

PATOGENOS DEL ZAPALLO *Cucurbita moschata* Duch. EN TRES LOCALIDADES DEL VALLE DEL CAUCA

FUNGAL PATHOGENS IN BUTTERNUT SQUASH *Cucurbita moschata* Duch. AT THREE LOCATIONS IN VALLE DEL CAUCA

ORTIZ, G. SANIN¹ Ph.D., QUIÑONES H. JACQUELINE¹ I.A., VALDÉS, R. MAGDA PIEDAD¹ Ph.D., GOMEZ, EIDER DANIEL¹ Ph.D., HUERTAS D. CARLOS¹ M.Sc.

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia. Carrera 32 # 12-00. AA 237. Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

Palavras Chave:

Alternaria sp.,
Fusarium sp.,
Nigrospora sp.,
Curvularia sp.,
Penicillium sp.,
Mycelio sterilia.

Resumo

Para valorar la presencia e incidencia de patógenos fúngicos, se tomaron muestras de material foliar de *Cucurbita moschata* Duch. en condiciones de campo en tres localidades del Valle del Cauca. Las muestras colectadas se aislaron, incubaron, identificaron, re aislaron en cultivo puro e incubaron y se realizó la prueba de patogenicidad en invernadero, con aspersión de disoluciones al 1×10^6 conidios sobre plantas sanas. Para los patógenos *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Nigrospora* sp., *Curvularia* sp., *Penicillium* sp., y *Mycelio sterilia*, se comprobó su acción fitopatogéna y se cumplieron los postulados de Koch.

Key words:

Butternut squash
Alternaria sp.,
Fusarium sp.,
Nigrospora sp.,
Curvularia sp.,
Penicillium sp.,
Mycelio sterilia.

Abstract

To evaluate the presence and incidence of pathogenic fungi, samples of leaf material of *Cucurbita moschata* Duch were taken. Under field conditions in three locations of Valle del Cauca. The collected samples were isolated, incubated and identified, later than pure culture samples were taken, incubated and a pathogenicity test was mounted under glass with spray disoluciones 1×10^6 conidia onto healthy plants. For all pathogens (*Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Nigrospora* sp., *Curvularia* sp., *Penicillium* sp., y *Mycelio sterilia*) were fully checked her phytopathogenic action and Koch's postulates were fulfilled.

INFORMACIÓN

Recibido: 14-07-2014;
Aceptado: 18-11-2014.
Correspondencia autor:
sortizg@unal.edu.co

Introducción

Las Cucurbitas constituyen una fuente importante de alimentos para los nativos americanos. El género *Cucurbita* forma parte de la alimentación básica en regiones de América, Asia y Europa (WHITAKER y CARTER, 1947; VALLEJO y MOSQUERA, 1998; LE BUANEC, 2002; ORTIZ *et al.*, 2013). En Colombia, se percibe un sostenimiento o ligero aumento del área sembrada al pasar de 114.253 ha en el año 2010 a 149.954 ha sembradas en el 2013 (FAOSTAT, 2013; ORDOÑEZ, 2014).

La especie *C. moschata* es considerada la más importante en América tropical debido a la extensión que ocupa y a la resistencia al ambiente isohipertermico e isohiperhumedo tropical (CAICEDO, 1993). En Colombia se cultiva desde el nivel del mar hasta 2000 msnm (ORTIZ *et al.*, 2013). Esta plasticidad ambiental del cultivo supone la amplia exposición a patógenos que atacan las láminas foliares y frutos, reduciendo el rendimiento (ORTIZ, 2009); supeditando el éxito del cultivo de zapallo a las aplicaciones de agroquímicos, las cuales son costosas y en la mayoría de los casos causan daño ambiental y truncan la continuidad de la red comercial frente a los productos de la agricultura orgánica. En éste artículo de consigna la información correspondiente a la presencia, incidencia e identificación de patógenos causantes de diversas enfermedades del zapallo, en tres localidades del Valle del Cauca.

Materiales y métodos

El trabajo de campo se realizó en 3 localidades: **a.** Centro Experimental de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira (CEUNP) ubicado en el Corregimiento el Carmelo de Candelaria, Valle del Cauca (4°06' N y 67°03' O), a 972 m.s.n.m., con temperatura media anual de 24°C, precipitación media anual de 1.009 mm y humedad relativa del 69% (Ordoñez, 2014) **b.** Finca Judicael, ubicada en el Corregimiento El Bolo Alizal, municipio de Palmira, Valle del Cauca y **c.** Granja Mario Gonzales Aranda (GMGA), ubicada en el municipio de Palmira, Valle del Cauca, (3°31'N y 76°81'O) a 998 m.s.n.m., con temperatura media anual de 23°C (ORTIZ *et al.*, 2013).

Se tomaron muestras de material foliar con base en el diseño de muestreo basado en un recorrido al azar, siguiendo el patrón W. Se seleccionó material foliar de *Cucurbita moschata* Duch, afectado por patógenos y con clara diferenciación de las láminas foliares "sanas". Cada muestra se acompañó de una imagen fotográfica a color, se anotaron los síntomas y signos de la enfermedad encontrada (Fig. 1). Las pruebas microbiológicas se realizaron en el laboratorio de microbiología y fitopatología de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira según el protocolo de PRAGER *et al.*, (1991).

Método de muestreo. Se colectaron muestras basadas en material vegetal con síntomas típicos de enfermedad fungosa en la lámina foliar, las cuales se marcaron respectivamente indicando el lugar y fecha de recolección. Las muestras fueron transportadas en bolsas de polietileno de alta densidad, selladas y en termo refrigerado entre 4 y 12°C, individuales debidamente identificadas y el proceso para el aislamiento de microorganismos fungosos se hizo de acuerdo a la metodología descrita por SEEL y VAN DEMARK (1973) y PRAGER *et al.*, (1991).

Mediante cortes del tejido foliar de aproximadamente 0.5 mm² tomados de la zona de transición entre el tejido sano y enfermo, se desinfectaron por inmersión en solución de hipoclorito de sodio al 1 % por 1 minuto, a continuación en alcohol al 70% por 1 minuto y por último se lavó en agua destilada estéril. La siembra se realizó trasladando cuatro trozos de material vegetal a la caja de Petri que contiene PDA (Papa Dextrosa Agar + antibiótico), sumergiéndolos ligeramente en el medio de cultivo con la ayuda de una pinza esterilizada, distribuyendo el material de manera uniforme. Se incubaron a 28 °C durante 3-4 días. Posteriormente se reaislaron estos hongos a cultivo puro en medio de cultivo PDA y fueron incubados por 5-7 días a 28 °C. La descripción morfológica se realizó una vez obtenidos los aislamientos en cultivo puro de cada uno de los hongos aislados con base en la toma de fotografías y con la comparación con el manual de SEEL y VAN DEMARK (1973).

Valoración de la incidencia y severidad de la enfermedad. Para determinar el efecto de la enfermedad sobre las plantas se calculó el porcentaje de incidencia y severidad. La incidencia se evaluó como porcentaje de plantas afectadas por el patógeno. Para el análisis se aplicó la fórmula sugerida por ANCULLE y ÁLVAREZ (2006). Este proceso se realizó para cada una de las enfermedades presentes en el cultivo.

$$\text{Incidencia} = \frac{\text{Número plantas enfermas}}{\text{Número total de plantas}} \times 100$$

La severidad se evaluó en una escala de 1 a 9 según el nivel de tejido afectado por el patógeno (BOTERO, 2001). Para la evaluación se utilizaron gráficos de apoyo en cada caso, que muestran el porcentaje de infección de la enfermedad en la lámina foliar, teniendo en cuenta el grado de afección calificada visualmente que presentó cada una de las plantas.

Pruebas de patogenicidad. Se realizaron inoculaciones de cada uno de los aislados encontrados en este estudio, se inocularon en 4 plantas mediante la técnica de punción, la cual consiste en realizar diez heridas en la lámina foliar con un alfiler colocando luego 1ml de la suspensión fúngica con una concentración de 1 x 10⁶ conidios. Se observó y fotografió los síntomas de cada uno de los aislados para comprobar el postulado de Koch.

Resultados y discusión

Identificación por aislado. Luego de la incubación, aislado y reincubación e identificación plena de los aislados en PDA, en las tres fincas evaluadas se encontraron 7 agentes causales identificados como: *Alternaria* sp, *Curvularia* sp, *Fusarium* sp, *Micelio sterilia* sp, *Nigrospora* sp, *Oidium* sp y *Penicillium* sp.

***Alternaria* sp:** En la Fig. 1, se describe la estructura física de *Alternaria* luego de la reincubación y aislado (a). Las lesiones ocasionadas por este hongo en hojas, se iniciaron con manchas necróticas de margen amarillo (b). Conforme el microorganismo avanzaba en el tejido vegetal, la mancha tomó una coloración café que se iba extendiendo en la superficie de la hoja rodeada de un halo clorótico, las colonias formadas por este hongo eran de color grisáceo, hasta daño total (c). *Alternaria* es patógeno común en la mayoría de las Cucurbitáceas. En pepino *Cucumis sativus* por ejemplo, la cepa *A. cucumerinum*, infecta las láminas foliares de manera drástica con pérdida total si no se toman las medidas de control químico o preventivo (JAYARAMAN *et al.*, 2011). Además, ha sido reportado como patógeno común en diferentes Cucurbitas en India (AVINASH Y RAVISHANKAR, 2013).

En semillas de pepino puede aparecer infecciones de *Alternaria alternata* no mayores al 6% (FARRAG *et al.*, 2013), que si bien parecen de baja incidencia, en realidad es muy grave, porque se trata de las semillas como agente portador de esporas de una cepa altamente infectante. Así mismo, *A. alternata* se identificó en Pakistán como una enfermedad prevalente en por lo menos cinco especies de Cucurbitáceas (BASHIR *et al.*, 2011).

***Curvularia* sp:** En la Fig. 2, se describe la estructura aislada (a) y la presencia física en la lámina foliar (b), así como en nivel de daño evidente (c). Los síntomas causados por *Curvularia* sp mostraron

manchas circulares u ovaladas en la superficie de la hoja al inicio de la infección (Fig. 2c), con colonias formadas, lisas, algodonosas, de color marrón oscuro. Microscópicamente se observó micelio muy septado, ramificado, conidios ovalados, cilíndricos a veces encorvados, de un color castaño claro; por lo general con tres septos transversales (Fig. 2 a). El nivel de daño causado por *Curvularia*, sobre todo al inicio de la infección, en especial la fase de aparición de los puntos de necrosis aislados (Fig. 2c), pareciera ser que el daño no fuera significativo. Es probable que *Curvularia* podría estar asociado con genotipos de zapallo que pudieran ser tolerantes a la sequía, pues HENSON *et al.*, (2013), reportaron que es posible obtener un producto de síntesis derivado de *Curvularia* como agente promotor de resistencia a la sequía (*US patent: US 8524224 B2*) y ello abre el camino para observar las probables correlaciones que podrían aparecer entre genotipos de *C. moschata* Duch resistentes a sequía y la presencia de *Curvularia* como agente promotor.

***Fusarium* sp:** Este patógeno causa una brusca marchitez en la planta. Al hacer un corte transversal, los haces vasculares se ven afectados, lo cual es típico de esta enfermedad. Igualmente ocurre en el cultivo, donde primero se evidencia una clorosis generalizada; y a medida que avanza la enfermedad se presenta clorosis, marchitamiento y posterior secamiento lateral, que finalmente causa la muerte de la planta.

En el cultivo artificial, las colonias formadas por este patógeno presentaron colores que iban desde el púrpura al rosado y blanco a amarillo (Fig., 3), con micelio blanco algodonoso. Microscópicamente el micelio y las conidias fueron hialinas, evidenciando producción de macroconidios largos, en forma de media luna, multiseptados, que son llevados típicamente por esporodocios, y microconidios muy pequeños, esféricos, ovales, alargados o en forma de media luna sobre hifas simples, ramificadas o no; por lo común, también se producen clamidosporas en el micelio.



Figura 1. *Alternaria* sp. Estructura aislada (a), presencia en lámina foliar (b), y nivel de daño a medida que el patógeno progresa (c).



Figura 2. *Curvularia* sp. Estructura aislada (a), presencia en lámina foliar (b) y nivel de daño a medida que el patógeno progresa (c).



Figura 3. *Fusarium* sp. Estructura aislada (a), presencia en lámina foliar (b), y nivel de daño a medida que el patógeno progresa (c).

Si bien la agresividad de *Fusarium* es evidente, se ha controlado con fungicidas convencionales con éxito relativamente modesto. Sin embargo, LIN *et al.* (2011) y CAO *et al.* (2011) reportaron opción de control de *Fusarium* en pepino por medio competencia en inoculación con *Mycorrhiza arbuscular*, el primero, y por una cepa específica de *Bacillus subtilis*, el segundo. Este hongo ha sido reportado como patógeno común en diferentes Cucurbitas en India (AVINASH y RAVISHANKAR, 2013).

Micelio sterilia sp: Los síntomas de este hongo se evidencian con una pequeña formación necrótica que inicia en borde de la lámina foliar extendiéndose de manera lenta. Las colonias formadas por el hongo son de color blanco a rosado claro; con micelio septado sin fructificaciones (Fig. 4).

Nigrospora sp: La enfermedad se evidencia por la presencia de lesiones cloróticas y necróticas que aumentan considerablemente de tamaño desde los márgenes de la hoja hacia el centro, extendiéndose

severamente e invadiendo más tejido. Presenta una colonia de aspecto algodonoso, de color blanco inicialmente que luego se torna de color gris oscuro en el anverso y negro en el reverso (Fig. 5). Los conidios de forma globosa y de color oscuro. Todo parece indicar que se trata del primer reporte de *Nigrospora* sp como patógeno en *C. moschata* Duch. para el Valle del Cauca.

Oidium sp: En la superficie de las hojas este hongo se evidencia como una masa blanca con aspecto de ceniza, abarcándola completamente (Fig. 6).

La infección puede alcanzar tejidos más profundos y llegar a tal grado que las hojas tomen una coloración amarilla, luego carmelita y finalmente secarse. Con micelio de color blanco, las hifas son hialinas y de pared lisa, en las cuales se forman conidióforos cortos y erectos. Los conidios son hialinos, unicelulares, de formas ovoides y abundantes.

Penicillium sp: Se presentan halos necróticos bien definidos y márgenes cloróticas en la lámina foliar,



Figura 4. *Micelio sterilia* sp. Estructura aislada (a), presencia en lámina foliar (b), y nivel de daño a medida que el patógeno progresa (c).



Figura 5. *Nigrospora* sp. Estructura aislada (a), presencia en lámina foliar (b), y nivel de daño a medida que el patógeno progresa (c).



Figura 6. *Oidium* sp. Estructura aislada (a), presencia en lámina foliar (b), y nivel de daño a medida que el patógeno progresa (c).

se puede ver claramente el tipo de crecimiento radial del hongo que a medida que avanza va invadiendo más tejido. La colonia de este hongo es de aspecto algodonoso compacto, de color verde azulado (Fig. 7). Los conidios se encuentran en una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiáldes.

Incidencia de las enfermedades. En la Fig. 8, se resume la información respecto a la incidencia de los patógenos en las tres localidades. *Fusarium* sp. y *Alternaria* sp. expresaron su mayor agresividad en la Finca Judicael; *Nigrospora* sp. y *Oidium* sp. se expresaron en CEUNP con incidencia superior al 50%, lo que significó que las plantas de *C. moschata*, fueron susceptibles a estas enfermedades de naturaleza fungosa. En comparación con *Fusarium* sp.; *Curvularia* sp.; *Penicillium* sp.; *Alternaria* sp. que se expresaron en la Granja Mario Gonzales Aranda y *Micelio sterilia* sp.; (CEUNP) estuvieron por debajo del 40%. En todo caso, fue evidente que la incidencia del patógeno y la manifestación de la enfermedad estuvo ligada a la favorabilidad ambiental de cada localidad y no la grado de control fitosanitario, pues en CEUNP se mantiene el mayor control sanitario. Sin embargo, *Nigrospora* y *Oidium* se manifestaron con una alta incidencia patogénica, en especial porque cada semestre se siembra diferentes especies de Cucurbitas y ello facilita la residencia de los patógenos. Es claro que el ambiente más favorable para una infestación leve, sin duda, fue GMGA.

Severidad. Se entiende la severidad como la cantidad de área o volumen de tejido afectado por la enfermedad en una planta, medido en una escala de 1 a 9 (BOTERO, 2001). En la Fig. 9, se observa el grado de severidad del ataque de los patógenos identificados. En las tres localidades, la severidad superó el umbral de 5, que se considera como tolerable y a partir de allí, el daño adquiere proporciones de severidad evidente.

Pruebas de patogenicidad. Las pruebas de patogenicidad fueron exitosas en plantas de *C. moschata* y las enfermedades pudieron ser reproducidas en las plantas de un mes de edad. Esto sugiere que posiblemente la infección se produce durante las primeras etapas del desarrollo foliar o a través de heridas en las hojas adultas. Considerando los postulados de Koch, se concluye que los daños ocurridos en plántulas de *C. moschata* fueron causados por *Alternaria* sp, *Curvularia* sp, *Fusarium* sp, *Micelio sterilia* sp, *Nigrospora* sp, *Oidium* sp. y *Penicillium* sp.

En todo caso, dado el grado de patogenicidad de algunas de las cepas identificadas, es necesario implantar un programa de mejoramiento dirigido a incorporar genes de resistencia a las variedades de zapallo más populares del Valle del Cauca, pues tal y como lo plantean LEBEDA y COHEN (2011), la mejor herramienta para enfrentar los patógenos del zapallo es la resistencia genética.

Conclusiones

El daño foliar en *C. moschata* encontrado en campo, para las tres localidades estudiadas, estuvo asociado con los patógenos aislados, identificados y validados en la prueba de patogenicidad.

Las enfermedades de mayor incidencia y más limitante para el cultivo de *C. moschata* fueron la marchitez provocada por *Fusarium* sp. y *Nigrospora* sp., que pueden aparecer en cualesquier etapa del ciclo de vida de la planta, con severidad del más del 50%.

La influencia de factores climáticos determinó que la GMGA presentara menos severidad en el ataque de los patógenos identificados.



Figura 7. *Penicillium* sp. Estructura aislada (a), presencia en lámina foliar (b), y nivel de daño a medida que el patógeno progresa (c).

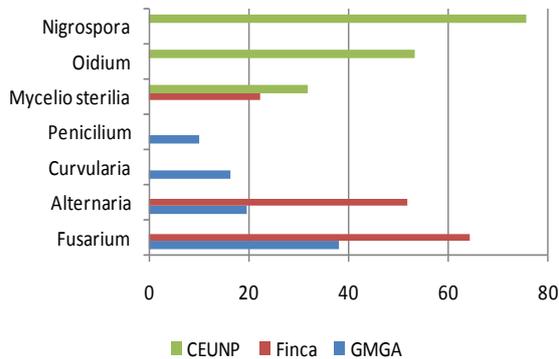


Figura 8. Incidencia de patógenos, expresada en porcentaje, en la Granja Mario Gonzales Aranda (GMGA), Finca Judicael (Finca) y Centro Experimental (CEUNP).

Aunque *Nigrospora* sp. No se había reportado como hongo patógeno para Cucurbitas en el Valle del Cauca, en este trabajo se reportó altos niveles de incidencia en el CEUNP mostrando daño evidente en *Cucurbita moschata* Duch.

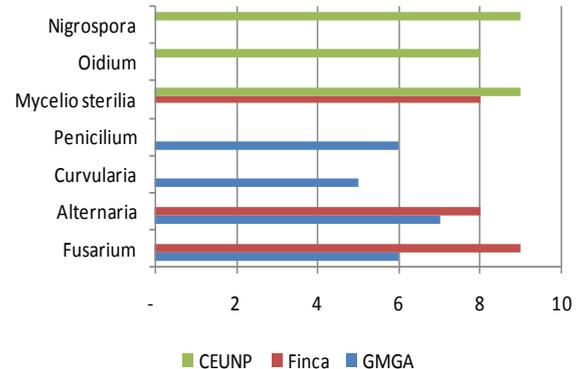


Figura 9. Grado de severidad del ataque de patógenos en *C. moschata* en tres localidades: Granja Mario Gonzales Aranda (GMGA), Finca Judicael (Finca) y Centro Experimental (CEUNP).

Agradecimientos: Al Departamento de Investigaciones de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira.

Referencias

- ANCULLE, A.; ÁLVAREZ, R. 2006. Evaluación de enfermedades de plantas. Disponible en: http://www.senasa.gob.pe/servicios/intranet/capacitacion/cursos/curso_arequipa/evaluacion_enfermedades_plantas_1.pdf. Consultado: 10-04-2007.
- AVINASH T.S.; RAVISHANKAR V. R. 2013. Identification of diverse fungi related with selected cucurbitaceae vegetables. *Journal of Agricultural Technology* 9 (7):1837-1848.
- BASHIR U.; SHAHZADI R.; JAVED S. 2011. Mycoflora associated with cucurbits. *Mycopath* 9 (2):61-65.
- BOTERO, M. 2001. Tabla y diagrama de severidad de antracnosis (*Colletotrichum*).
- CAICEDO, L.A. 1993. *Horticultura*. 6 edición. Palmira. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Colección de profesores.
- CAO, Y.; ZHANG, Z.; LING, N.; YUAN, Y.; ZHENG, X.; SHEN, B. AND SHEN, O. 2011. *Bacillus subtilis* SQR 9 can control *Fusarium* wilt in cucumber by colonizing plant roots. *Biology and Fertility of Soils* 47:495-506.
- FAOSTAT, A. 2013. The Statistics Division of the FAO. Disponible en: <http://faostat.fao.org>. Consultado: 17-04-2014.
- FARRAG, E.S.H; MOHARAM, M.H.S.; ZIEDAN, E.S.H. 2013. Effect of plant extracts on morphological and pathological potential of seed-borne fungi on cucumber sedes. *Journal of Agricultural Technology* 9(1): 141-149.
- HENSON, J.M.; SHEEHAN, K.B.; RUSSELL J. RODRIGUEZ, R.J.; REGINA, S.; REDMAN, R.S. 2013. Methods of using *Curvularia* strains to confer stress tolerance and/or growth enhancement in plants. Tomado de: United States Patent. *US patent*: US 8524224 B2. Date of Patent: Sep. 3, 2013. <http://www.google.com/patents/US8524224>. Consultado: 17 de abril de 2014.
- JAYARAMAN, J.; NORRIE, J.; PUNJA, Z.K. 2011. Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber. *Journal of Applied Phycology* 23 (3):353-361.

- LE BUANEC, B. 2002. *The world seed trade*. In: 18 Seminario Panamericano de Semillas. Memorias en CD. Santa Cruz – Bolivia. 1 al 3 de Julio de 2002.
- LEBEDA, A.; CHEN, Y. 2011. Cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) biology, ecology, epidemiology, host-pathogen interaction and control. *European Journal of Plant Pathology* 129 (2):157-192.
- LIN, J. X; WANG, J.H.; SHEN, W.S.; WU, S.; PENG, S.P.; MAO, T.T.; HU, L. 2011. Arbuscular Mycorrhizal fungal inoculation enhances suppression of cucumber *Fusarium* wilt in greenhouse soils. *Pedosphere* 20 (5): 586-593.
- ORDOÑEZ, N.G.A. 2014. *Generación de líneas endocriadas de zapallo Cucurbita moschata Duch. y Cucurbita argyrosperma subespecie sororia para el carácter extracto etéreo en la semilla*. Tesis Maestría e Mejoramiento de Plantas Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira.
- ORTIZ, G. S. 2009. *Estudios genéticos en caracteres relacionados con el rendimiento y calidad del fruto de zapallo Cucurbita moschata Duch. para fines agroindustriales*. Tesis Doctoral en Ciencias Agropecuarias con Enfoque en Mejoramiento de Plantas. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.
- ORTIZ, G.S.; BAENA G.D.; VALLEJO C.F.A.; ESTRADA, S. E.I.; VALDÉS R.M.P. 2013. *Zapallo para consumo en fresco y fines agroindustriales*. investigación y desarrollo. Cali. Feriva. .
- PRAGER, M.; MARMOLEJO, F.; OTERO, N. 1991. *Microbiología aspectos fundamentales*. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira.
- SEEL, Y.H.W.; VAN DEMARK, P.J. 1973. *Microbios en acción*. Manual de laboratorio para microbiología. Barcelona, Blume..
- VALLEJO C.F.; MOSQUERA S.E. 1998. Transferencia del gen Bu a poblaciones de zapallo, *Cucurbita* sp. con crecimiento postrado. *Acta Agron.* 48:7-18.
- WHITAKER, T.W. ; CARTER, G.F. 1947. Critical notes on the origin and domestication of the cultivated species of *Cucurbita*. *America Journal of Botany* 33:10-15.