

Identificación morfológica y comprobación de patogenicidad de agentes biológicos asociados *Tabebuia rosea* (Bertol) en etapa de vivero en Morelia (Risaralda)

Morphological identification of pathogenic agents associated with *Tabebuia rosea* (Bignoniaceae) in nursery stage in morelia (Risaralda)

Daniela Dominguez -Castaño, Fabiana María Lora- Suarez

Programa de Biología. Universidad del Quindío, GICBE Grupo de Investigación en Ciencias Biológicas y Educación. Armenia-Quindío-Colombia.

Recibido: Octubre 4 de 2020

Aceptado: Diciembre 16 de 2020

*Correspondencia del autor: Daniela Domínguez -Castaño

E-mail: danieladominguez24@gmail.com

<https://doi.org/10.47499/revistaaccb.v1i32.217>

Resumen

Introducción. Las susceptibilidades de las plantaciones al ataque de organismos dañinos pueden ocasionar efectos nocivos para su desarrollo, cuando se considera que el nivel de daños ocasionado no se puede tolerar, es indispensable determinar acertadamente la naturaleza del agente causal, sea éste tipo biótico o abiótico; la acertada determinación del agente de un problema fitosanitario en un vivero o plantaciones forestale, se fundamenta en un análisis detallado de los factores que la pueden estar afectando. *Tabebuia rosea* o Guayacán rosado es una especie forestal nativa de amplia aceptación en el mercado, que presenta durante su etapa de vivero, limitantes en las fases de germinación, emergencia y sobrevivencia, por lo anterior el objetivo de esta investigación era la de Identificar morfológicamente los posibles agentes patógenos asociados a *Tabebuia rosea* en etapa de vivero y comprobar su patogenicidad. **Metodología.** Se tomaron plántulas de vivero, las cuales se les realizó un análisis de los signos y los síntomas para el aislamiento y siembra de zonas afectadas en agar papa dextrosa. En el cultivo mixto se identificó los posibles agentes patógenos, los cuales fueron sembrados para obtener cultivos puros, y utilizados en la prueba de patogenicidad, para la inoculación de las estructuras sanas (hojas, peciolo y tallos) y su respectivo control. **Resultados.** Se identificaron tres géneros de hongos *Colletotrichum*, *Mucor*, y *Candida*, y un género de nematodo denominado *Meloidogyne*. La prueba de patogenicidad para *Colletotrichum* y *Candida* mostraron relaciones significativas en el proceso de infección principalmente en estructuras foliares. Se **concluye** en este trabajo dos nuevos posibles géneros patógenos para *Tabebuia rosea* evidenciados en la prueba de patogenicidad. Y se corrobora que el género *Meloidogyne* es un patógeno severo en el guayacán rosado que ocasiona anomalías morfológicas en la raíz; cabe resaltar que es el primer reporte para el departamento de Risaralda

Palabras clave: Fitopatógenos, *Tabebuia rosea*, prueba de patogenicidad, hongos, bacterias, helmintos, características fenotípicas,

Abstract

Introduction. The susceptibilities of plantations to attack by harmful organisms can cause harmful effects for their development, when it is considered that the level of damage caused cannot be tolerated, it is essential to correctly determine the nature of the causal agent, be it biotic or abiotic; The correct determination of the agent of a phytosanitary problem in a nursery or forest plantations is based on a detailed analysis of the factors that may be affecting it. *Tabebuia rosea* or pink Guayacán is a native forest species widely accepted in the market, which presents, during its nursery stage, limitations in the germination, emergence and survival phases, therefore the **objective** of this research was to morphologically identify the possible pathogens associated with *Tabebuia rosea* in the nursery stage and check its pathogenicity. **Methodology.** Nursery seedlings were taken, which were analyzed for signs and symptoms for the isolation and sowing of affected areas on potato dextrose agar. In the mixed culture, possible pathogens were identified, which were sown to obtain pure cultures, and used in the pathogenicity test, for the inoculation of healthy structures (leaves, petioles and stems) and their respective control. **Results.** Three fungal genera *Colletotrichum*, *Mucor*, and *Candida*, and a nematode genus named *Meloidogyne* were identified. The pathogenicity test for *Colletotrichum* and *Candida* showed significant relationships in the infection process mainly in leaf structures. Two new possible pathogenic genera for *Tabebuia rosea* evidenced in the pathogenicity test are concluded in this work. And it is corroborated that the genus *Meloidogyne* is a severe pathogen in the pink guayacán that causes morphological anomalies in the root; It should be noted that it is the first report for the department of Risaralda

Keywords: Phytopathogens, *Tabebuia rosea*, pathogenicity test, fungi, bacteria, helminths, phenotypic characteristics,

INTRODUCCIÓN

Los viveros producen y multiplican diversas especies vegetales que llegan a ser parte de los procesos de reforestación en diversos ecosistemas. Para lograrlo se debe obtener una calidad en el mantenimiento de las plántulas, y evitar la afectación por enfermedades o plagas que pueden llevar al desgaste y pérdida de la producción vegetal. Por lo anterior, tener el conocimiento sobre el tipo de plagas o enfermedades que afectan a la planta y sus protocolos de control son factores importantes en un vivero.

La susceptibilidad de las plantaciones al ataque de agentes extraños puede ocasionar efectos nocivos para su desarrollo y cuyo impacto está relacionado con la naturaleza económica, ecológica y/o social de la plantación.

Cuando se considera que el nivel de daño ocasionado no se puede tolerar porque afecta en forma importante los valores que se requieren proteger, es indispensable determinar acertadamente la naturaleza del agente, sea éste tipo biótico (bacterias, hongos, insectos, micoplasmas, virus) o abiótico (factores relacionados con el ambiente en el cual se desarrolla la planta, daños de tipo mecánico) (1).

Tabebuia rosea o guayacán rosado es una especie forestal nativa de amplia aceptación en el mercado, la cual presenta durante su etapa de vivero limitantes en las fases de germinación, emergencia y sobrevivencia (2). Actualmente se han asociado diferentes plagas y enfermedades a *T. rosea* en fase de vivero al poseer algunas características biológicas como agallas en las raíces, pérdida de área foliar por necrosis y reducción en el tamaño; todo esto pueden confundirse con problemas fitosanitarios causados por una plaga o un patógeno.

En Colombia, el ataque de nematodos del género *Meloidogyne* en raíces de guayacán rosado se registró en el año de 1977, en el departamento del Tolima-Colombia, ocasionando pérdidas totales en la producción de plantas en vivero (3). Las especies *Meloidogyne incognita* y *Meloidogyne javanica* atacan las raíces de las plantas principalmente en la fase de vivero (germinador y almácigo) ocasionando el marchitamiento de las plántulas y la reducción del sistema radicular.

Lo que se ha reportado para Colombia en cuestión de enfermedades presentes en *T. rosea*: está el damping off o mal de tallito, una enfermedad que atacan los germinadores de guayacán rosado producido por el hongo *Rhizoctonia solani*, que afecta semillas y plántulas jóvenes, es considerada como el mayor causante de

damping-off en viveros ornamentales. La roya de guayacán es una enfermedad ocasionado por las especies de *prospodium bicolor* y *prospodium cadenae*, que fue reportada por primera vez en Colombia por Ramírez en el año 1990 en plantaciones de la costa Atlántica; ocasiona necrosis prominentes dispersas en todas las hojas y formando agallas o tumores y un secamiento total de la hoja. *Cephaleuros* sp es un hongo patógeno que produce manchas foliares que reducen el área fotosintética activa de las hojas en el guayacán rosado, lo que disminuye el crecimiento normal del árbol; cuando el ataque del patógeno es severo ocasiona defoliación prematura (4).

Otros géneros potencialmente causantes de daños en *T. rosea* son *Curvularia*, *Phytophthora*, *Pythium* y *Sclerotium*. (Castro y Forero en el 2010 (5) registraron algunas patologías para *T. rosea*, síntomas causados por patógenos como *Fusarium* sp, que ocasionan pudrición radicular o manchas de color blanco-gris que invaden y descomponen tejidos epidérmicos, hojas, fustes y raíces de plántulas y árboles jóvenes; también *Nectria* sp, ocasiona chancros en el fuste y ramas viejas, las ramas jóvenes pueden presentar necrosis parcial; y *Sorophaera* sp ocasiona necrosis, manchas circulares de color café oscuras en hojas, posteriormente muerte de plántulas en vivero.

Esta investigación busca identificar mediante caracteres morfológicos los posibles agentes patógenos que pue-

den estar afectando al guayacán rosado en los viveros de la empresa ambiental “Jaimar Soluciones Ambientales”, ubicada en el Departamento de Risaralda, logrando aislar el o los patógenos asociados a esta especie, y aplicando los postulados de Koch para corroborar la sintomatología evidenciada tanto en vivero como en laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área y obtención de la muestra

Las plántulas se recolectaron en el vivero “Jaimar soluciones ambientales” ubicado en el corregimiento Morelia, en el departamento de Risaralda. Para la obtención de las muestras se seleccionaron individuos completamente sanos e individuos que presentaran síntomas y signos de enfermedad en las hojas, peciolo, tallo y raíz, como la presencia de tejido necrótico, perforaciones, amarillamiento clorótico en el área foliar, agallas en las raíces, ampollas en el peciolo y demás anomalías en la planta. Se introdujeron en bolsas plásticas sellables (en condiciones de esterilidad para evitar contaminación cruzada), se tomaron datos del lugar, fecha, hora, modo de recolecta, estado de la planta y observaciones. Luego se trasladaron a las instalaciones de los laboratorios de biología de la universidad del Quindío.

Identificación de signos y síntomas

Se realizó una caracterización de las lesiones que presentaban las plántulas enfermas, como presencia de tejido necrótico, esclerote, agallas y esporulación (4).



Fig. 1. Reconocimiento de algunos síntomas en *T. rosea*. **A.** Hembras de *Meloidogyne* sp incrustadas en el tejido de las raíces. **B.** Tejido con necrosis en la estructura del peciolo C. necrosis en el tejido del área foliar con perforación

Identificación de nematodos.

Al realizar la observación de caracteres externos en la muestra de raíz se llegaron a observar agallas irregulares en las raíces secundarias. Con ayuda del estereoscopio se realizó cortes longitudinales para el aislamiento de hembras y juveniles de nematodos encontrados en los tejidos parenquimáticos. Para la identificación se

fotografiaron las hembras y juveniles. Luego se realizaron cortes transversales de las hembras para observar los huevos en su interior con ayuda del microscopio el objetivo 40x y 100x. A los juveniles en estadio IV se tomaron medidas morfométricas en el programa Analyzer 7.0 que luego se compararon con las medidas obtenidas por Peraza-Padilla y colaboradores en el 2013;

Kofoid y White en 1919 y Chitwood en 1949. También se micropreservaron algunas muestras en formaldehído al 10% (6-8).

Procesamiento de la muestra

Desinfección material vegetal.

El proceso de desinfección inició con las plántulas sanas, las cuales pasaron por una solución de hipoclorito al 2%, seguido de alcohol al 70% y un enjuague con agua destilada. Luego de terminar con los individuos sanos se realizó el mismo proceso con las muestras enfermas. Esto se hace con el fin de eliminar agentes externos que puedan contaminar los medios.

Aislamiento de microorganismos (hongos).

Seguido del proceso de desinfección en las muestras, se realizaron cortes en las zonas afectadas de la epidermis de la hoja, peciolo y tallo, con el fin de aislar las áreas que tengan presencia de lesiones recientes. Este mismo protocolo le fue realizado a las plantas sanas como medio de control, para separar patógenos de organismos saprofitos. Las muestras se mantuvieron en cámara de incubación a una temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ en oscuridad hasta que se observaran crecimiento de colonias.

Identificación morfológica y micropreservación de hongos aislados.

A la hora de identificar las características de la colonia se esperó que el hongo llegara a su estado de madurez. Se tuvieron en cuenta variables como: hábito de crecimiento del micelio (superficial o aéreo), coloración y aspectos morfológicos como superficie, bordes y forma de la colonia. Luego se tomaron muestras del micelio y se adicionó azul de lactofenol, el cual tiñe las estructuras reproductivas del organismo para facilitar la observación de conidios, hifas y esporas. Esto facilitó la observación de dichas características en los objetivos 10x, 40x y 100x (Marca del microscopio). Para realizar posteriores aislamientos se micropreservaron partes del micelio en frascos de eppendorf esterilizados en cámara UV con solución salina al 0.9% y luego fueron llevados al congelador a una temperatura de $-17,7^\circ\text{C}$.

Prueba de patogenicidad.

Se colectaron muestras de plantas sanas, se envolvieron en papel aluminio por el extremo que fueron cortadas

para una mayor conservación, luego se introdujeron en bolsas herméticas. En el laboratorio se realizaron cortes del material vegetal sano colectado para ser inoculadas con los microorganismos aislados al inicio de la metodología. Se estableció un control y tres réplicas por cada órgano (hoja=3, peciolo=3, tallo=3). Se realizó un proceso de desinfección: tres enjuagues con agua destilada y jabón, hipoclorito al 1% (1 min.), etanol al 70% (30 seg.) y tres enjuagues solo con agua destilada para eliminar cualquier inóculo de campo. Se dejaron secar las muestras en papel absorbente; luego fueron llevadas a cámara humedad (caja de Petri estéril con papel humedecido) y se les realizó un corte de 6 cm. x 6 cm. en el cual se inoculó parte del micelio aéreo del hongo identificado, y el control fue inoculado con agua destilada. Se selló la cámara húmeda para mantener la humedad en su interior y se guardaron en cajas de icopor a temperatura ambiente. Este mismo protocolo se realizó con cada uno de los hongos aislados, con cinco días de diferencia entre cada prueba de patogenicidad para evitar contaminación cruzada. Se hizo seguimiento por ocho días cada 24 horas, para observar el inicio de los síntomas y la muerte del tejido, para esto se realizó una tabulación cruzada en Excel.


Estadístico de Porcentaje de área foliar afectada en relación con la altura

Se tomaron 21 plántulas de aproximadamente 11 meses. Se les evaluó el área total del follaje y el porcentaje de área afectada con el programa ImageJ. Se tomó la variable de altura, para luego realizar un análisis de Anova de un factor en el programa IBM SPSS Statistics 22 para conocer si existía alguna relación entre la altura del cultivo y el porcentaje de afectación en el área foliar. Para tener como referencia cuál debería ser la altura promedio de esta especie a los 11 meses sin presentar algún daño se tuvo en cuenta la investigación de Montero, 2009 “*Crecimiento inicial de especies arbóreas multipropósito en un terreno ganadero del Norte de Veracruz*”.

RESULTADOS

El material vegetal colectado se encontró afectado, evidenciando diferentes signos y síntomas en las estructuras de las hoja, peciolo, tallo y raíz, lo que permitió un breve análisis del estado actual del cultivo (tabla 1).

Tabla 1. Signos y síntomas de las estructuras vegetales de *T. rosea* en etapa de vivero

Signos y síntomas	
	Necrosis en los bordes de la hoja y presencia de esporulación blanquecina
	Tejido necrótico, con empedaduras
	Perforaciones del área fotosintética
	Enrojecimiento en el envés
	Quemaduras en los bordes de las hojas
	Esclerote de color amarillo
	Reducción de lámina foliar
	nervaduras con presencia de necrosis y esporulación blanquecina
	Amarillamiento clorótico
	Agallas en las raíces secundarias

Identificación morfológica de fitopatógenos aislados del material vegetal de *T. rosea*

***Meloidogyne* sp**

Presencia del nematodo del género *Meloidogyne* en los tejidos parenquimático y endodérmico en estados sési-

les (juvenil) y hembras adultas globosas, con huevos en su interior que median entre 88,95-99,63 µm de diámetro (Fig.2).

Para la identificación del género *Meloidogyne* sp en es-

tado juvenil se realizaron medidas morfométricas comparadas con las medidas encontradas por Peraza-Padilla y col. en el 2013, 2013; Chitwood en 1949 y Kofoid

y White en 1919 (6-8)(Tabla 2). Se encontró que las medidas en la investigación entran en los promedios establecidos en la literatura.

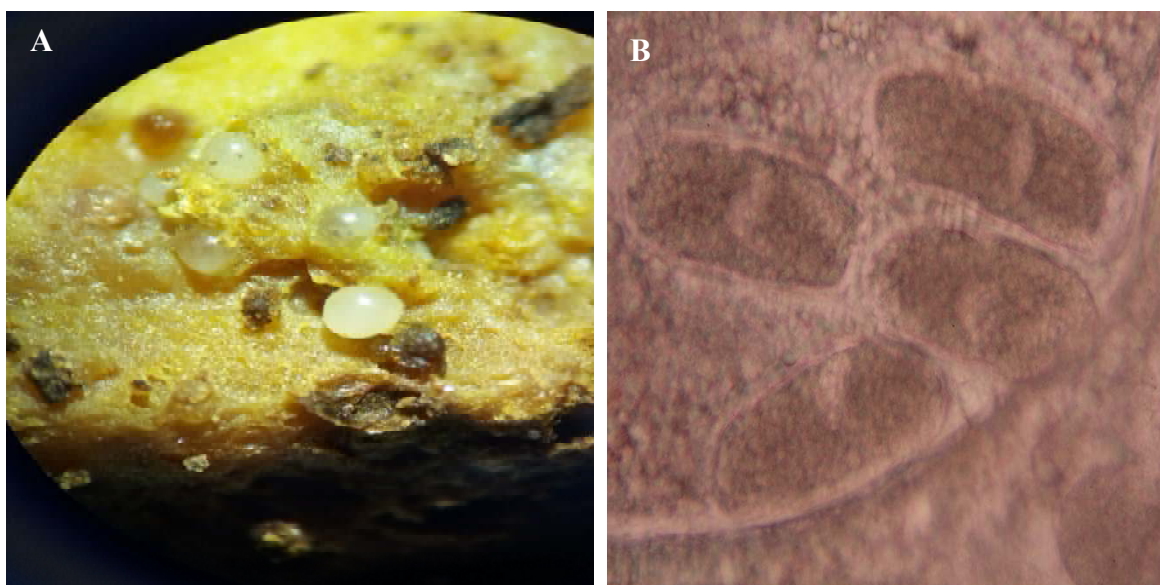


Fig. 2 A. Observación de hembras del género *Meloidogyne* en el objetivo 36x incrustadas en el tejido de la raíz del guayacán rosado. **B.** Masa de huevos (ooteca) saliendo de la hembra en 40x

Tabla 2. Comparación morfométrica de *Meloidogyne* sp aislados de la raíz de *T. rosea*, en comparación con otros estudios

Medidas y relaciones (μm)	<i>Meloidogyne</i> sp	<i>Meloidogyne</i> sp (Peraza-Padilla y col. 2013)	<i>Meloidogyne</i> sp (Kofoid y White 1919, Chitwood 1949)
Longitud del Cuerpo (L)	420,421-425,02	429,2 \pm 26,8 (405,0-480,0)	371,0 (337,0-403,0)
Ancho máximo del cuerpo (MBW)	14,1-16,1	18,1 \pm 1,6 (15,0-20,0)	***
Ancho del cuerpo a nivel del ano (ABW)	8,05-9,0	10,8 \pm 1,2 (8,0-12,0)	***
Ancho de región labial (LRW)	8,22-10,1	5,3 \pm 0,5 (5,0-6,0)	***
Longitud de la cola (LC)	44,20-42,67	51,3 \pm 3,6 (48,0-58,0)	(45,0-52,0)
a. (L/MBW)	23,99-26,11	23,9 \pm 2,4 (19,3-27,6)	28,3 (24,9-31,5)
b. (L/LC)	-8,5-9,85	8,4 \pm 0,7 (6,8-9,4)	8,1 (6,9-10,6)
c. (LC/ABW)	5,3-6,1	4,6 \pm 0,4 (4,0-5,4)	5,4

Identificación morfológica de hongos patógenos aislados de *T. rosea*

Candida sp

La colonia al inicio de su desarrollo presenta en el centro coloración amarilla y los alrededores de color crema, textura cremosa brillante y borde levantado. Al

reverso de la colonia un color amarillo-crema y lisa. Blastoconidios de forma ovalada, con pared delgada de tamaños que oscilan entre los 6,5 a 7,4 μm de diámetro y gemantes. Con la prueba de CHROMagar se confirmó la presencia del género *Candida*, pero no permitió la identificación de la especie.

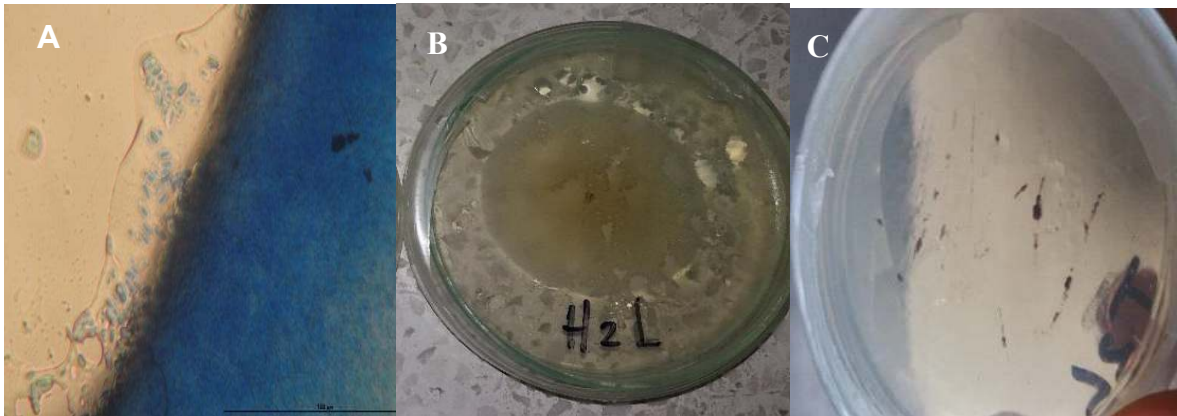


Fig.3 A. observación de Blastoconidios en 40x de *Candida* sp, con forma ovalada y teñidos con azul de lactofenol. B. Colonia de *Cándida* sp C. Prueba de CHROMagar, marcando color púrpura, indicando presencia del género **Candida**.

Fotografía: Daniela Domínguez Castaño tomadas en octubre de 2018

***Colletotrichum* sp**

La colonia de aspecto crateriforme presenta coloración blanquecina en la parte superior, con micelio aéreo y estromas continuos (Fig. 1). En el reverso de la colonia tiene coloración café oscuro. La esporulación es abundante, con conidios dispersos e hifas no septadas (Fig. 4).



Fig. 4 A. Observación de conidios del género *Colletotrichum* en 40x teñidos con azul de lactofenol. B. Observación de micelio de la Colonia de *Colletotrichum* sp con formación de estromas.

Fotografía: Daniela Domínguez Castaño tomadas en octubre de 2018

***Mucor* sp.**

Presenta colonia de aspecto algodonoso, con micelio aéreo y esporulación abundante de color blanco al inicio. Transcurrido un promedio de 5 días la coloración del micelio cambia un tono oscuro-grisácea, lo que indica el envejecimiento del hongo. Hifas septadas, esporangiosporas (Fig.2) con diámetro entre 5,8 -3,7 μm y esporangios con diámetro de entre 57,9 y 70,2 μm (Fig.2).

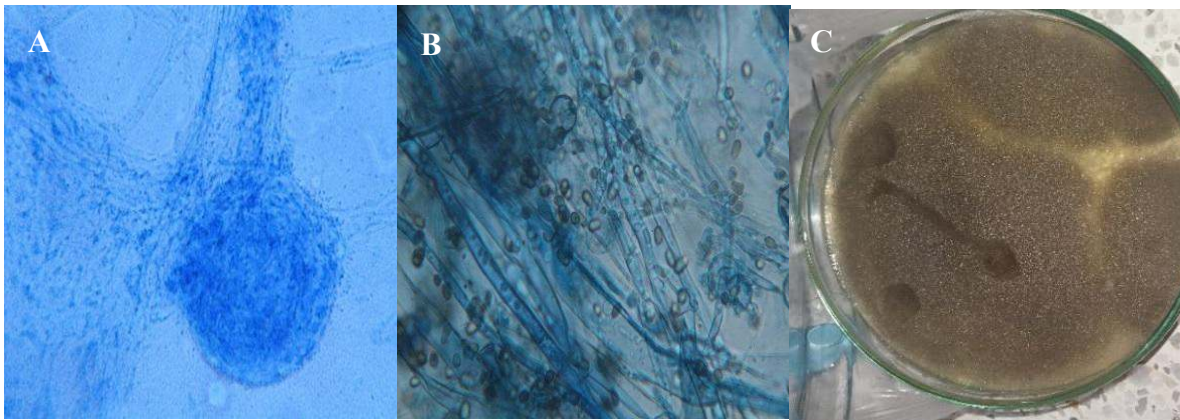


Fig. 5 A. Esporangios observado en 40x teñido con azul de lactofenol del género *Mucor*. B. Se observa esporangiosporas de color café en 40x. C. Colonia esporulada de color negro de *Mucor* sp

Tabla 3 presencia de síntomas en la prueba de patogenicidad para el género *Cándida*, en cada una de las estructuras de *T. rosea*, tiempo en días

Día de infección	Estructuras infectadas por el género <i>Cándida</i>			
Día 2				
	Control-Hoja	H-1	H-2	H-3
Día 5				
	Control-Peciolo	P-1	P-2	P-3
Día 7				
	Control-Tallo	T-1	T-2	T-3

Prueba de patogenicidad

La prueba de patogenicidad se realizó con tres géneros de hongos: *Cándida*, *Colletotrichum* y *Mucor*. Mientras que *Cándida* sp y *Colletotrichum* sp mostraron síntomas y signos de necrosis, formación de micelio, y posteriormente muerte del tejido en menos de siete días. Por el contrario, *Mucor* sp no evidenció síntomas de enfermedad similares a los observados en vivero.

El género *Cándida*, mostro muerte del tejido foliar (hojas) transcurrido un día después de la infección (Tabla 3) en las tres réplicas de la hoja H1, H2 y H3. En los otros tejidos, como es el peciolo y el tallo se evidenció la aparición de manchas de color café en los primeros días de síntomas y finalmente muerte del tejido pasado cinco días de la inoculación del microorganismo. Por lo que permite concluir que *Cándida* sp es una especie patogénica en el guayacán rosado (Fig. 6).

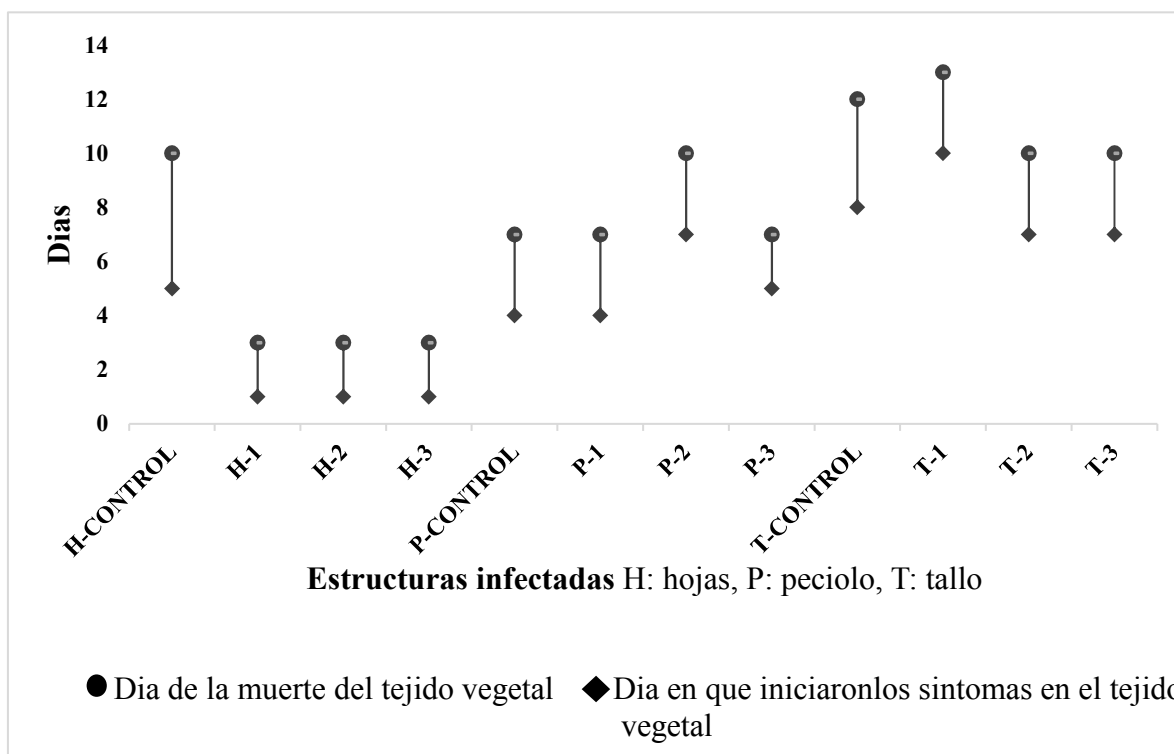


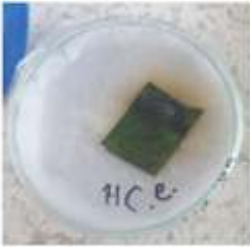











Fig. 6 Controles y réplicas de las estructuras infectadas por el patógeno de *Cándida* sp. Día en que iniciaron los síntomas y el día de la muerte del tejido 3 vegetal.

(Días tras inoculación en lugar de solo días. Marcar con una señal el inicio de síntomas y la muerte del tejido)

Colletotrichum sp en las réplicas de las hojas H2 y H3 (Tabla 4) evidenció muerte del tejido vegetal transcurridos dos días después de su infección. La réplica H1

mostró síntomas en las mismas fechas, pero el deterioro del tejido se desarrolló con lentitud. Las réplicas de los tallos y los peciolos P1, P2, P3 y T1, T2, T3 presentaron muerte por necrosis, pero a su vez las réplicas de P-CONTROL y T-CONTROL exhibieron los mismos síntomas, por lo que no permite concluir totalmente que *Colletotrichum* sp sea un patógeno para *T. rosea* (Fig. 7)

Tabla 4. Días en que se evidenciaron los primeros síntomas en la prueba de patogenicidad para el género *Colletrothricum*, en cada una de las estructuras de *T. rosea*

Día de infección	Estructuras infectadas por el género <i>Colletrothricum</i>			
Día 2	 <p data-bbox="548 842 602 871">HC.e</p>	 <p data-bbox="818 856 846 886">H1C</p>	 <p data-bbox="1040 848 1068 877">H2C</p>	 <p data-bbox="1284 852 1328 882">H3C</p>
	Control-Hoja	H-1	H-2	H-3
Día 5	 <p data-bbox="537 1171 613 1201">T0.C</p>	 <p data-bbox="813 1188 841 1218">P1C</p>	 <p data-bbox="1040 1167 1084 1197">P2C</p>	 <p data-bbox="1263 1167 1307 1197">P3C</p>
	Control-Peciolo	P-1	P-2	P-3
Día 7	 <p data-bbox="532 1520 586 1549">T0C</p>	 <p data-bbox="878 1478 906 1507">T1C</p>	 <p data-bbox="1024 1541 1068 1570">T2C</p>	 <p data-bbox="1284 1520 1312 1549">T3C</p>
	Control-Tallo	T-1	T-2	T-3

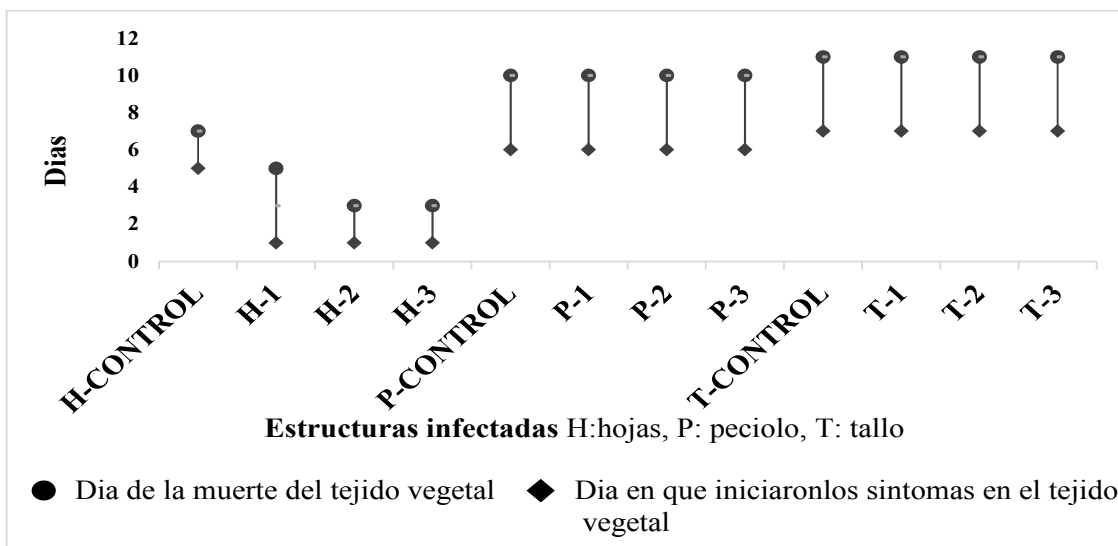


Fig. 7 Controles y réplicas de las estructuras infectadas por el patógeno de *Colletotrichum* sp. Día en que iniciaron los síntomas y el día de la muerte de la estructura vegetal.

Tabla 5 Días en que se evidenciaron los primeros síntomas en la prueba de patogenicidad para el género *Mucor*, en cada una de las estructuras de *T. rosea*

Día de infección	Estructuras infectadas por el género <i>Mucor</i>			
Día 6				
	Control-Hoja	H-1	H-2	H-3
Día 6				
	Control-Peciolo	P-1	P-2	P-3
Día 8				
	Control-Tallo	T-1	T-2	T-3

El tercer género de hongo identificado como *Mucor*, no se considera un patógeno directo para *T. rosea*, debido a que su prueba de patogenicidad no evidencia síntomas en el tiempo establecido ni síntomas diferentes a la prueba de control. A partir del sexto día tanto las hojas como los peciolo, en todas las réplicas se evidenció

muerte del tejido, lo que nos indica una muerte por aislamiento y no por un patógeno (Tabla 5). Para la estructura de los tallos (Fig. 8) se puede observar que los síntomas aparecen un día después que las estructuras anteriores y su tiempo de muerte sucede dos días después, igual que la prueba de control.

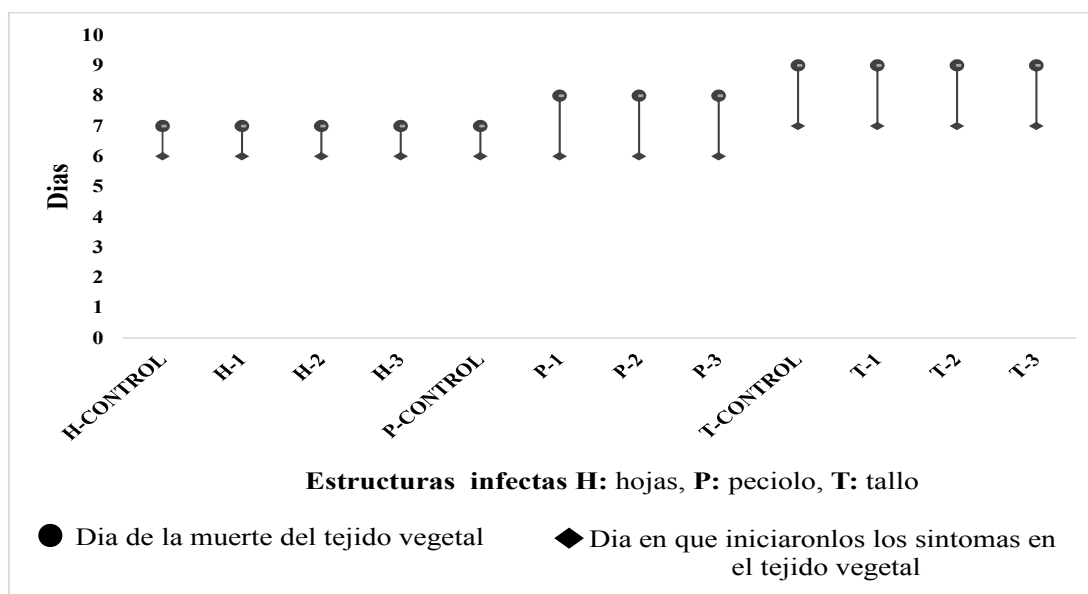


Fig. 8 Controles y réplicas de las estructuras infectadas por el género *Mucor*, día en que iniciaron los síntomas y el día de la muerte de la estructura vegetal.

Valor porcentual del tejido afectado en relación con la altura

Anova de un factor

De los 21 individuos evaluados el 62% presentaba tamaños menores a lo establecido en la literatura (>69,83 cm), y el 38% se encontraban en el tamaño normal o sobrepasaba la altura de un cultivo de aproximadamente 11 meses.

Montes, en el 2009 establece que a los 330 días *T. rosea* alcanza una altura >69,83 cm sin ningún daño. Teniendo como referencia la altura mencionada anteriormente, se obtuvo con la ANOVA de un factor un nivel de significancia < 0.006 indicando que las diferencias de medias entre la altura normal y la altura afectada tiene relación con el porcentaje de necrosis que presenta el cultivo (Fig. 9).

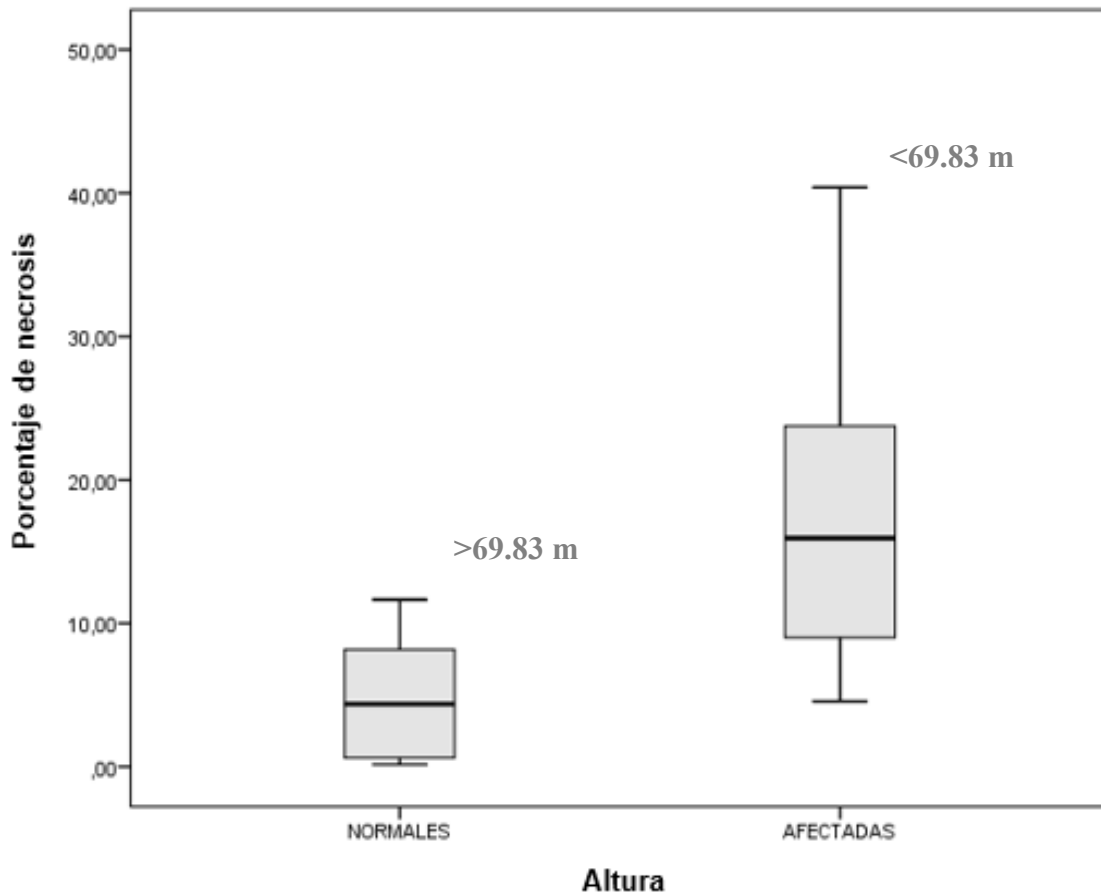


Fig. 9. Relación entre el porcentaje de necrosis y la altura del cultivo, la cual agrupo en dos categorías: **Altura normal** son aquellos individuos que están por encima de >69,83 m de alto. **Altura afectada** son aquellos individuos que miden menos a <69,83 m.

Kruskal-wallis

A la hora de corroborar la distribución de los datos se hizo uso de una prueba de Kruskal-wallis, que consiste en comparar poblaciones cuyas distribuciones no son normales. Sin embargo, el Anova de un factor es un análisis muy robusto y sólo se ve afectado cuando las desviaciones típicas difieren en gran magnitud.

El análisis de Kruskal-wallis concluye que la distribución del porcentaje de necrosis no es la misma entre la categoría de altura, indicando un nivel de significancia menor a 0,05, a mayor porcentaje de necrosis menos es la altura en los individuos.

DISCUSIÓN

Las interacciones entre una planta y un microorganismo pueden mostrar varios tipos relaciones: que van desde aquellas altamente perjudiciales para el hospedante, hasta las que benefician tanto al hospedante como al microorganismo. Como consecuencia de una estrecha coevolución, muchos microorganismos se desarrollan de una forma patogénica solo en un ámbito limitado de

hospedantes (9); en el caso de *T. rosea*, la cual presenta diversos patógenos asociados a diferentes etapas fenológicas, la sintomatología evidenciada en campo (Tabla 1), permite dar un panorama de los diferentes síntomas y signos que se evidencian externamente en los individuos. Al realizarse las pruebas de patogenicidad, se aclara que varios de los síntomas no son consecuencia directa de los patógenos, sino del efecto que tiene el patógeno sobre el hospedero en ciertos ambientes.

El patógeno no puede entrar al susceptible debido a características anatómicas especiales de la planta. Cuando estas características se modifican en una dirección favorable para el patógeno, este queda capacitado para entrar al susceptible y causar enfermedad; a esto le llamamos resistencia estructural o mecánica (10). Al darse esta resistencia estructural, se da un debilitamiento total de cada individuo, permitiendo la llegada de otros patógenos en diferentes estructuras de la planta, lo que se conoce como asociación ecológica entre diferentes patógenos.

El primer patógeno, *Meloidogyne* sp, perteneciente a la familia Heteroderidae, aislado de la raíz de *T. rosea*. A pesar de la cantidad de especies de *Meloidogyne* conocidas hoy día, y que ha ocasionado dificultades en la identificación morfológica aún para expertos taxónomos (6) se logró identificar mediante, medidas morfométricas, a uno de los géneros de nematodos fitopatógenos, considerados como uno de los principales constituyentes en plagas agrícolas con una gran variedad de cultivos (11) de importancia económica, altamente adaptados como parásitos obligados. Tienen distribución cosmopolita y parasitan cada especie de planta superior. Típicamente se reproducen y alimentan en células modificadas dentro de la raíz de la planta, donde ellos inducen pequeñas o largas agallas (12). Se considera que la supervivencia de las plántulas está estrechamente relacionada con la capacidad de poseer un amplio sistema radical que les proporcione una superficie mayor para la obtención de agua y nutrientes; debido a las agallas o deformidades que ocasiona este nematodo a la raíz del guayacán rosado, hay posibilidad de que haya problemas de desarrollo en la raíz y transporte de nutrientes (13).

El ataque de nematodos del complejo *M. incognita* y *M. javanica* han provocado grandes pérdidas en la producción de estas plantas durante la etapa de vivero, lo cual ha limitado su uso e implementación en el campo (14). Debido al parasitismo de este nematodo se aumenta la susceptibilidad de la planta a la presencia de otros patógenos (15). *Meloidogyne* es un problema importante en vivero, lo que constituye en muchos casos la principal vía de deserción (16), atacando las plantas hasta ocasionarles la muerte en corto tiempo (17).

La identificación morfológica de las hembras se caracteriza por presentar una forma corporal en la mayoría de las especies periforme y otras ovaladas. Según Eisenback en 1983 (17), los patrones perineales constituyen el rasgo morfológico más importante en la identificación de especies: la posición del poro excretor. Por lo anterior, las hembras no están sujetas a los mismos parámetros de identificación morfométrica que los machos y juveniles (18); debido a que este corte requiere la observación en el microscopio de barrido no se logró identificar la especie. Hasta la fecha se han reportado dos especies del género *Meloidogyne* para el guayacán rosado *M. incognita* y *M. javanica*.

En el Tabla 2 se describen los valores de la morfometría de los machos en estado cecil que se encontró en este estudio. Para la longitud del cuerpo (L) obtenida

fue muy similar a los promedios reportados por Peraza-Padilla y colaboradores en 2013 (6); pero mayores a los reportados por Kofoid y White en 1919 y Chitwood en 1949 (7,8). Peraza-Padilla y colaboradores mencionan que existe la posibilidad de encontrar variabilidad en los parámetros.

Las medidas del ancho máximo del cuerpo (MBW), ancho del cuerpo a nivel del ano (ABW), ancho de región labia (LRW), Longitud de la cola (LC), y las medidas relacionadas (L/BMW), (L/LC), (LC/ABW) estuvieron dentro de los promedios reportados por Peraza-Padilla y colaboradores en el 2012 (6); además se menciona que las algunas diferencias en cuantos a las medidas morfométricas, pueden estar ligadas a factores ambientales que influyen directamente con el desarrollo de los estados juveniles. La presencia del género *Meloidogyne* como fitopatógeno en el guayacán rosado para el departamento de Risaralda es el primer reporte.

En cuanto a la caracterización de la sintomatología se logró identificar la presencia de siete síntomas (Tabla 1), y en la prueba de patogenicidad para *Colletotrichum* sp y *Candida* sp se evidenciaron dos de los siete síntomas reportados en campo: la necrosis en la hoja, y cambios de color en el pecíolo. De los tres hongos patógenos identificado solo los dos mencionados anteriormente mostraron afecciones en menos de 7 días en los órganos de la planta de *T. rosea*. *Mucor* sp, en cambio, mostró síntomas ocasionados por el aislamiento luego de los 7 días de seguimiento, por ende, se descartó como un patógeno potencial para el guayacán rosado.

Colletotrichum sp en general presenta antracnosis en hojas, tallos y frutos en pre y postcosecha (19). Las especies del género *Colletotrichum* son reconocidas como los principales patógenos que causan infecciones latentes. Los apresorios son conocidos por formar discos adhesivos que se fijan a la superficie de la planta y permanecen latentes hasta que suceden cambios fisiológicos. Kim y colaboradores en 2004 (20) reportaron diferentes especies de *Colletotrichum* que causan la enfermedad en diferentes órganos de las plantas. Por ejemplo: *C. acutatum* y *C. gloeosporioides* infectan frutos de ají en todas sus etapas de desarrollo, pero usualmente no se encuentran en hojas o tallos, los cuales son principalmente afectados por *C. coccodes* y *C. dematium*.

Casi todas las levaduras son saprofitas, y sus actividades, provechosas para el hombre. Pero existen también algunas especies que pueden causar enfermedades en

las plantas y en los animales. Las levaduras patógenas, en los vegetales, pueden infectar y producir manifestaciones patológicas en ciertas frutas y verduras. En las últimas décadas se ha observado un incremento de las infecciones fúngicas invasoras ocasionadas por levaduras en organismos vegetales (21).

Al estudiar la ecología de las levaduras del género *Candida* y sus diversos ecosistemas, debemos referir que existen especies eurítopas, que viven en varios hábitáculos; al contrario de otras, estenótocas, de distribución limitada (22). Tal es el caso de *C. albicans*, que tiene una distribución amplia y la cual Winner y Hurley, en su libro “*Candida albicans*”, en el capítulo sobre Ecología; refieren que esta levadura vive como comensal o patógeno en varios animales, también en el suelo y agua, siendo raro su aislamiento del aire atmosférico.

La presencia del género *Candida* en la naturaleza está dado generalmente por sustancias ricas en hidratos de carbono simples. Mestre en el 2011 (23) menciona que algunas especies del género *Candida* tienen cierta afinidad a fuentes asociadas a la fracción ectomicorrizósfera, debido a la importancia que tienen las poblaciones de levaduras en la conservación de la fertilidad de los suelos por su participación en el ciclo del carbono y otros nutrientes, y su contribución al mantenimiento de la estructura del suelo mediante la formación de cápsulas y biofilms.

Para la identificación de levaduras (de importancia comercial o de salud) del género *Candida*, mediante cultivos con sustratos cromogénicos, ha demostrado su indudable valor como herramienta para el diagnóstico presuntivo de levaduras, con el objetivo de evaluar la utilidad del medio cromogénico (21). Este medio cromogénico marcó la presencia de una levadura del género *Candida*, pero no se logra identificar la especie.

La hipótesis de que el área foliar afectada puede ocasionar reducción en la altura de los individuos (24) establece que a los 330 días *T. rosea* alcanza una altura >69.83 cm sin ningún daño. Las plántulas de guayacán rosado que se encontraron en el vivero “Jaimar Soluciones Ambientales” evidencian tamaños menores a lo establecido anteriormente, además de pérdida del área fotosintética por necrosis. Debido a que el área foliar

específica es una de las principales variables que afectan el crecimiento de las plantas por favorecer cambios en la razón del área foliar y en la eficiencia fotosintética (25), se logró observar en la anova de un factor (Fig. 1) que los individuos con daño en el área foliar tienen alturas menores a lo establecido en un periodo no mayor a un año, en comparación con los individuos que tienen tamaños normales (sin daño en las hojas); con un nivel de significancia <0,05 se demuestra que existe una relación entre el tamaño del área foliar y la altura. Según Teruel en 1995 (26) y Costa en 1999 (27), se dice que el área foliar es uno de los parámetros más significativos en la evaluación del crecimiento de las plantas. Su adecuada determinación durante el ciclo del cultivo posibilita conocer el crecimiento y el desarrollo de la planta, la eficiencia fotosintética y, en consecuencia, la producción total.

Pennington y Sarukhán en 1998 (28) determinan que *T. rosea* tiene un crecimiento rápido y sin interrupción en ningún tiempo del año, pero presenta susceptibilidad a condiciones ambientales o mecanismos de plantación. Las plántulas de guayacán rosado sin daño alguno reflejan en su desarrollo un incremento en la altura y diámetro, lo que les permitió una mayor capacidad de sobrevivir a condiciones adversas (28). Las manifestaciones fenotípicas de estrés como las deformaciones, el amarillamiento, manchas, necrosis, entre otros, bajo el concepto de estrés está definida como una desviación significativa de las condiciones óptimas para la vida. Dichas condiciones ocasionan cambios en todos los niveles funcionales de los organismos y alteran el estado de desarrollo fisiológico de las plantas (29).

Conclusión

En este trabajo se reportan dos nuevos géneros de hongos patógenos para *T. rosea* evidenciado en la prueba de patogenicidad: *Colletotrichum* y *Candida*, ocasionando efectos necróticos en el área foliar de esta planta forestal en vivero. También se permitió corroborar que el género *Meloidogyne* es un patógeno severo en el guayacán rosado que ocasiona anomalías morfológicas en la raíz, pero siendo el primero reporte para el departamento de Risaralda. Por último, se deja a futuros estudios como es la relación ecológica entre diferentes patógenos en un mismo hospedero y cómo esto contribuye a la muerte de los individuos.

Referencias

1. Pinzón F. P.O., (1996). Diagnóstico de Plagas y Enfermedades Forestales Recomendaciones para la Toma de Muestras. 1-2 p.
2. Marciales C., M., S.; Bermúdez R., A., C. (2006). Bacterias endófitas de *Cordia alliodora oken* y *Tabebuia rosea Bertold* D.C: potencial como promotoras del crecimiento vegetal en la propagación de hospedero. Bogotá. 1-2 p.
3. Vergel D.M.; Leguizamon J.E; Cortina G.H.; Torres T. E. (2000). Reconocimiento y frecuencia de *Meloidogyne* spp. en una localidad de la zona cafetera central de Colombia. *Cenicafe*; 51(14): 285-295,
4. Ospin, C.M.; Hernández R.J.; Yandar S.E.; Aristizabal F.A.; Rincón E.A.; Gil Z.N.; García J. c.; Paterina N.M. (2008). El Guayacán Rosado o roble /*Tabebuia rosea*/ (Bertol) DC. Guías silvicultura para el manejo de especies forestales con miras a la producción de madera en la zona andina colombiana. *Cenicafe*. 31-41 p.
5. Castro L.Y., Forero L.M., (2010) Identificación de hongos fitopatógenos asociados al roble (*Quercus humboldtii* BONPL.), en los municipios de Encino (Santander), Arcabuco, y Tipacoque (Boyacá). *Revista Colombia Forestal* Vol. 13 (2): 347-356
6. Peraza-Padilla, W.; Rosales Flores, J.; Esquivel-Hernández, A.; Hilje Rodríguez, I.; Molina Bravo, R.; Castillo Castillo, P. (2013). Identificación morfológica, morfométrica y molecular de *Meloidogyne* incognita en higuera (*Ficus carica* L.) en costa rica. *Agronomía Mesoamericana*; 24(2):337-346 <https://doi.org/10.15517/am.v24i2.12533>
7. Kofoid C. A.; White, W. A. (1919). A new nematode infection of man. *JAMA*. 72:567-569.
8. Chitwood, B. (1949). Root-knot nematodes, part I. A reviews of the genus *Meloidogyne goeli*, 1887. *Proc Helminthol Soc Wash*; 16(2):.90-114
9. Ordeñana K. M. (2002). Mecanismos de defensa en las interacciones. *Manejo Integrado de Revista Manejo Integrado de Plagas*. 63, 22-32
10. Stakman E. y Hart H. (1933). The nature of resistance of cereals to rust. 3rd Int Congr Comp Path Rept 12: 253-266.
11. Goeldi, E. (1892). Relatorio sobre a molestia do cafeeiro na provincia de Rio de Janeiro. *Arquivos doo Museu Nacional*, 8.
12. Perry R.; Moens M. (2009). *Root-Knot Nematodes*. First edition. CABI, Pp 483.
13. Kennard D., Guold, F., Putz, T., Fredericksen, T., y Morales, F. (2002). Effect of disturbance intensity on regeneration mechanisms in a tropical dry forest. *Forest Ecol Manag*; 162:197-208
14. Erazo S.; y Rivillas Osorio C. (2006). Interacciones de las Micorrizas Arbusculares (MA) Con *Meloidogyne incognita* y *Meloidogyne javanica* en raíces de *Tabebuia rosea*. *Rev cienc agric*. 23(1 y 2), 26-53..
15. Castillo Marroquin J. H. (2014). Identificación de especies de *Meloidogyne* spp. Presentes en el municipio de Patzicía, Chimaltenango . (Tesis de grado), 22. <http://biblio3.url.edu.gt/Tesario/2014/06/14/Castillo-Jose.pdf>
16. Carneiro R.; Randig O.; Almeidar M.; Gómez, A. (2004). Additional information on *Meloidogyne ethiopica* Whitehead, 1968 (Tylenchida: Meloidogynidae) a root-knot nematode parasitising kiwi fruit and grape-vine from Brazil and Chile. (Tesis de grado) *Nematology*, 109-128
17. Hirschman, H. (1983). Scanning electron microscopy as a toll in nematode taxonomy. In *Concepts nematode systematics*. Academic Press, New York, 98-111.
18. Escobar Moreno C. A. (2006). Determinación de Especies y Patotipos de *Meloidogyne*, En Kiwi (*Actinidia deliciosa*) y Tomate (*Lycopersicon esculentum*), Mediante el Test de Hospederos Diferentes. (Tesis de grado), Santiago-Chile, http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/101835/escobar_c.pdf?sequence=4&isAllowed=
19. Santacruz Delgado C. X. (2013). Caracterización morfológica, patogénica y molecular de especies de *Colletotrichum* spp. Causantes de la Antracnosis del Fruto de Aji y *Pimenton Capsicum* spp. En el Valle del Cauca. (Tesis de Maestría), 22-23. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/21741>.
20. Kim K. H., Yoon J. B., Park H. G., Park E. W., Kim Y. H. (2004). Structural modifications and programmed cell death of chili pepper fruit related to resistance responses to *Colletotrichum gloeosporioides* infection. *Phytopathology*, 94(12), 1295-1304

21. Alfonso C.; López M.; Arechavala A.; Perron, M.; Guelfand L.; y Bianchi M. (2010). Identificación presuntiva de *Candida* spp. y de otras levaduras de importancia clínica: utilidad de Brilliance Candida Agar. *Rev Iberoam Micol.*;27(2):90–93.
22. Andrade M. (2014) Identificación de las especies del género *Candida* en gestantes con candidiasis vulvovaginal que acuden al Hospital Gineco-obstétrico Dr. Jaime Sánchez Porcel. *Tópicos Selectos de Química*. Pp 210-257.
23. Mestre M. C. (2011). Biodiversidad de levaduras de suelo y rizosfera asociadas a especies de *Nothofagus ectomicorrízicos* del Bosque Andino patagónico. (Tesis de Maestría). 1-4. <http://opac.uncoma.edu.ar/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=41089>
24. Montes F. M. (2009). Crecimiento inicial de especies arbóreas multipropósito en un terreno ganadero del norte de Veracruz. *Rev me. de cien. forestales*; 2(3).
25. Bultynck L.; Fiorani F.; y Lambers H. (1999). Control of leaf growth and its role in determining variation in plant growth rate from an ecological perspective. *Plant Biol*; 1(1): 13-18. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1999.tb00703.x>
26. Teruel D. (1995). Modelagem do índice de área foliar de cana açúcar em diferentes régimen hídricos. *Sci agric (Piracicaba, Braz.)*; 54:39-44. <https://doi.org/10.1590/S0103-90161997000300008>.
27. Costa M. (1999). Efeitos de diferentes lâminas de água com dois níveis de salinidade em uma cultura do meloeiro. (Tesis doctorado), Universidad de Estadual de Sao Paulo UNESP, Brasil.115 - https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/103456/barros_ad_dr_botfca.pdf?sequence=1
28. Pennington A.; Sarukhan, J. (1998). *Arboles Tropicales de México*. Manual para identificación de las principales especies. Fondo de Cultura Económica, 521 <http://www.libros.unam.mx/arboles-tropicales-de-mexico-manual-para-la-dentificacion-de-las-principales-especies-9789703216437-libro.html>.
29. Sotelo M.; Nuñez Barrios A.; Pérez Leal R.; y Hernández Rodríguez O. (2008). *Fisiología del Estrés Ambiental en las Plantas*. Synthesis, 2-3.