

Identificación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Trichoderma koningii* colectados en el Estado Aragua, Venezuela

Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Trichoderma koningii* collected in the Aragua State, Venezuela

M.E. Paez¹ y N. Sanabria de Albarracin²

¹Ministerio del Ambiente, Centro Nacional de Conservación de los Recursos Genéticos. Apartado 4661, Maracay 2101-A

²Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía.

Resumen

De diferentes localidades productoras de tomate del estado Aragua, Venezuela, fueron colectadas muestras de plantas con síntomas de marchitez vascular y muestras de suelo. Estas fueron procesadas en las instalaciones de la Clínica de Enfermedades de Plantas de la Universidad Central de Venezuela, obteniendo aislamientos tanto de *Fusarium* como de *Trichoderma*, que de acuerdo a características macroscópicas y microscópicas fueron identificadas como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Trichoderma koningii*. Siendo de gran importancia la identificación del patógeno y de los posibles microorganismos que pueden actuar como controladores biológicos dentro de un manejo integrado del cultivo.

Palabras clave: Tomate, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma koningii*.

Abstract

Plants with symptoms of wilt disease and floor samples were collected in different localizations of Aragua State, Venezuela. These were processed at The Clinic of Phytopathology of the Central University of Venezuela, for getting isolations of *Fusarium* and *Trichoderma*, identified as *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Trichoderma koningii*, respectively considering their macroscopic and microscopic characteristic. Being of great importance the identification of the patógeno and of the possible microorganisms that can act as biological controllers inside an integrated handling of the cultivation.

Key words: Tomato, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma koningii*.

Recibido el 9-1-2007 • Aceptado el 30-4-2007

Autor para correspondencia e-mail: smpe69@hotmail.com; mpaez@correo.marn.gov.ve

Introducción

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es la principal hortaliza en la dieta diaria del venezolano, siendo producido en diferentes zonas del país, entre las que se encuentra el estado Aragua. El rendimiento del cultivo es afectado por diferentes factores entre los que se encuentran las condiciones ambientales, así como las plagas y enfermedades, señalándose dentro de estas últimas

a la marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *licopersici* (1,4). Entre las alternativas para su control se encuentra el empleo de productos biológicos a base de microorganismos antagonistas (5, 6), siendo el objetivo del presente trabajo coleccionar e identificar aislamientos del patógeno y del antagonista *Trichoderma* de diferentes localidades del estado Aragua.

Materiales y métodos

En las localidades de Pao de Zarate, Guanayen, Mucura y Santa Lucía del estado Aragua, donde existen reportes de incidencia de marchitez vascular del tomate, se coleccionaron al azar plantas completas con síntomas de la enfermedad con el objetivo de aislar al patógeno *Fusarium*. Así mismo se coleccionaron muestras de suelo del área de cultivo para la obtención del antagonista *Trichoderma*.

Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de fitopatología de la Clínica de Enfermedades de Plantas de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela para su procesamiento. La obtención del patógeno se realizó siguiendo la metodología de Burgess *et al.*, (3) y la obtención del antagonista se logró mediante la técnica de dilución seriada en cápsulas de Petri con agar.

Se realizó la descripción e identificación de los aislamientos con base a características macroscópicas y microscópicas: I) Para la caracterización de *Fusarium* todos los aislamientos

fueron repicados a cápsulas de Petri con PDA, conservándolos bajo condiciones alternas de luz y oscuridad cada 12 horas (a 20°C en oscuridad y 25°C en luz) por diez días; determinando color, aspecto y diámetro de crecimiento de la colonia. En láminas semipermanentes se hicieron preparados microscópicos, a partir de colonias obtenidas en PDA de cuatro a siete días, realizando observaciones microscópicas y medición de microconidios y clamidosporas. Los mismos aislamientos se cultivaron en medio de cultivo agar-hoja de clavel (CLA), conservándolos a 27-30°C en oscuridad durante seis a diez días, haciendo preparados microscópicos para observar y medir macroconidios, realizando su identificación con la ayuda de material bibliográfico sobre el género *Fusarium* sp. (3). II) Para la caracterización de *Trichoderma* los aislamientos se repicaron en PDA y se conservaron a 27-30°C en oscuridad por tres a ocho días; determinando color, aspecto, forma de crecimen-

to y diámetro de crecimiento de la colonia, así como pigmentación del medio de cultivo. De colonias con tres días de crecimiento se hicieron preparados microscópicos, determinando tipo de ramificación de los conidióforos, forma y medidas de las fiálides y los conidios. Para determi-

nar la presencia o ausencia de las clamidosporas y sus características, se emplearon preparados microscópicos de colonias de ocho o más días de crecimiento, identificando los aislamientos en base a información bibliográfica (2).

Resultados y discusión

Descripción e identificación de los aislamientos de *Fusarium*: En general las colonias inicialmente son hialinas y después de 48 horas adquieren una coloración violeta. El diámetro de crecimiento de la colonia, transcurridas las 72 horas fue alrededor de 2,0 cm y el micelio aéreo poco flooso. Al microscopio el micelio es hialino y septado; produciendo abundantes microconidios sobre cortas monofiálides en falsas cabezas (figura 1); los macroconidios son fusiformes, septados, con una célula apical alargada y una célula basal pedicelada; las clamidosporas son

globosas, terminales y/o intercalares.

Las muestras de las diferentes localidades presentaron las siguientes características:

a) Pao de Zárate (PZ): Colonia que transcurridos diez días alcanzó un diámetro de 8,4 cm de crecimiento. Microconidios de forma oval-reniformes, unicelular, de 4,75-9,5 x 1,90-2,85 μm . Macroconidios abundantes, con dos a tres septas, de 9,5-32,5 x 1,9-3,8 μm . Clamidosporas globosas, de paredes gruesas, de bordes lisos o festoneados, de 6,5-9,50 μm ., individuales o bicelulares en el ápice del micelio.

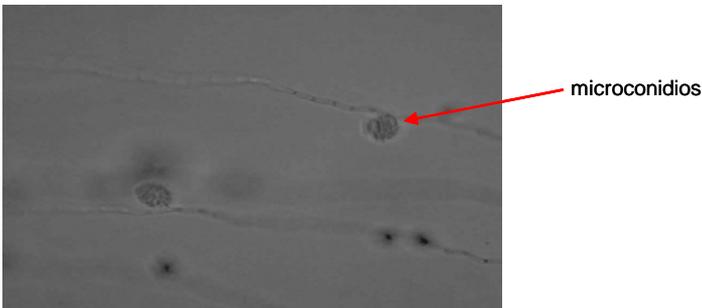


Figura 1. Microconidios en falsas cabezas de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (40x).

b) Guanayen (G): Este aislamiento fue el que presentó el más rápido crecimiento de la colonia, alcanzando los 9,0 cm de diámetro a los diez días, con abundantes microconidios reniformes-ovalados de una o dos células, de 3,8-8,55 x 1,90-2,85 μm . Macroconidios abundantes, de tres septas, de 10,45-29,45 x 2,85-3,80 μm . Clamidosporas globosas, de bordes lisos, de 4,75-9,50 μm , presentes de forma individual y terminales en el micelio.

c) Múcura (M): La colonia a los diez días alcanzó un diámetro de 8,0 cm. Microconidios sobre cortas monofiálides, oval-reniformes, de una o dos células, de 5,70-8,55 x 1,90-2,85 μm . Macroconidios con tres a cuatro septas, de 14,25-37,05 x 2,85-3,80 μm . Clamidosporas globosas, de paredes lisas y gruesas, de 4,75-8,55 μm , individuales o bicelulares, intercaladas y apicales en el micelio.

d) Santa Lucía (SL): Colonia de menor velocidad de crecimiento, alcanzando un diámetro de 7,0 cm a los diez días. Con abundantes microconidios de una célula, oval-reniforme, de 10,8-14,4 x 7,2 μm . Macroconidios abundantes, fusiformes, célula basal pedicelada, célula apical en forma de gancho, con dos septas, de 21,6-32 x 7,2 μm . Clamidosporas de paredes lisas, globosas, de 7,2-10,8 μm , individuales, intercaladas y terminales sobre el micelio.

Estas permitieron identificar los aislamientos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, coincidiendo con lo señalado por otros autores como Anzola y Román (1) y

Jiménez (4) quienes identificaron a este patógeno afectando el cultivo de tomate en diferentes zonas de Venezuela, incluyendo el estado Aragua.

2.- Descripción e identificación de los aislamientos de *Trichoderma*: En general la Colonia es de crecimiento rápido. Micelio hialino, hifas septadas y ramificadas en toda su longitud. Presentan conidióforos ramificados y abiertos con 3 a 4 fiálides por verticilo, sobre las cuales se forman los conidios. No posee fiálides intercaladas (figura 2).

Las muestras de las diferentes localidades presentaron las siguientes características:

a) Pao de Zárata (PZ): La colonia crece en anillos concéntricos, inicialmente de color blanco, tornándose verde claro hasta alcanzar un verde oscuro. A los tres días tiene un diámetro de 6,6 cm. El micelio aéreo es raro. Los conidióforos de 70,7 μm de longitud x 2,85 μm de ancho. De Fiálides ampuliformes y lageniformes de 9,5 a 11,7 μm de longitud y de 1,9 a 2,85 μm en su parte más ancha. Los conidios son secos, verdes, pequeños, globosos de 1,90 a 3,8 μm de longitud x 1,90 a 3,8 μm de ancho y agrupados en masas. Con pocas clamidosporas sub-globosas y terminales.

b) Guanayen (G): La colonia inicialmente es de color blanco, cambiando desde verde claro hasta verde oliva. A los tres días alcanza 9,0 cm de diámetro, El micelio aéreo es floccoso. Conidióforos de 25,3 μm de longitud x 2,85 μm de ancho, con fiálides lageniformes de 6,95 a 11,4 μm de largo y de 1,90 a 2,85 μm en su punto más ancho. Sus conidios son secos,



Figura 2. Conidióforo con fialides y conidios de *Trichoderma koningii* (40x).

verdes, globosos a sub-globosos de 2,85 a 3,80 μm x 2,85 a 3,80 μm . Pocas clamidosporas globosas con un diámetro de 5,7 μm , individuales de paredes lisas y terminales e intercaladas en el micelio.

c) Múcura (M): La colonia tiñe el medio de color amarillo claro y a los tres días alcanza 8,5 cm. El micelio aéreo es ralo, color amarillo verdoso. Con conidióforos de 50 μm de longitud x 2,0 μm de ancho. Sus fialides son ampuliformes a lageniformes, generalmente de 4,75 a 9,5 μm de largo x 1,90 μm en su punto más amplio. Abundantes conidios generalmente globosos a sub-globosos, de 2,85 μm de diámetro. Clamidosporas oblongas, individuales de paredes lisas y gruesas, de 4,75 a 7,6 μm x 4,75 a 7,6 μm y generalmente terminales.

d) Santa Lucía (SL): La colonia crece en anillos concéntricos, inicial-

mente es de color verde claro y con el transcurrir del tiempo, cambia a verde oscuro, con un diámetro de 8,8 cm a los tres días. El micelio aéreo es floccoso. Los conidióforos de 47,3 μm de longitud x 2,85 μm de ancho. Las fialides son ampuliformes a lageniformes de 7,6 a 19 μm de longitud x 1,90 a 2,5 μm de ancho. Conidios verdes, sub-globosos a ovoides de 2,85 a 3,80 μm x 2,85 a 3,80 μm . Con clamidosporas individuales de paredes delgadas y lisas, de 2,85 a 6,65 μm x 2,85 a 5,7 μm , generalmente terminales.

Por estas características y en base a Bisett *et al.*, (2) los diferentes aislamientos se ubican en la sección *Trichoderma* especie *Trichoderma koningii*, a diferencia de Jiménez (4) quien señaló aislamientos provenientes del estado Aragua, como *Trichoderma harzianum*.

Conclusiones

Se confirma la presencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, que ocasiona la marchitez vascular del tomate y se identifican cuatro aislamientos de *Trichoderma koningii* en muestras de

suelo de las localidades de Pao de Zarate, Guanayen, Mucura y Santa Lucía del estado Aragua, áreas productoras de tomate del estado Aragua, Venezuela.

Recomendaciones

Se recomienda evaluar los aislamientos de *Trichoderma koningii* identificados en esta investigación, en cuanto a sus requerimientos desde el

punto de vista de condiciones ambientales y de nutrición, para su posible empleo en control biológico de fitopatógenos.

Literatura citada

1. Anzola, D. y G. Roman. 1982. Evaluación de la tolerancia de cultivares de tomate a diversas razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Agronomía Tropical 32 (1-6):261-272.
2. Bisett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Can. J. Bot. 69:2357-2372.
3. Burgess, L. W., B. Summweewll, A. Bulloxx, K. P. Got, and D. Backhouse, 1994. Laboratory Manual for Fusarium Research. Royal Botanic Gardens. 133 p.
4. Jiménez, P. C. 2004. Formulación y momento de aplicación de *Trichoderma harzianum* Rifai para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc) Zinder & Hansen, causante de la marchitez en tomate en el estado Aragua. Tesis de grado para optar al título de Magister Scientiarum en Agronomía. Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. 92 p.
5. Larkin, R. P. and D. R. Fravel. 1998. Biological control of *Fusarium* Wilt diseases by nonpathogenic *Fusarium* spp. Formulations and field efficacy. Phytopathology. 8(9):S51.
6. Stefanova, N. M. 2003. Producción y aplicación de *Trichoderma* spp. como antagonista de hongos fitopatógenos. Informe Técnico de investigación, INISAV. Cuba. 7 p.