

INFORME FINAL PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN
TIPO Artículo

I. INFORMACIÓN GENERAL

NOMBRE DEL PROYECTO: Tolerancia de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener; *Passiflora maliformis* y *Passiflora alata* Curtis a *Fusarium oxysporum* inoculadas con biocontroladores

Investigador principal	Jorge Iván Jaramillo Herrera
Tutor / Cotutores	Bertha Myriam Gaviria-Gutiérrez; Jaime Andrés Gutiérrez-Monsalve y Dagoberto Castro-Restrepo
Grupo de Investigación	Grupo Sanidad Vegetal GISAVE, Grupo de Investigación en Ingeniería Multidisciplinar GIMU; Grupo de Biotecnología Vegetal

II. INFORME GENERAL DEL PROYECTO

TÍTULO

Tolerancia de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener; *Passiflora maliformis* y *Passiflora alata* Curtis a *Fusarium oxysporum* inoculadas con microorganismos biocontroladores

RESUMEN

En Colombia, el incremento de nuevas áreas de siembra en fruticultura se ha convertido en uno de los sectores generadores de empleo y bienestar familiar. En la producción de pasifloras, el fruto se destina al consumo en fresco y procesado en mercados nacionales y de exportación. Sin embargo, en los cultivos se están presentando altos porcentajes de mortalidad principalmente a causa de la enfermedad conocida como secadera o fusariosis transmitida por *Fusarium oxysporum*, de la cual, hasta el momento poco se conoce sobre variedades tolerantes. Por otro lado, los tratamientos de control químico han mostrado poca eficacia en la reducción de los síntomas de la enfermedad, razón por la cual el uso de agentes de control biológico se presenta como una alternativa y se hace necesaria su evaluación como estrategia de control. El objetivo del presente trabajo fue evaluar bajo las condiciones del invernadero de Sanidad Vegetal de la Universidad Católica de Oriente SVUCO y en un diseño al azar sin restricciones en bolsas, la respuesta a la aplicación de microorganismos endófitos o biocontroladores comerciales como Hongos Formadores de Micorrizas (HFMA), *Trichoderma* spp y *Bacillus* spp sobre la tolerancia al patógeno en plántulas de maracuyá *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener y dos portainjertos potenciales como Cholupa (*Passiflora maliformis*) y Maracua (*Passiflora alata* Curtis). Los resultados mostraron susceptibilidad de las variedades de pasiflora al patógeno *Fusarium* sp., ya que los síntomas de amarillamiento, muerte de plantas y presencia del patógeno al ser reaislado en medio de cultivo Papa Destosa Agar Acidificado (PDA-A), fueron evidentes en este estudio. Sin embargo, en las variables de peso fresco de follaje y raíces, no se observaron diferencias estadísticas significativas al ser sometidas al control químico Fosetil (T3) o a los biocontroles comerciales a base de *Trichoderma*, Micorrizas y *Bacillus*.

Palabras Clave: Pasifloraceas, Fusariosis, Hongos Formadores de Micorrizas (HFMA), *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp.

ABSTRACT

In Colombia, the increase of new planting areas in fruit growing has become a sector that generates employment and family welfare.

In passionflower production, the fruit is destined for fresh and processed consumption in domestic and export markets. However, high mortality rates are occurring in the crops, mainly due to the *Fusarium oxysporum* disease, of which little is known about tolerant varieties. On the other hand, chemical control treatments have shown little efficacy in reducing the symptoms of the disease, which is why the use of biological control agents is presented as an alternative, and its evaluation as a control strategy is necessary. The objective of the present work was to evaluate under the conditions of the plant health greenhouse of the Universidad Católica de Oriente SVUCO and in a randomized design without restrictions, the response to the application of endophytic microorganisms or commercial bio-controllers such as Mycorrhiza Forming Fungi (MFMA), *Trichoderma* spp and *Bacillus* spp on the tolerance to the pathogen in passion fruit seedlings *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener and two potential rootstocks such as *Cholupa* (*Passiflora maliformis*) and *Maracua* (*Passiflora alata* Curtis). The results showed susceptibility of passionflower varieties to the pathogen *Fusarium* sp. since the symptoms of yellowing, plant death, and presence of the pathogen, when reisolated in culture medium Papa Destosa Acidified Agar (PDA-A), were evident in this study. However, in the variables of fresh weight of foliage and roots, no significant statistical differences were observed when subjected to the chemical control Fosetil (T3) or the commercial biocontrols based on *Trichoderma*, Mycorrhizae, and *Bacillus*.

Key words: Passifloraceae, *Fusarium*, Mycorrhizal Fungi (MFMF), *Trichoderma* sp. and *Bacillus* sp.

INTRODUCCIÓN

Para la agricultura colombiana las variedades de pasifloras representan una de los principales frutales de siembra y consumo, ubicadas principalmente en zonas de vida entre los 500 y 1.200 msnm, en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá y Antioquia. En los estudios de Ocampo et al. (2007) la diversidad de especies de Pasifloraceae en Colombia se ha caracterizado en 167 especies, de la cuales 165 son nativas. Es así como es posible concluir que Colombia posee la mayor riqueza genética de estas especies, seguido por Brasil. Sin embargo, en la literatura se reporta cierto número de estudios que advierten sobre las pérdidas generadas en cultivos comerciales ocasionados por enfermedades de raíz, las cuáles han llegado a devastar hasta el 100% de la producción (Boneto-Chavarro & Sánchez-Leal, 2018). Las causas a los cuáles se les han asociado dichas enfermedades pueden ser explicadas desde la propagación en vivero, así como la escasa asistencia técnica para la implementación de paquetes tecnológicos (MADR, 2020, Miranda et al., 2009).

Entre los factores que más afectan la vida útil de las plantas se encuentra la muerte prematura o marchitez por *Fusarium oxysporum*, causada principalmente por la calidad fitosanitaria del material vegetal en la fase de vivero, la presencia del microorganismo *Nectria haematococca* Berk el cual genera mortalidad importante en plántulas, anamorfo *Fusarium solani*

Mart y *Fusarium oxysporum*, causante de la secadera o pudrición seca de raíz y del cuello, donde las plantas detienen su desarrollo (Miranda et al., 2009). *Fusarium* causan graves problemas fitosanitarios en el cultivo, debido a las podredumbres y necrosamientos que ocasionan en la raíz, obstruyendo los vasos del xilema e impidiendo la entrada de nutrientes, con la subsecuente afectación del desarrollo, marchitez y muerte prematura de la planta (Summerell, et al., 2003; Leslie y Summerell, 2006).

El género *Fusarium* pertenece al reino Fungi; phylum Ascomycota; clase Sordariomycetes; orden Hypocreales y familia Nectriaceae. Se estima que a este género pertenecen 178 especies (Leslie y Summerell 2006; Moretti, 2009; Lombard et al., 2015; Roskov et al., 2016). En relación a su morfología, las macroconidias son claves taxonómicas importantes en la identificación de especies de este género y, en muchos casos estructuras morfológicas como el conidio (macro y micro conidios) es suficiente para identificar una especie (Leslie y Summerell, 2006).

La gran variabilidad genética de este microorganismo y su amplia distribución hacen que el manejo de las enfermedades producidas por especies del género *Fusarium* resulte complicado. Por ello, en búsqueda de estrategias de manejo que contribuyan al control de este patógeno, se ha recurrido a inductores de resistencia, productos de origen botánico y microorganismos como bacterias, hongos y otros (Rodríguez y Montilla, 2001; El- Khallal, 2007). También ha sido frecuente la aparición de ciertos programas de control de la enfermedad utilizando estrategias diferentes a las químicas convencionales, las cuáles no tengan efectos de residualidad y se encuentre acompañadas de planes integrales de control fitosanitario.

Teniendo en cuenta la susceptibilidad de algunas de las especies de pasifloráceas a la marchitez por fusariosis; otras estrategias de control han optado por biocontroladores tales como los endófitos, los cuáles se aplican directa o indirectamente en el interior de los tejidos o células de una planta sin causar síntomas de enfermedad ni signos de infección (Flores-Pacheco, 2017). Los biocontroladores endófitos, son hongos o bacterias que habitan todo o parte de su ciclo de vida dentro los tejidos vivos del hospedante (Wilson,1995). *Trichoderma* es uno de los géneros de hongos filamentosos de distribución cosmopolita; considerados como hongos oportunistas, habitantes del suelo, endófitos de plantas, descomponedores de materia orgánica y parásitos de otros hongos con diversa capacidad metabólica. Se ha reportado a *Trichoderma* como el más importante agente biocontrolador de enfermedades de plantas (Evans, Holmes y Thomas, 2003; Kumar, 2012).

En el manejo de microorganismos patógenos como *Fusarium*, en algunas investigaciones se plantea que la simbiosis entre plantas y hongos micorrícicos arbusculares se caracteriza por el intercambio bidireccional de sustancias, estos hongos son capaces de establecer una interacción íntima con las raíces de la mayoría de las especies de plantas terrestres (Heckman et al. 2001; Schweiger y Müller 2015). La familia Glomeraceae ha sido renombrada recientemente como *Rhizophagus* (Kürger,2012); la asociación mutualista entre endófitos y hospedero, hace que estos hongos filamentosos inherentes a las plantas le sirven a la planta hospedero, y provea al hongo de alimento, hospedaje y protección. Del mismo modo, la presencia de endófitos incrementa el

potencial adaptativo a las especies vegetales hospederas frente a condiciones adversas abióticas (salinidad, acidez) y bióticas (plagas y enfermedades). En este sentido, esta investigación llevada a cabo bajo condiciones controladas de invernadero, permite contribuir al conocimiento sobre el efecto de diferentes especies de pasifloras frente a la respuesta de endófitos como biocontroladores del patógeno *Fusarium oxysporum* causante de la secadera o marchitez en diferentes estados de desarrollo de plantas, en especial algunas de las especies de Pasifloráceas.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la inoculación de microorganismos endófitos y simbioses en plantas de maracuyá *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener, cholupa *P. maliformis* y maracujá *P. alata* Curtis en respuesta a la presión de *Fusarium oxysporum* en condiciones de vivero.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la inoculación con microorganismos biocontroladores simbióticos, sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas en condiciones de vivero de Sanidad Vegetal en la UCO
- Evaluar la respuesta de las plantas de maracuyá, cholupa y maracua con la inoculación de biocontroladores comerciales *T. asperellum*; *B. subtilis* y Hongos Formadores de Micorrizas (HFMA) frente a la presencia del hongo *Fusarium oxysporum* bajo condiciones del vivero Sanidad Vegetal en la UCO.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización: El ensayo se realizó en el invernadero y Laboratorio de Sanidad Vegetal ubicado en las instalaciones de la Universidad Católica de Oriente (UCO), localizada en el municipio de Rionegro, Antioquia, a 6° 9' 15.2" N, 75° 22' 10.4" W y altitud de 2112 m, con una temperatura promedio de 17 °C, humedad relativa del 78% y precipitación promedio de 1800 mm/año correspondiente a la zona de vida de bosque húmedo Montano Bajo (bh-MB), de acuerdo a la clasificación de Holdridge (Holdridge, 1967)

Material Vegetal. De fruta comercial, se obtuvo la semilla sexual de maracuyá, cholupa y maracua, a la que se realizó el proceso de escarificación, fermentación y germinación de las semillas. Las plántulas se cultivaron en bolsas de almacigo con capacidad de 700 cc de suelo doblemente esterilizado al vapor y se mantuvieron en invernadero; inicialmente se fertilizaron con un producto 15-30-15 más elementos menores (1 g/planta) y cada 15 días se adicionó 50 cc de agua en suspensión acuosa al 0.2%.

Aislamientos e inoculación: El aislado de *F. oxysporum* fue recolectado de plantas de maracuyá con síntomas típicos de marchitamiento en cultivos comercial en la zona de Urabá. Después del cultivo de una sola espora, la especie fue identificada por caracterización morfológica en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de la UCO, apoyados en las claves Barnett y Hunter, (1998) y Watanabe (1994).

Para producir el inóculo, se multiplicó en caja de Petri que contenían medios de Papa-Dextrosa-Agar Acidificado (PDA A); éstas se mantuvieron en incubación durante siete días continuamente a 25 ° C. La suspensión de esporas se preparó algunos minutos antes de la inoculación. Se

agregaron 10 ml de agua destilada estéril a las cajas de Petri, y las colonias de hongos se rasparon para liberar las esporas. La suspensión resultante se filtró en una doble capa de gasa estéril, y la concentración de esporas se ajustó a 10^6 macroconidios mL^{-1} utilizando una cámara Neubauer (Figura 1)



Figura 1. A- Crecimiento de *Fusarium* en PDA A; B- Macroconidias 40X; C- Método de inoculación; D- Distribución general de plántulas de Pasifloráceas a evaluar con tratamientos.

El método de inoculación consistió en la punción en base de tallo y corte de raíces con tijera o punzón previamente sumergida en la suspensión de esporas de *Fusarium*, una concentración de 10^6 esporas/ml siguiendo el protocolo utilizado en el Laboratorio de Sanidad Vegetal UCO. Las plantas cuyas raíces se les hizo herida con las tijera y punción en tallo, sumergiendo este instrumental solo en agua estéril se utilizaron como control. Se inocularon un total de 24 plantas por tratamiento, es decir, por cada aislamiento de *Fusarium* y el control (Figura 1)

Diseño experimental: Para esta investigación se utilizó un diseño en bloques irrestrictamente al azar, con los diferentes tratamientos a evaluar (Tabla 1), se utilizaron cinco repeticiones y como unidad experimental una bolsa de almacigo plástica con 300 cc de suelo esterilizado al vapor y una plántula de 30 días de germinadas de cada una de las especies de Pasiflorácea con su respectivo tratamiento. Para el experimento se utilizaron un total de 648 unidades experimentales.

Tabla 1. Biocontroladores y tratamientos para la evaluación de *F. oxysporum* en pasifloras.

Tratamiento	Descripción
T1	Testigo absoluto o tratamiento de control sin inoculación.
T2	Testigo Negativo tratamiento con inoculación del patógeno <i>F. oxysporum</i> (1×10^6 UFC).
T3	Testigo Positivo inoculación de <i>F. oxysporum</i> y la dosis comercial de Fosetil de Aluminio
T4	Inoculación del simbiote HFMA <i>Rhizophagus aproximadamente</i> 300 propágulos/mL).
T5	Inoculación de HFMA (<i>Rhizophagus</i> - 300 propágulos/mL) más <i>F. oxysporum</i> (1×10^6 UFC).
T6	Inoculación del endófito <i>Trichoderma asperellum</i> (1×10^7 UFC).
T7	Inoculación <i>T. asperellum</i> (1×10^7 UFC) más <i>F. oxysporum</i> (1×10^6 UFC).
T8	Inoculación del endófito <i>Bacillus subtilis</i> (1×10^7 UFC)
T9	Inoculación del endófito <i>Bacillus subtilis</i> (1×10^7 UFC) más <i>F. oxysporum</i> (1×10^6 UFC).

Variables Respuesta: Ciento veinte (120) días después de la aplicación de los tratamientos se realizó en laboratorio de Sanidad Vegetal UCO, el lavado de cada planta para eliminar el exceso

de suelo. Para ello se cortó cada una en el cuello de la raíz y posteriormente se tomó el peso fresco de follaje y peso fresco de raíz (gr). Paralelamente se seleccionaron las plántulas sintomáticas en tallo y raíces, se desinfectaron con etanol al 70% e hipoclorito de sodio al 0.5 %, siguiendo el protocolo utilizado en el Laboratorio de Sanidad Vegetal UCO. Los tejidos lavados fueron sembrados en medio de cultivo PDA. Después de cinco días, las colonias fueron evaluadas para macro y microconidios con el fin de confirmar las estructuras morfológicas de *Fusarium*, apoyados en las claves Barnett y Hunter, (1998) y Watanabe (1994).

Análisis estadístico: Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza simple y a la prueba de medias Tukey, se empleó un nivel de significancia de $P < 0.05$. Se realizó para Normalidad los test de Shapiro-Wilk y Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) y para homogeneidad de varianza el test de Levene; todas estas pruebas se ajustaron a la distribución normal. Para el procesamiento estadístico se utilizó el paquete de software "R" StatR, Agricolae, PlotsR y Jamovi; todos softwares de libre licencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación del patógeno

El género *Fusarium* provoca, la fusariosis, enfermedad que produce un marchitamiento general de la planta, también llamado la «seca». Esto se produce debido a la obstrucción de los vasos del xilema; las hojas superiores se empiezan a caer, las hojas inferiores empiezan a amarillear. Inicialmente la marchitez puede ser reversible, luego se hace permanente, hasta que la planta se seca y muere. Ataca en todos los estados de crecimiento y en caso de producirse en semillero o almacigo, hacia los 120 días después de la inoculación se produce la muerte de las plántulas. En la Figura 2 se observan los síntomas pardos a necróticos internos del tallo, defoliación o ausencia y producción total de raíces.

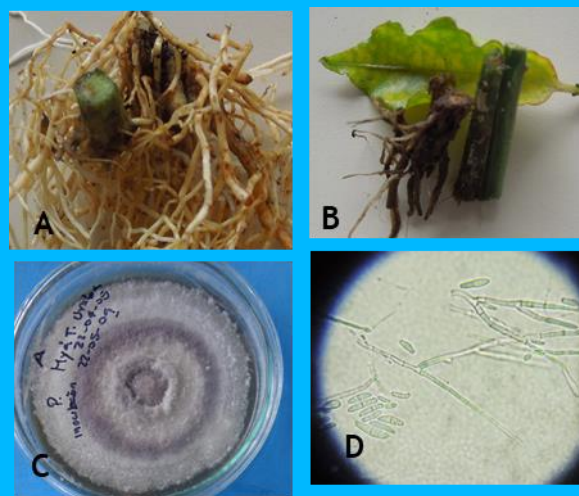


Figura 2. A- Lesión parda a rojiza interna en tallo y en algunas raíces; B- Lesión parda a rojiza interna en tallo, pudrición de raíces, amarillamiento de hojas; C- Crecimiento algodonoso del reaislamiento de *Fusarium* en PDA, procedentes de plántulas evaluadas a 120 ddi.; D- Estructuras morfológicas característicos de *Fusarium*, micelio, microconidia y macroconidias 40X

Las colonias de *Fusarium oxysporum* presentaron un crecimiento entre moderado y rápido, tienen diversos colores como blanco, rosado pálido, rojo, anaranjado, púrpura, celeste, verde-

aceituna o pardo lo cual coincide con Samson et al. (2004). Algunas especies presentan zonas concéntricas de distinta morfología macroscópica debido a la secuencia luz -obscuridad (Carrillo, 2003; Samson et al., 2004; Leslie y Summerell 2006). En la Figura 2, puede observarse la coloración entre blanco a púrpura en el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, procedente de tejidos de tallo y raíces, luego de los 120 días de la inoculación en las plántulas de maracuyá *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener, cholupa *P. maliformis* y maracujá *P. alata* Curtis bajo condiciones de invernadero, confirmando el éxito de la inoculación del patógeno y la susceptibilidad de las diferentes especies de pasifloráceas.

Efecto de la inoculación con *Fusarium oxysporum*

Con relación a la susceptibilidad de algunas pasifloráceas, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*, en el ámbito mundial son considerados como agentes causantes de la marchitez y la pudrición de cuello. Estos dos hongos han sido reportados en Australia, Brasil, Panamá, Venezuela, Kenia entre otros y sus principales hospederos son *P. edulis*, *P. foetida*, *P. mollissima*, *P. ligularis* (Holliday, 1980, ploetz , 2003; Ficher y Rezende, 2008). Los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con lo expresado en la literatura citada ya que las pasifloráceas analizadas fueron altamente susceptibles al hongo *Fusarium* sp. bajo condiciones de invernadero.

De acuerdo a la sintomatología observada en plantas enfermas, es posible concluir la existencia de la correlación entre los síntomas observados en la raíz y la sintomatología presentada en el tallo ($Valor-P \chi^2 < 0.05$). Esto se puede apreciar en la Figura 3, donde se muestra una barra ascendente superior en la condición sintomatología observada en tallo y sintomatología observada en raíz. Este resultado puede sugerir la presencia de un mecanismo de infección a través de los haces vasculares, donde desde allí se transporta de la raíz al tallo y va infectando de manera ascendente el tejido. Este hongo invade la xilema de las raíces y tallos, y produce la enfermedad que interfiere de manera importante sobre el flujo ascendente del agua a través del xilema, tal como menciona Forero et al. (2015). Es evidente que las alteraciones vasculares en los marchitamientos se deben a más de un factor. Aun cuando este macroorganismo causante de la fusariosis sea la única causa de la enfermedad. Se plantea, además, que algunos de los factores responsables del síndrome provienen directamente del patógeno, mientras que otros los origina el hospedero en respuesta al patógeno (Agrios, 2005).

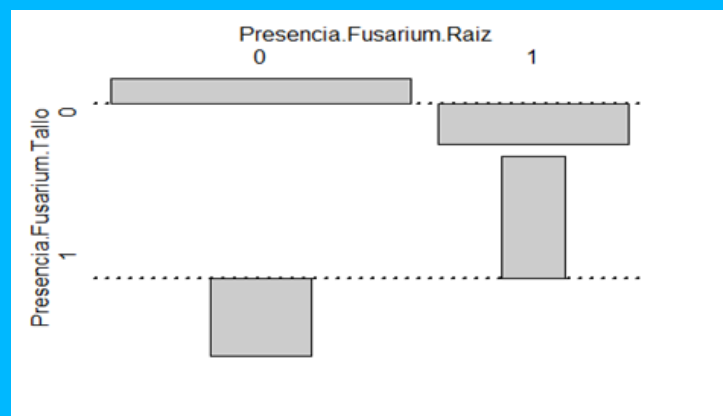


Figura 3. Presencia de *Fusarium* sp. en tallo y raíces de *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener, *P. maliformis* y *P. alata* Curtis evaluadas bajo condiciones de invernadero en eta investigación.

En la Figura 4 se muestra un análisis exploratorio que permite evidenciar el efecto de la presencia de *Fusarium* en la raíz y el tallo sobre las variables morfométricas de las especies de pasifloraceas evaluadas. El discriminante canónico, es un análisis estadístico que permite clasificar y explicar el comportamiento de una variable cualitativa en sus categorías respecto a las variables cuantitativas en un estudio multivariado. Es así como en la Figura 4, la presencia de la *Fusarium* en la raíz se caracterizó por una disminución del peso de la raíz y el peso del follaje, mientras que se observó un leve aumento de la altura de las plántulas en cm respecto a las plántulas no infectadas.

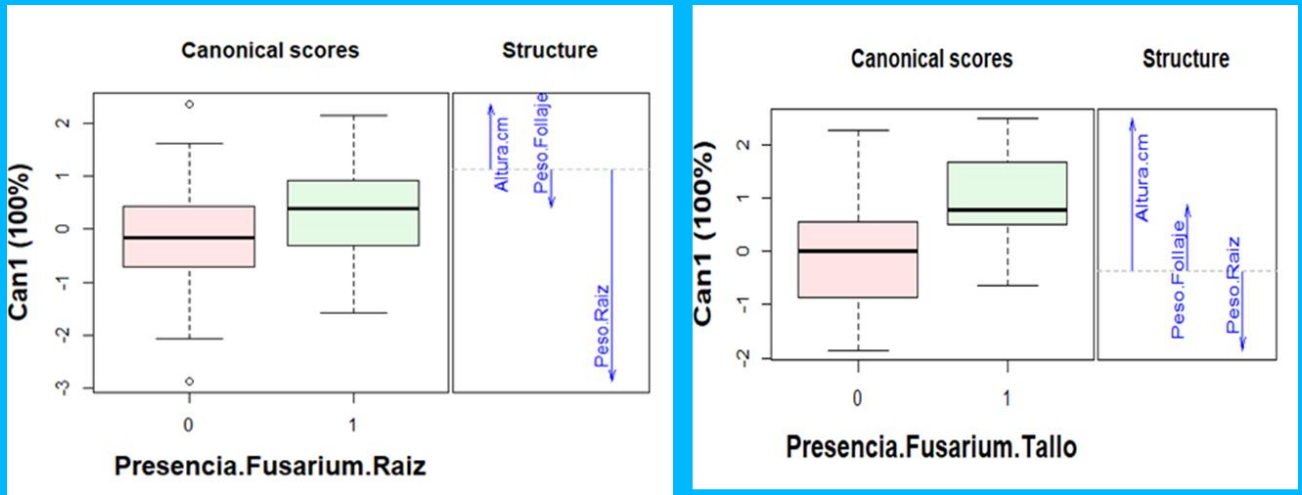


Figura 4. Presencia de *Fusarium* sp. en tallo y raíces de *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener, *P. maliformis* y *P. alata* Curtis evaluadas bajo condiciones de invernadero en eta investigación

En el caso de las plántulas en las cuáles se presentó la infección, se observó un aumento de la altura del follaje, un aumento del peso del follaje y una pequeña disminución en el peso de la raíz (Figura 4 derecha). Estos resultados sugieren que afectaciones en los tejidos vasculares y en mayor proporción los que están en contacto con el suelo como es la raíz, explica que la presencia del patógeno de la fusariosis se relaciona con un mayor peso de la raíz.

En el comportamiento de la presencia de *Fusarium* en la raíz y el tallo se observa cierta relación, sugiriendo que las plantas con *Fusarium* sp. en tallo y raíz presentaron mayor altura y menor peso de la raíz; pero al analizar peso fresco del follaje de los dos tratamientos inoculado y sin inocular, no se encontró diferencia significativa entre estos, lo que podría indicar tolerancia de estas pasifloras evaluadas, mas no resistencia.

Respuesta de las plantas de maracuyá, cholupa y maracua con la inoculación de biocontroladores comerciales

El *Fusarium* spp. en sus cepas patogénicas son difíciles de controlar debido a su habilidad para sobrevivir en la tierra durante largos períodos con o sin planta receptora, así como por ser saprofitos. En un programa de manejo de *Fusarium* sp. se debería incluir planes de prevención, prácticas culturales, saneamiento, así como estrategias de control biológico y químico. El discriminante canónico permitió identificar aquellas variables morfométricas en las tres variedades de pasifloras que más impacto tuvieron luego de ser infectadas exitosamente por *Fusarium* sp. En la Figura 5 se muestra el comportamiento de las plantas con relación a el peso de la raíz y el peso del follaje teniendo en cuenta los diferentes tratamientos y si hubo presencia del patógeno o no (Figura de barras de interacción entre los tratamientos).

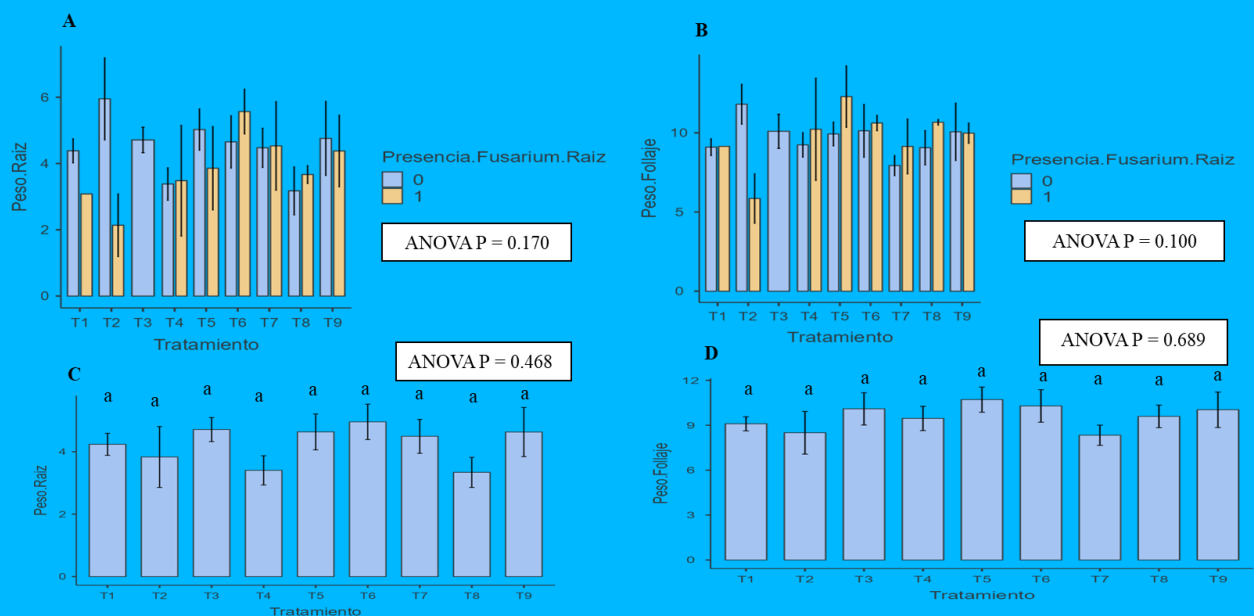


Figura 5A-D. Efecto de microorganismos biocontroladores y químico sobre *Fusarium* sp. y las variables peso fresco (g) de raíz, follaje en plántulas de *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener, *P. maliformis* y *P. alata* Curtis evaluadas bajo condiciones de invernadero en esta investigación. **5-A** ANOVA P= 0.171; **5-B** ANOVA P= 0.100; **5-C** ANOVA P= 0.0468; **5-D** ANOVA P= 0.689. Tratamientos con letras diferentes en la misma columna, indican diferencias significativas ($P > 0.05$)

Para la Figura ubicada en la esquina superior izquierda 5-A, cuando se analiza el resultado de la ANOVA P=0.710, se infiere que la interacción entre la presencia o no del patógeno y el tipo de tratamiento no presenta efectos significativos sobre la variable Peso Raíz y Peso Follaje (ANOVA P = 0.100). Sin embargo, para el tratamiento T6 (*Trichoderma asperellum*), se observa que la presencia de *Fusarium* sp. tiene un efecto en el peso de la raíz y similar relación se presenta en el tratamiento T8 (*Bacillus subtilis*), resaltándose que, en estos dos tratamientos, presenta tanto una promoción de crecimiento radicular como del follaje (Figura 4, panel superior derecho). Por el contrario, en el tratamiento T2 (*Fusarium*) relatado como testigo negativo, es mayor el peso en raíz en plantas con ausencia de *Fusarium* sp. respecto a aquellas sin el hongo, relación que se continúa en los tratamientos T1 (Testigo), T3 (Químico+*Fusarium*), T5 (Micorriza+*Fusarium*) y T9 (*Bacillus*+*Fusarium*), al parecer sin diferencias muy significativas.

En relación a el peso del follaje (Figura 5 superior derecha) en el tratamiento T5 (HFMA), las plantas que fueron inoculadas con *Fusarium* sp. fueron las que tuvieron mayor peso de follaje, igual tendencia se presentó en los tratamientos T7 y T8; condición contraria para el testigo negativo que fue el tratamiento T2 (Figura 5-B). Sin considerar el efecto de la presencia de *Fusarium* en las plantas, se observa que tanto en el peso de la raíz como en el peso del tallo no hay efectos estadísticos significativos entre cada uno de los tratamientos, según la ANOVA planteada (ANOVA Valor-P=0.468 para peso raíz y ANOVA Valor-P=0.689 para peso follaje). Aunque no se presentaron diferencias estadísticas significativas, se observan tendencias importantes para el peso de la raíz en los tratamientos T3 (Químico+*Fusarium*), T6 (*Trichoderma*) y T9 (*Bacillus*+*Fusarium*), en los cuáles el peso de la raíz fue mayor. De otro lado, en cuanto al peso del follaje, la tendencia de los tratamientos que más aportaron al peso son el T3 (Químico+*Fusarium*), T5 (HFMA+*Fusarium*), T6 (*Trichoderma*) y T9 (*Bacillus*+*Fusarium*). Con base en los resultados se plantea entonces que los tratamientos por si mismos no afectaron de manera significativa ni el peso del follaje ni el peso de la raíz, sin presentarse diferencias estadísticas en las plántulas de *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener, *P. maliformis* y *P. alata* Curtis evaluadas.

En los estudios de Perez (2000), se relaciona la efectividad con el uso de medios biológicos que estimulan el desarrollo vegetativo, entre ellos *Trichoderma* spp., porque su composición de metabolitos, promueven los procesos de desarrollo en las raíces, aunque no ha sido lo suficientemente explotado (Biocontrol, 2004). Algunos estudios realizados en otras especies de plantas se le atribuyen a *Trichoderma* la calidad de actuar como bioestimulador del crecimiento radicular, al promover un desarrollo de raíces más fuertes y sanas debido a secreciones de fitohormonas (Harman, 2001). Así mismo, las bacterias son microorganismos que cumplen con funciones vitales para el sostenimiento del suelo como ecosistema, otorgando un ambiente favorable que permite aumentar el rendimiento de los cultivos (Errington,2003)

En términos generales conociendo estudios realizados por Londoño et al., (2012) que al evaluar diferentes variedades de Pasifloras, en Palmira Valle del Cauca, mostró niveles altos de resistencia a *F. Oxysporum*, en especies como *P. alata*, *P. cincinata*; *P. maliformis*, *P. capsularis*, *P. foetida*, *P. edulis* purpura, *P. rubra*, *P. maliformis*, *P. maliformis*, *P. quadrangularis*. Así mismo, investigaciones de Menezes, (1990) Nogueira (2003) y Ficher et al (2010), Molina et al, (2005), señalan a *P. alata* como porta injertos de Passifloras comerciales con resistencia a los hongos *F. oxysporun*, *F. solani* y *Phytophthora* sp.

Por lo tanto, el desarrollo de las plantas podría favorecerse, con el uso de microorganismos biocontroladores como el género *Bacillus* sp., *Trichoderma* sp, y hongos formadores de micorrizas los cuales tienen diferentes mecanismos de acción como la solubilización de fosfatos, producción de hormonas reguladoras de crecimiento, síntesis de enzimas, inducción de resistencia y la biosíntesis de antibióticos (Romero, 2021). En la Universidad de Shanghái, utilizaron la tecnología del cultivo de dos microorganismos *T. asperellum* GDFS1009 y *Bacillus amyloliquefaciens* 1841, demostrando mediante interacciones sinérgicas que mejoraron la

producción de enzimas relacionadas con el micoparasitismo, síntesis de metabolitos secundarios y de compuestos que promueven el crecimiento de las plantas, así como la protección contra patógenos (Wu et al.,2018). En este sentido, los resultados de este ensayo pueden ser útiles para investigadores y productores de material vegetal, con el fin de incorporar biocontroladores para las plántulas de vivero o almacigo de Pasifloráceas.

CONCLUSIONES

Las plántulas de *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener, *P. maliformis* y *P. alata* Curtis evaluadas bajo condiciones de invernadero en este estudio fueron sensibles a la cepa de *Fusarium oxysporum* procedente de cultivo comercial de Maracuyá en la zona de Urabá, donde se evidenció que la presencia del patógeno afecta el peso de las raíces y por lo tanto su capacidad de absorción de nutrientes y anclaje, aunque la masa seca del follaje no se efecto respecto a las plantas sin el inóculo. Los tratamientos que correspondieron a plantas inoculadas con *F. oxysporum* y tratadas con *T. asperellum* y *B. subtilis* presentaron mayor biomasa de raíces con relación a las plantas sin infección, lo cual muestra un posible efecto de inducción de resistencia. Respecto al efecto de los tratamientos en el peso del follaje se encontró que en plantas infectadas con *F. oxysporum* y tratadas con *T. asperellum*, *B. subtilis* y los HFMA tuvieron la mejor respuesta.

RECOMENDACIONES

Es importante evaluar los resultados de esta investigación bajo condiciones de campo, en un sistema de rotación de las pasifloráceas estudiadas.

Evaluar el efecto de los microorganismos biocontroladores y el patógeno *Fusarium* sp. en otras Pasifloráceas de importancia comercial que se adapten a las condiciones agroecológica de la región.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. N. (2005). Plant pathology. 5th ed. Elsevier academic Press. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. 992 pp.
- Ángeles-Argáiz, R., & Garibay-Orijel, R. (2019). La evolución de la simbiosis ectomicorrízica desde la perspectiva genómica. *Scientia Fungorum*, 49(December), e1247. <https://doi.org/10.33885/sf.2019.49.1247>
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1998) Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th Edition, APS Press, St. Paul, 218 p.
- Boneto-Chavarro, L. Y., & Sánchez-Leal, L. C. (2018). Control biorracional de hongos del género *Fusarium*. *Biociencias*, 1(1), 77–95.

- Flores-Pacheco, J. A. (2017). Antagonismo in vitro de hongos endófitos para su uso en el biocontrol de enfermedades forestales. *Revista Científica de FAREM-Estelí*, 23, 58–71. <https://doi.org/10.5377/farem.v0i23.5475>
- Forero, R., Ortiz, E., De León, W., Gómez; J.C., Hoyos-Carvajal, L. (2015). Análisis de la resistencia a *Fusarium oxysporum* en plantas de *Passiflora maliformis* L. *Revista colombiana de ciencias hortícolas*. 9(2): 197-208.
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual* (Vol. 2, No. 10). Ames, IA, USA: Blackwell Publishing. EUA. 388p.
- Miranda, D., Fischer, G., Carranza, C., Magnitskiy, S., Casierra, F., Piedrahita, W., & Florez, L. E. (2009). Cultivo poscosecha y comercialización de pasifloráceas en Colombia. In *Sociedad Colombiana de ciencias hortícolas* (Vol. 53, Issue 9)
- Romero, F. (2021). Evaluación de la capacidad promotora de crecimiento del cultivo de *Bacillus* sp y *Trichoderma* sp, en plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) Universidad de Guayaquil.
- Roskov, Y., Abucay, L., Orrell, T., Nicolson, D., Flann, C., Bailly, N., Kirk, P., Bourgoin, T., Dewalt, R.E., Decock, W., & De Wever, A. (2016). *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life*, 29th January 2016. Digital resource at www.catalogueoflife.org/col. *Species 2000: Naturalis*, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-8858
- Samson, R. A., Hoekstra, E.S. & Frisvad, J.C. (2004). *Introduction to food borne fungi*, 7th edition. Centralalbureau voo Schimmelcultures, Utrecht.
- Sarmiento, C. H., & Maldonado, J. P. (2013). semillero, enfermedad causada por los hongos *Pythium* sp. y *Phytophthora* sp. en tomate de árbol (*Solanum betaceum*) empleando hongos antagonistas del genero. <http://www.dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/3725>
- Summerell, B. A., Salleh, B., & Leslie, J. F. (2003). A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant disease*, 87(2), 117-128.
- Watanabe Tsuneo (1994) *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. Lewis Publishers Press LLC United States of America DOI:10.1201/9781420040821Corpus ID: 56052166

Firmas,



Investigador Principal