

# **Aislamiento y Sensibilidad *in vitro* de *Fusarium* spp. asociado a la marchitez de maracuyá**

**<sup>1</sup>María Gabriela Delgado Macías, <sup>2</sup>Sergio Miguel Vélez Zambrano, <sup>2</sup>Galo Alexander Cedeño García, Alma Alexandra Mendoza García.**

<sup>2</sup> Carrera de Ingeniería Agrícola, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, Km 2.7 Vía Calceta-El Limón.  
Autor principal / Corresponding author, e-mail: miguelvelzam@gmail.com

## **Resumen**

El objetivo de esta investigación fue identificar los hongos asociados a la marchitez del maracuyá y establecer mediante pruebas de sensibilidad *in vitro* el efecto inhibitor de fungicidas sobre los hongos. Para la prueba de sensibilidad *in vitro* se estudiaron siete fungicidas (Iprodione, Carbendazim, Sulfato de cobre pentahidratado, Benomyl, Óxido cuproso, Carboxin – thiram, Tiabendazol y un tratamiento testigo (sin fungicida), cada uno mezclados en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA). Se utilizó un diseño completamente al azar DCA con réplicas desiguales, donde cada caja de Petri correspondió a una unidad experimental. Se evaluó la tasa de crecimiento micelial de *Fusarium* spp., colocando un disco de 4 mm de diámetro en cajas de Petri con medio de cultivo más fungicida, se midió diariamente el crecimiento en mm/día con la ayuda de un calibrador pie de rey, esta actividad se realizó hasta que el testigo alcanzó los bordes de la caja Petri. Los fungicidas que presentaron los mayores índices de inhibición micelial en ambas especies de *Fusarium* fueron Carboxim –thiram, Benomyl y Tiabendazol. De esta manera se concluye que se pudo establecer la eficacia de los fungicidas sobre los hongos relacionados con la marchitez del maracuyá en el Litoral Ecuatoriano.

## **INTRODUCCIÓN.**

El Ecuador es uno de los principales exportadores de maracuyá a nivel mundial, con una producción de 11832 TM y una superficie sembrada de 4286 ha (Sinagap, 2012), estos rendimientos pueden ser afectados o disminuidos por la presencia de enfermedades, principalmente la marchitez que puede ocasionar la muerte prematura de las plantas. Esta patología es causada por el hongo *Fusarium oxysporum* f.sp *passiflorae*. Rooney-Latham *et al.*, 2011.

La marchitez de maracuyá, también conocida como pudrición seca o fusariosis, provoca síntomas en las plantas como amarillamiento de las hojas, necrosis radicular, secamiento y defoliación llegando a un marchitamiento general y muerte de la planta. Espinoza y Mendoza (2001), Fernández y Suárez, (2009). La enfermedad afecta principalmente plantas adultas, en zonas donde existe un registro de la presencia del patógeno y las condiciones de humedad y temperatura son las adecuadas para iniciar la infección, el patógeno puede ingresar a los tejidos de la planta por medio de heridas en las raíces realizadas por insectos, nematodos o por daños mecánicos. (Ponte *et al.*, 1998; Iniap 2009).

El uso de fungicidas es una estrategia que se emplea comúnmente en el manejo de enfermedades de origen fúngico para reducir los efectos provocados por los fitopatógenos, de esta manera, se hace necesario conocer la efectividad de fungicidas mediante la realización de pruebas de sensibilidad *in vitro*, para poder ejecutar adecuadas estrategias de manejo integrado de las enfermedades, como la marchitez ocasionada por *Fusarium* spp. El presente trabajo tuvo como objetivo aislar e identificar hongos asociados a la marchitez de maracuyá y determinar la capacidad *in vitro* de fungicidas sobre su desarrollo.

## **Materiales y Métodos**

### **Aislamiento e identificación de patógenos.**

Las muestras de plantas con síntomas de la enfermedad fueron colectadas en las zonas del litoral ecuatoriano consideradas como las de mayor producción de maracuyá: Quinindé, Portoviejo, La Concordia y Quevedo, completando 50 muestras aleatorias, 10 por cada zona; una vez en el laboratorio, las muestras se colocaron en medio agar agua al 2%, siguiendo una modificación del método propuesto por Agrios, G. (1990), que consiste en sumergirlas durante un minuto en una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 % y lavarlas después con agua destilada estéril, las muestras se ubicaron sobre papel filtro esterilizado para eliminar la humedad y se procedió a realizar cortes pequeños que se colocaron, con la ayuda de una pinza quirúrgica, en cajas de Petri que contenían el medio de cultivo. Las colonias de los hongos aislados que se obtuvieron, fueron transferidas a cajas con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) al 2% para que se desarrollen y así poder realizar su posterior identificación.

Para la identificación de los hongos se hicieron láminas de vidrio, obtenidas de cultivos puros de siete días de crecimiento, luego se observaron en el microscopio óptico las estructuras morfológicas y se identificó usando la información presente en la literatura (Seifert, 2011).

### **PRUEBAS DE SENSIBILIDAD in vitro.**

Se estudió la capacidad de siete fungicidas para inhibir de manera in vitro la tasa de crecimiento micelial en cada uno de los hongos; los fungicidas utilizados fueron: benomyl (6 g/L), carbendazim (0,75 g/L), carboxim thiram (2,5 g/L), iprodione (1,25 g/L), óxido cuproso (2 g/L), tiabendazol (1 g/L), sulfato de cobre pentahidratado (3 g/L). Se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con repeticiones desiguales y como testigo se utilizaron las cajas de Petri con PDA al 2% sin adición de fungicida, para cada uno de los hongos identificados. La unidad experimental la constituyó la caja de Petri con el hongo que recibió el fungicida y la dosis correspondiente a cada tratamiento.

### **MANEJO DEL EXPERIMENTO.**

Para cada fungicida se evaluó la dosis recomendada por la casa comercial, se prepararon soluciones acuosas de cada una de las dosis de los fungicidas (transformadas a mL o g por litro) evaluados con PDA al 2% en estado líquido (aproximadamente a 25°C), mezcla que fue distribuida en cajas de Petri, en cantidades de 25 mL de medio de cultivo por cada caja. Se utilizó un litro de PDA por cada fungicida evaluado.

En el centro de cada caja de Petri se sembró un disco de agar de 4 mm de diámetro con micelio y otras estructuras del hongo en estudio. Las cajas se dejaron en la cámara de aislamiento del laboratorio a 25°C.

## **RESULTADOS**

### **Aislamiento de hongos asociados a la marchitez de maracuyá**

De las muestras colectadas en las regiones productoras de maracuyá, se logró aislar e identificar por sus características morfológicas y morfométricas dos especies de *Fusarium* sp.

**Porcentaje de inhibición MICELIAR DE *Fusarium* spp. VS FUNGICIDAS.**

Para la primera especie aislada de *Fusarium*, el análisis estadístico de la inhibición de crecimiento micelias permitió establecer diferencias altamente significativas con un 99% de probabilidad entre los tratamientos (fungicidas), además la prueba de significación aplicada estableció cuatro categorías de igualdad estadística, correspondiendo al mayor porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo a los tratamientos T4 (Benomyl), T6 (Carboxin-thiram) y T7 (Tiabendazol) con un 100% de porcentaje de inhibición, siendo estos tratamientos estadísticamente iguales al tratamiento y al T2 (Carbendazim) y diferente estadísticamente al resto de tratamientos, se debe señalar que el tratamiento que menor porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo fue el testigo con 0.0% de inhibición.

Para la segunda especie de *Fusarium*, el análisis estadístico presenta diferencias altamente significativas con un 99% de probabilidad entre los tratamientos, además la prueba de significación aplicada estableció seis rangos de igualdad estadística, correspondiendo al mayor porcentaje de inhibición de crecimiento al tratamiento T6 (Carboxin-thiram) con un 100% de porcentaje de inhibición, siendo este tratamientos estadísticamente igual a los tratamientos T4 (Benomyl), T7 (Tiabendazol) y T2 (Carbendazim), y diferente estadísticamente al resto de tratamientos, se debe señalar que el tratamiento que menor porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo fue el testigo con 0.0% de inhibición. Cuadro 1

**Cuadro 04.01.-** Porcentaje de inhibición de los hongos analizados en el ensayo experimental " Aislamiento y Sensibilidad in vitro de fungicidas sobre *Fusarium* spp. asociados a la marchitez de maracuyá".

TRATAMIENTOS.	<i>F. roseum.</i>	<i>F. oxysporum</i>
	**	**
T1 Iprodione	71.71 c	56.31 e
T2 Carbendazim	95.17 ab	99.30 a
T3 Sulfato de cobre pentahidratado	87.91 b	80.86 c
T4 Benomyl	100.00 a	99.37 a
T5 Óxido cuproso	89.74 b	73.69 d
T6 Carboxin–thiram	100.00 a	100.00 a
T7 Tiabendazol	100.00 a	99.26 a
T8 Testigo	0.00 d	0.00 f

C.V %	4.84	5.00

Letras iguales en la misma columna como índice no difieren estadísticamente según Tukey al 1% de probabilidad de error.  
 \*\* Altamente significativas al 1%.

## Conclusiones

Se concluye que 4 de los fungicidas evaluados fueron eficaces en el control de *Fusarium* spp asociado a la marchitez de la maracuyá en condiciones in vitro

## Referencias.

**S. Rooney-Latham** and **C. L. Blomquist**, California Department of Food and Agriculture, Sacramento 95832; **H. J. Scheck**. 2011. First Report of Fusarium Wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* on Passion Fruit in North America. Plant disease. November 2011, Volume 95, Number 11 Page 1478. [/doi.org/10.1094/PDIS-03-11-0261](https://doi.org/10.1094/PDIS-03-11-0261)

Espinoza, L.L. y C. Mendoza. 2001. Etiología de la pudrición de raíz y cuello del chile (*Capsicum annuum* L.) ocasionado por el hongo *Phytophthora capsici* en la región de Valseguillo, Puebla, México. Fitopatología 30: 47-55.

Fernández, R. y Suárez, C. 2009. ANTAGONISMO IN VITRO DE *Trichoderma harzianum* Rifai SOBRE *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp *passiflorae* EN MARACUYÁ (*Passiflora edulis* Sims var. *Flavicarpa*) DEL MUNICIPIO ZONA BANANERA COLOMBIANA. Rev.Fac.Nac.Agron., Volumen 62, Número 1, p. 4743-4748.

Iniap, 2009. Manejo del cultivo de Maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) en el Litoral Ecuatoriano. Boletín divulgativo n. 365. 12 p.

PONTE, J.J. da; FRANCO, A.; AGUIÁR DE HOLANDA, Y.C.; SILVEIRA FILHO, J. Calagem, adubação orgânica e fungicida de solo no controle da podridão-do-pé (*Fusarium solani*) do maracujá- amarelo. Fitopatología Venezolana, Maracay, v.12, n.1, p.30-31. 1998.

Seifert et al. 2011. The Hyphomycetes.

Sinagap (2012). <http://sinagap.agricultura.gob.ec/index.php/estadisticas>