

DETERMINAR LA CAPACIDAD DE AFECTACION DE *Alternaria sp.* AISLADA DE TOMATE DE COCINA, ESTABLECIENDO SU EFECTO DE ANTRACNOSIS EN FRUTOS DE MANDARINA (*Citrus nobilis*)

Osorio Noriega, Monica Yisela. Código: 12331034¹; Torres, Karen. Código: 12332010²;
Carantón Ruiz, Cesar. Código: 10331007³; Ramírez, Vianys. Código: 11331016⁴;
Acevedo, Carlos M.Sc⁵

Correspondencia: valumohajj@gmail.com¹; Lorena14tm@hotmail.com²; cesareduardoca@hotmail.com³;
V.ian.ys@hotmail.com⁴

1, 2, 3, 4 estudiantes de 5 semestre de Microbiología Industrial. 5 Profesor Curso de Ecología Microbiana

RESUMEN

Alternaria sp. Es un género fúngico donde se incluyen numerosas especies saprofitas, endofíticas y patógenas ampliamente distribuidas en el suelo y la materia orgánica en descomposición; las condiciones óptimas para que se dé su crecimiento, este fitopatógeno debe necesitar un ambiente en donde la humedad y luminosidad sean las necesarios para su desarrollo. Actualmente en los cultivos se ha provocado una disminución importante de rendimientos en la producción atribuida a este hongo provocando grandes pérdidas económicas y un impacto ambiental al utilizar plaguicidas para el control de plagas; por ello este estudio se basó en un análisis experimental en el cual el objetivo era determinar la capacidad de afectación que presenta *Alternaria sp* en frutos de mandarina(*Citrus nobilis*) aislado principalmente del tomate de cocina(*Solanum lycopersicum*) y cultivado en agar rosa de bengala y PDA para brindarle las condiciones óptimas para facilitar su metabolismo, realizado en condiciones de laboratorio. Al concluir este estudio se determinó la capacidad que tiene *Alternaria sp* en plantas de mandarina.

Palabras clave: *Alternaria sp*, Antracnosis, mandarina, tomate.

INTRODUCCION

Se han encontrado fitopatógenos que se caracterizan por infectar diferentes cultivos siendo el de tomate y la mandarina los más importantes en este estudio.

El tomate de mesa *Solanum lycopersicum* es la hortaliza que ha presentado mayor aumento en la producción ya que ha sido aceptada en la cultura gastronómica para consumo en fresco y su industrialización a nivel nacional e internacional. Para el periodo del año 2011 se sembraron por hectárea 4.734.356 y se obtuvo una producción de 159.023.383 toneladas, según la FAO, 2012, mientras que en Colombia en el 2010 se obtuvo una producción de 271.895 toneladas según Agronet, 2012.

El tomate es una solanácea de origen americano, está considerado como una hortaliza de uso diario, imprescindible y necesario, se dice que el centro de origen es la región Andina que hoy comparten Colombia, Chile, Ecuador y Bolivia.

Los cultivos de tomate han sido atacados por diversas enfermedades ya sean de tipo bacteriológicas, virosas o fúngicas, éstas últimas se han considerado una de las problemáticas más importantes en la producción porque genera grandes pérdidas en los cultivos y a nivel económico al buscar diferentes alternativas para el control de plagas y enfermedades.

La mandarina es un árbol frutal importante a nivel mundial, es cultivada y comercializada en lugares donde las condiciones del clima sean aptas para su

desarrollo. En Colombia se calcula que pueden existir entre 10 a 12 mil hectáreas de mandarina; siendo Santander el departamento con mayor área cultivada, se reportan especies tales como La Dancy, la Reina y la Criolla que son cultivadas en este departamento (Morales y López, 2007). Además de estas especies existen otras que son cultivadas en el occidente del país como la mandarina 'Oneco' y en las regiones productoras del oriente colombiano la mandarina 'Arrayana' en especial Cundinamarca, Boyacá y Meta.

Por otra parte este árbol cítrico cumple requerimientos que permiten su crecimiento, se desarrolla en climas subtropicales, ya que tienen poca resistencia al frío, requieren precipitaciones, cuando no se presentan es necesario realizar riego, son ávidos de luz especialmente en los procesos de floración y fructificación.

Se recomienda que el suelo sea profundo para garantizar el anclaje del árbol, una amplia exploración para garantizar una buena nutrición y un crecimiento adecuado y no toleran la salinidad de los suelos. Necesitan suelos permeables y poco calizos y un medio ambiente húmedo tanto en el suelo como en la atmósfera.

Una de las causas en las que se ha observado pérdidas en la producción de tomate y mandarina provocando una disminución importante en sus rendimientos ha sido atribuida principalmente al ataque por *Alternaria sp* en estos cultivos, presentando diferentes síntomas en las partes vegetativas de la planta como pueden ser lesiones de color café oscuro, podredumbre negra; este fitopatógeno se disemina por semillas contaminadas, restos de cosecha y dispersión de esporas por el viento y agua, disminuyendo notablemente la producción en el mercado.

METODOLOGIA

1. Se realizó una revisión bibliográfica de las especies en estudio para conocer todas sus características morfológicas.
2. La muestra de tomate y mandarina fueron conseguidas en la plaza de mercado ubicada en la plaza satélite. Se escogió las muestras de tomate que presentaban características de antracnosis.
3. Las muestras fueron almacenadas y transportadas en bolsas de papel
4. En el laboratorio se prepararon medios de cultivo de PDA y rosa de bengala
5. Se tomó muestra de la parte afectada del tomate con un bisturí estéril y se inoculó en agar rosa de bengala y se incubó a temperatura ambiente, se hizo una revisión cada 24h hasta obtener un crecimiento característico de *Alternaria sp*.
6. Se realizó descripción macroscópica y microscópica para confirmar el aislamiento de *Alternaria sp*. y posteriormente se inoculó en agar PDA.
7. A partir del procedimiento anterior se preparó una solución madre que contenía 90 mL de Agua peptonada y en la cepa se adicionó agua 10 mL y se realizó un proceso de raspado de la muestra, a partir de la solución madre se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-2} .
8. Se recolectaron cuatro muestras de mandarina a las que posteriormente se le realizó un proceso de desinfección con hipoclorito de sodio al 3%.
9. A partir de las diluciones se realizaron aspersiones en cuatro muestras de mandarina, se incubó a temperatura ambiente y se realizó una revisión periódica determinando así la capacidad de afectación que tiene *Alternaria sp* en el fruto.

RESULTADOS

Luego de haber realizado todo el procedimiento para determinar la afectación de *Alternaria sp*. observando su capacidad de antracnosis en frutos de

mandarina cada 24 horas por un periodo de 15 días se obtuvieron los siguientes resultados:

Aislamiento de la cepa de *Alternaria sp* a partir de frutos de tomate *Solanum lycopersicum* observando características macroscópicas y microscópicas en el agar PDA propias de la especie, observándose en la figura 1 y 2.



Figura 1. Aislamiento de *Alternaria sp* en agar PDA a partir de agar rosa bengala. Tomada en el laboratorio UDES.

Características macroscópicas:

Colonias de inicio blanco grisáceo, de aspecto plano, lanosas. Con tonalidades oscuras a grisáceo. El revés presenta pigmentos marrones.

Características microscópicas:

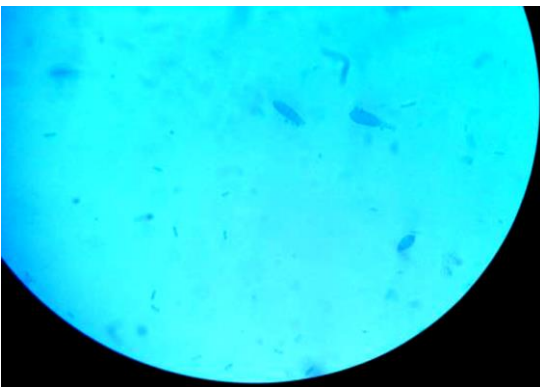


Figura 2. Hifas septadas dematiáceas. Conidióforos septados, de color cafés con el reactivo KOH y azules con el reactivo azul de lactofenol; Conidias cafés, con septos transversales. Tomada en el laboratorio UDES.

Luego de haber realizado los análisis microscópicos y macroscópicos para

confirmar el aislamiento de *Alternaria sp* se preparó una solución madre que contenía (90 mL de agua peptonada + 10 mL que fueron adicionados a la caja de agar para realizar un proceso de raspado del hongo) para facilitar las aspersiones en los frutos de mandarina y poder evaluar la capacidad de afectación.

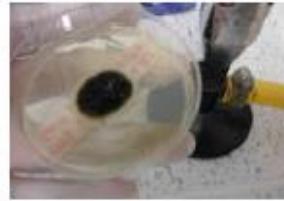


Figura 3. proceso de raspado del hongo

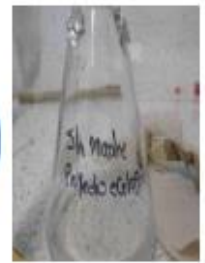


figura 4. solución madre



figura 5. diluciones

Revisión de las características macroscópicas en el fruto de mandarina luego de 6 días de haber realizado la aspersión, pasado este tiempo no se habían presentado lesiones características en el fruto, como se puede observar en la figura 6 y 7.

A partir del 8 día se empezaron a observar características en un fruto de mandarina donde se le había realizado una aspersión de la solución madre, pero este síntoma no indicaba la presencia de la especie en estudio, por tal motivo fue necesario dejar a más tiempo de incubación las muestras.



Figura 6 y 7 aspersión de la solución madre y 10^{-1} en los frutos de mandarina.



Figura 8. a. Aspersión con la solución madre
b. Aspersión con las dilución 10^{-1}



Figura 9. Muestra de mandarina iniciando antracnosis.
Tomada en el laboratorio UDES.

A partir del décimo día se empezó a observar una tonalidad oscura en la superficie de la mandarina que tenía previa aspersión con solución; color marrón oscuro alrededor de la lesión con aspecto blando en la zona central del fruto, se presenta un crecimiento micelial algodonoso. Por ser una zona blanda le permite introducirse rápidamente el fitopatógeno oportunista.

Posteriormente empezó a observarse lesiones de color café oscuro en casi toda la mandarina causándole daño al fruto, en donde se le realizó aspersión de la solución madre (Figura 10). De los 4 frutos con las distintas diluciones solo en una se desarrolló *Alternaria* sp.



Figura10. Mandarinas inoculadas con el fitopatógeno. a. Frutos afectados con mayor severidad desde el ombligo.
b. Mandarinas que en su apariencia cosmética están sanas.

Se realizó una caracterización microscópica de la lesión que presentó el fruto observándose características propias del hongo *Alternaria* sp como son macroconidias con septos.

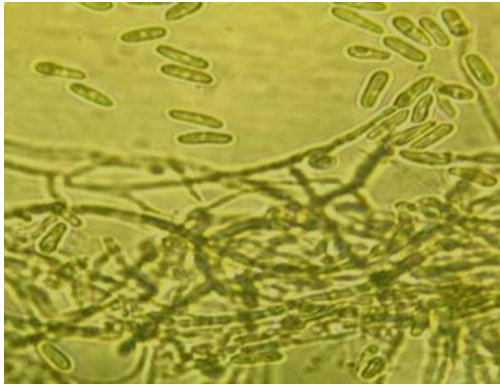


Figura 11. Estructuras de *Alternaria* sp recuperada de los frutos inoculados.

CONCLUSIONES

- La especie de *Alternaria* sp es un fitopatígeno importante causal de la necrosis en las partes vegetativas de plantas, causando grandes pérdidas económicas en la producción.
- Se aisló *Alternaria* sp del tomate al inocular en Agar Rosa de Bengala, observando que las características macroscópicas y microscópicas fueron aspectos importantes de esta especie.
- El hongo mostro las características propias de alternaria sobre el fruto de mandarina formando un color blanco. Grisáceo, con esporas e hifas septadas propias del filo ascomycota en donde se confirma que este fitopatígeno ataca cultivos de mandarina. (cítricos)
- Se observó que para permitir su crecimiento es fundamental someterlo a las temperaturas óptimas para que así el fitopatígeno se pueda desarrollar.
- Se logró determinar el potencial de infección de alternaria sp en frutos de mandarina sin embargo es importante tener en cuenta el ciclo biológico de esta especie para poder comprender en qué fase se da la afectación y así poder controlar este fitopatígeno.
- Alternaria tiene un crecimiento rápido sobre los frutos de mandarina generando un daño considerable en un corto tiempo por lo que produce daños económicos en los cultivos de mandarina

BIBLIOGRAFÍA

- Diaz, P. Cabrera, A. 2010. ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MEDICINAL PLANT EXTRACTS AGAINST PHYTOPATHOGENIC FUNGUS *Alternaria* SPP. Universidad de la república. Online
- Castellanos, L. 2012. Estimación espacial de la incidencia de *Alternaria solani* Sor. en tomate en tres municipios de Cienfuegos. CETAS. Universidad de Cienfuegos. Editorial Feijoo. Online
- Mahdavian, S. E. 2013 Occurrence and infection rate of the alternaria brown spot disease of the Minneola tangelo in the west part of Mazandaran province. Natural Resources and Agricultural Research Center of Mazandaran. Paper research. Online
- Herrera, L. 2004. El tizón de la inflorescencia del tomate causado por *Alternaria solani* Sor. bajo cultivo. Centro agrícola. Online
- Armego, J. 2003. Daños producidos por *Alternaria alternata* en mandarina fortune. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad politécnica de valencia. Online
- Acuña, L. 2006. Control de *Alternaria* en mandarinas. Citrusmisiones. Editorial E.E.A. Inta Montecarlo. Online
- Vicent, A. 2000. La necrosis de hojas y frutos de mandarino Fortune causada por *Alternaria*. Instituto agroforestal mediterráneo. Online
- Rodríguez, M. 2005. CONTROL BIOLÓGICO DEL TIZÓN TEMPRANO (ALTERNARIASOLANI SORAUER) EN EL CULTIVO DE LA PAPA (SOLANUMTUBEROSUM L.) EN CONDICIONES DE CAMPO. Instituto de investigaciones de sanidad vegetal. Online
- Morid, B. 2012. Study on pathogenic and genetic diversity of *Alternaria alternata* isolated from citrus hybrids of Iran, based on RAPD-PCR technique. Department of plan protection. European Journal of Experimental Biology. Online

- Camarena, J. 2012. Efecto de la actividad metabólica de cepas de hongos antagonistas sobre *Alternaria alternata* (fr.) Causante de la mancha parda en cítricos. Tesis. Online
- Fourie, P. The effect of runoff on spray deposition and control of *Alternaria* brown spot of mandarins. Citrus research international. University of Stellenbosch. Online
- Solei, Z. 1998. • Environmental Factors Affecting Production, Release, and Field Populations of Conidia of *Alternaria alternata*, the Cause of Brown Spot of Citrus. Fitopatología. Online
- Canihos, Y. 1999. Temperature, Leaf Wetness, and Isolate Effects on Infection of *Minneola* Tangelo Leaves by *Alternaria* sp. University of Curkurova. Online
- Moretti, A. 2009. *Alternaria* toxins and plant diseases: an overview of origin, occurrence and risks Logrieco. Institute of sciences of food production. Online
- Horisohi, O. 1995. *Alternaria* toxins and their effects on host plants. Centro de investigación de alimentos, Agricultura y Agroalimentación de Canadá. Online