno. Posteriormente se descartaron las muestras y el Colegio Mayor, donó una cepa de *trichoderma* aislada y purificada con el fin de continuar con lapropuestas de nuestra ruta metodológica.

Referencias

- Rives, N., Acebo, Y., Almaguer, M., García, J.C. y Hernández, A. (2009). "Actividad antagonica frente a *pyricularia* grisea (sacc.) y fitoestimulación en el cultivo del arroz de cepas autóctonas de *Pseudomonas putida* (Trev.)" extraído de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000200006
- Restrepo, J., Sánchez, R., Gallego, J., Del Carmen, T., Soto, C., Nieto, F., Leiva, L. (2011). "Manejo de problemas fitosanitarios del cultivo de la Gulupa (*Passiflora edulis* Sims.)" extraído de https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/2262/44992_60739.pdf?sequence=1&isAllowed=y