

**RECONOCIMIENTO DE ENFERMEDADES EN GULUPA (*Passiflora edulis*
Sims) EN EL DEPARTAMENTO DE BOYACA**



**AUTOR
NATALIA MARITZA SANABRIA RODRIGUEZ**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA AGRICOLA Y VETERINARIA
DICIEMBRE 9 DE 2010**

**RECONOCIMIENTO DE ENFERMEDADES EN GULUPA (*Passiflora edulis*
Sims) EN EL DEPARTAMENTO DE BOYACA**

NATALIA MARITZA SANABRIA RODRIGUEZ

APROBADO

**María Clemencia de la Rotta
Ingeniera Agrónoma M. Sc. Fitopatología
Directora**

**Gerardo Moreno
Ingeniero Agrónomo**

**RECONOCIMIENTO DE ENFERMEDADES EN GULUPA (*Passiflora edulis*
Sims) EN EL DEPARTAMENTO DE BOYACA**

NATALIA MARITZA SANABRIA RODRIGUEZ

APROBADO

INGRID SHULER
Deacana Académica

JANETH PALACIOS
Directora de Carrera

NOTA DE ADVERTENCIA

ARTÍCULO 23, RESOLUCIÓN No 13 DE 1946.

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Sólo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vean en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”

DEDICATORIA

A Dios por ser quien ha estado a mi lado en todo momento dándome las fuerzas necesarias para continuar luchando día tras día, a mis padres cuyo afecto y comprensión ha sido mi inspiración, a mis hermanos quienes han sido mi aliciente, a Eliecer por su apoyo, amor y confianza ha sido fundamental en todos estos años de estudio y a mis más queridas amigas Lina, Juliana, Kathy y Liliana pues su consejo, ha sido parte de este esfuerzo.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
Resumen	vi
Abstrac	vii
1. Introducción	10
2. Planteamiento del Problema	11
3. Justificación	12
4. Objetivos	12
4.1 Objetivo General	12
4.2 Objetivos Específicos	12
5. Marco teórico	13
5.1 Clasificación de la gulupa	14
5.2 Ecofisiología	14
5.2.1 Temperatura	15
5.2.2 Altura	15
5.2.3 Precipitación	15
5.2.4 Suelo	15
5.2.5 Humedad Relativa	15
5.3 Descripción Botánica	16
5.3.1 Raíz	16
5.3.2 Tallo	16
5.3.3 Zarcillos	16
5.3.4 Hojas	16
5.3.5 Flores	17
5.3.6 Futo	17
5.4 Enfermedades	18
5.4.1 <i>Colletotrichum</i> spp.	18
5.4.2 <i>Cladosporium</i> spp.	18
5.4.3 <i>Alternaría</i> spp.	19

5.4.4 <i>Septoria spp.</i>	19
6. Metodología	19
6.1 Características Agro-ecológicas de la zona de estudio	19
6.2 Material Colectado	20
6.3 Análisis Microbiológico	21
6.4 Pruebas de Patogenicidad	22
6.4.1 Frutos	22
6.4.2 Hojas y Tallos	23
7. Resultados	24
7.1 Cultivos Visitados	25
7.2 Principales enfermedades encontradas	28
7.2.1 Antracnosis	28
7.2.2 Roña	29
7.2.3 Mancha Parda	30
7.2.4 Mancha parda por <i>Septoria</i>	31
7.2.5 Moho Gris	32
7.3 Identificación de Microorganismos	33
7.4 Pruebas de patogenicidad	37
7.5 Conclusiones	41
8. Recomendaciones	42
9. Referencias	43

Resumen

La gulupa *Passiflora edulis* Sims. es una planta nativa del Brasil y se ha distribuido ampliamente en los países de los Andes. El fruto es muy apetecido para el consumo en fresco debido a su sabor y aroma, también se emplea procesado y para fines medicinales. La gulupa es la tercera fruta de exportación en Colombia, después del banano y la uchuva, se comercializa a través de exportadoras y los principales países de destino son Inglaterra, Francia, Holanda, Suecia, España y Alemania. Las altitudes adecuadas para el desarrollo del cultivo están entre los 1.500 a 2.000 msnm., por ser una enredadera se debe utilizar un sistema de soporte o tutorado ya sea en forma de espaldera o emparrado. La gulupa (*Passiflora edulis* var *edulis*) es una especie vegetal promisorio como producto de exportación y por lo tanto es necesario conocer los principales problemas fitosanitarios que disminuyen su productividad. En el presente estudio se hizo la búsqueda e identificación de hongos fitopatógenos que podían afectar la gulupa en cultivos ubicados en Boyacá; el trabajo incluyó la caracterización de los síntomas en campo, la detección de los diferentes microorganismos en los principales órganos de la planta, la descripción de la morfología y pruebas de patogenicidad en cámara húmeda. Se encontró que en los cultivos de los municipios visitados, las enfermedades son muy comunes, la más frecuente se reconoció como la denominada como chancro o roña, sobre frutos, tallos, ramas y zarcillos de las plantas, seguida de antracnosis, que afecta la calidad de los frutos. Los hongos asociados con las enfermedades encontrados aislados fueron *Cladosporium*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria*, que demostraron su patogenicidad sobre los diferentes tejidos inoculados.. Se espera con este estudio hacer un aporte al conocimiento de enfermedades producidas por hongos en *Passifloras* y minimizar el impacto de los fitopatógenos en potenciales productos de exportación.

Palabras claves: *Passiflora edulis* Sims, hongos fitopatógenos, Gulupa.

RECOGNITION OF ILLNESS gulupa (*Passiflora edulis Sims*) IN THE DEPARTMENT OF BOYACA

ABSTRACT

The gulupa *Passiflora edulis Sims* is a plant native to Brazil and widely distributed to the countries of the Andes. The fruit is very tasty for fresh consumption thanks to its flavor and aroma. It is also processed and used for medicinal purposes. The gulupa is the third exported fruit in Colombia after banana and Cape gooseberry; its main markets are England, France, Holland, Sweden, Spain and Germany. It grows and produces well between altitudes of 1.500 and 2.000 amsl. As a vine, it uses a support system or tutoring in the form of either trellis or arbor. The gulupa (*Passiflora edulis var edulis*) is a promising exportation product, therefore it is important to know the main phytosanitary problems that might decrease its productivity. Through this research, the fungal pathogens that could affect crops of gulupa located in Boyacá were identified. The research included: the characterization of symptoms in the crops fields, the finding of different microorganisms in the plant's organs, the description of the morphology and the pathogenicity tests in a moist chamber. It was found that the diseases are very common in the crops visited. The most frequently found disease is called blight or scab and it is located on fruits, stems, branches and tendrils of plants. The second most common disease is the anthracnose, which affects the fruit quality. The fungi associated with the diseases were *Cladosporium*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Alternaria*, which demonstrated their pathogenicity on different tissues inoculated. This research is expected to make a contribution to the knowledge of fungal diseases in *Passiflora* and minimize also the impact of potential pathogens in exportation products.

Keywords: *Passiflora edulis Sims*, fungal pathogens, Gulupa.

1. Introducción

El género *Passifloras* spp comprende alrededor de 465 especies de las cuales alrededor de 40 se cultivan y se comercializan. Se considera que Brasil es el principal productor de frutos de pasifloras en el mundo; sin embargo, en Colombia se tiene reportado el mayor número de especies de éste género, en Venezuela se encuentra un número importante de especies silvestres, no obstante es poca la información que se tiene acerca de este género y sobre el manejo de cultivos de pasifloras en general (Aular *et al*, 2003 citado por Almeciga , 2008).

La gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) es originaria del sur de Brasil y fue ampliamente distribuida durante el siglo XIX a otros países de América del Sur, el Caribe, Asia, África, India y Australia. Esta pasiflorácea se ha constituido en una de las frutas exóticas más apetecidas en el mercado internacional, por su acidez intermedia entre el maracuyá y la granadilla, lo cual permite su consumo en fresco; además, es valorada no sólo por su sabor y aroma, sino también por su contenido nutricional, (Ocampo *et al.*, 2007, Albert 1991, citado por Castro, 2004).

En Colombia, la producción frutícola es importante comercialmente por el gran potencial que tenga tanto a nivel nacional como internacional. Las frutas ocupan los renglones de exportación más altos, siendo, después del café los bienes agrícolas de mayor exportación (Pinzón 2007). En 2006 se exportaron 37,6 millones de dólares en frutas exóticas, de los cuales 4,5 correspondieron a pasifloráceas, y dentro de este grupo, 1,9 a granadilla y 1,7 a gulupa; en este mismo año la gulupa ocupó el segundo lugar de las exportaciones colombianas de las pasifloras con una participación del 40%, superada sólo por la granadilla que representó el 50% (Angulo, 2008).

A pesar de ser una fruta que en el mercado nacional hasta ahora se está dando a conocer, ya se está exportando a Europa, ocupando el tercer renglón dentro de las frutas hacia éste mercado después del banano y la uchuva (ICA, 2003), no obstante las proyecciones para los siguientes años son de un aumento considerable en las áreas de cultivo y los volúmenes de exportación de esta fruta.

Aunque la gulupa es un frutal promisorio para su comercialización en los mercados internacionales, son muy pocas las investigaciones fitosanitarias realizadas sobre los desordenes ocasionados por insectos, hongos y hongos; además los cambios climáticos, el uso indiscriminado de plaguicidas y problemas de nutrición han llevado a que los microorganismos de acción patogénica aprovechen estas condiciones para reproducirse y causar daños de impacto económico que se observan en la disminución de la producción.

Con este trabajo se pretende fortalecer y orientar a solucionar problemas de producción agrícola y de la calidad de frutales de exportación como gulupa (*Passiflora edulis* var *edulis*).

2. Planteamiento del problema

La gulupa colombiana está ganando posicionamiento en el mercado internacional, exportando más de 700.000 kilos por año, ocupando el cuarto lugar en las exportaciones de frutales después de banano, plátano, bananito y uchuva (Cárdenas 2005 citado por Almeciga M., 2008). El abastecimiento se realiza a partir de cultivos en minifundios de Cundinamarca, Boyacá, Huila, Caldas, Santander y más recientemente, Meta. Para el desarrollo de cultivos de gulupa, se han asumido prácticas y manejos asociados con maracuyá, los cuales evidentemente no satisfacen los requerimientos debido a las diferencias marcadas entre las dos formas de *P. edulis* (Almeciga M., 2008).

Dada la importancia económica de este cultivo y la reducida o nula disponibilidad de información acerca de los diferentes agentes causales de enfermedades en el cultivo de gulupa, resulta prioritario adelantar estudios en aspectos de su biología, patogenidad, epidemiología y diversidad poblacional. El desarrollo de este tipo de investigaciones además de fortalecer el conocimiento en el área particular, permite la formulación de alternativas integradas de manejo de enfermedades que consideren aspectos relacionados con la biología de los patógenos y sus diferentes relaciones con la planta hospedante.

3. Justificación

Con respecto a patógenos asociados a cultivos de pasifloras en Colombia, solo se cuenta con un inventario de enfermedades de algunas de las especies cultivadas como, maracuyá (*Passiflora edulis* f. sp. *flavicarpa* Sims), granadilla (*P. edulis* f. sp. *flavicarpa* Sims) y curuba (*P. mollissima* L), (Burítica, 1999) pero con respecto a los patógenos de gulupa *P. edulis* f.sp. *edulis* Sims no existe actualmente información.

Con el fin de mejorar la competitividad de esta fruta, es necesario reconocer las enfermedades que ocasionan enfermedades en la planta durante la etapa de producción y que disminuyen la calidad del fruto, de esta manera se facilita al productor su manejo y se propicia la el uso de buenas prácticas que garanticen la calidad de exportación, además se espera disminuir los costos de producción, gracias a un manejo sostenible de las principales enfermedades.

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

- Conocer la etiología de las enfermedades de origen fungoso de mayor incidencia sobre los tejidos aéreos de las plantas de gulupa (*Passiflora edulis* var. *edulis*) cultivadas en el Departamento de Boyacá.

4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar y describir los síntomas asociados a las enfermedades más frecuentes que se presenten en la planta.
- Aislar y clasificar taxonómica los agentes causales de las enfermedades localizadas en los tejidos aéreos de las plantas evaluadas.
- De acuerdo con el estado de desarrollo de las estructuras de la planta que se encuentren con síntomas de alguna enfermedad, conocer las etapas más susceptibles a las enfermedades identificadas.

5. MARCO TEORICO

Las especies del género *Passiflora* se consideran originarias de la región amazónica, aunque crece de forma silvestre en un área que abarca desde el sur de Colombia hasta el norte de la República Argentina, Uruguay y Paraguay; las distintas variedades están adaptadas a regímenes más o menos tropicales. La distribución geográfica de la familia Passifloraceae es casi exclusivamente tropical y subtropical; la mayoría de las especies habitan en África y Madagascar. Sólo cuatro (4) de sus veintidós (22) géneros se encuentran en América (Albert, 1991).

En Colombia, los cultivos de gulupa se encuentran ubicados entre los 1.800 y 2.400 msnm, si bien las mejores producciones se logran alrededor de la primera altitud. Para establecer sus requerimientos edafo-climáticos se hace con referencia al cultivo de la granadilla (*Passiflora ligularis*) y como tal, la mayoría de ellos se aplican en términos prácticos para la gulupa; así se habla de rangos que van desde 1.600 hasta 2.700 msnm, con temperaturas de 16 a 24°C y precipitaciones de 1.500 a 2.500 mm (Pachón *et al.*, 2006).

De acuerdo con la información suministrada por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) sobre los cultivos destinados a la exportación, se conoce su ubicación en el país. De esta manera la mayoría de los productores se encuentran concentrados en el departamento de Cundinamarca y participan con el 80% del área sembrada y el 20% restante se ubican en forma dispersa entre los departamentos de Quindío, Boyacá y Tolima; en total se encuentran registradas a nivel nacional aproximadamente 87 hectáreas (ICA, 2006, SCCH, 2007).

El Departamento de Boyacá presenta una economía está bastante diversificada, haciendo parte el cultivo la gulupa de una gran cantidad de frutales cultivados en el altiplano cundiboyacense, donde se presentan climas fríos y templados que favorecen el desarrollo de este frutal.

Un estudio realizado por *Agrocadenas*, para la identificación de frutales promisorios como productos de exportación, reportó los diferentes frutales agroindustriales de producción para Boyacá, como la curuba, uchuva y granadilla, además superando las debilidades en

los aspectos fitosanitarios del sector; en el estudio se identificaron productos con potencial exportador de acuerdo con su capacidad de producción entre ellos la gulupa con 62.5 de área plantada en hectáreas (Asofrucol, 2008)

5.1 Clasificación de la gulupa

De acuerdo con el Instituto de Ciencias Naturales, el Herbario Nacional Colombiano, (2006), citado por Jiménez (2006), la clasificación taxonómica de la gulupa es la siguiente:

REINO: Vegetal

DIVISION: Angiosperma

CLASE: Dicotiledoneas

SUBCLASE: Archiclamydae

ORDEN: *Parietales*

SUBORDEN: Flacourtiineas

FAMILIA: *Passifloraceae*

GENERO: *Passiflora*

ESPECIE: *edulis* Sims.

5.2 Ecofisiología

5.2.1 Temperatura

Las temperaturas bajas de 15°C en el día y 10°C en la noche, reducen el crecimiento vegetativo de algunas pasifloráceas y por ende la producción de las plantas cultivadas y las temperaturas altas de 30°C en el día y 25°C en la noche pueden disminuir la producción de flores (Nakasone y Paull, 1998). En Colombia las temperaturas óptimas para el cultivo de la gulupa están alrededor de 15 a 20°C (Casas, 2006), citado por Jiménez, 2006.

5.2.2 Altitud

En Colombia la producción de gulupa está entre los 1.400 y los 2.200 msnm ya que en alturas mayores la producción se inicia entre los 12 y 18 meses y el tamaño de la fruta es menor (Guevara, 2006)

5.2.3 Precipitación

En las especies frutícolas como las pasifloras en las que la floración y fructificación se presenta todo el año, la precipitación debe estar bien distribuida en todos los meses, especialmente donde no hay facilidad para suministrar riego adicional. Cuando falta el agua en fases críticas, como brotación de yemas florales, fecundación, cuajado y llenado, los frutos quedan pequeños o se caen. Durante el periodo de floración la lluvia debe ser mínima ya que cuando el polen se moja se revienta y pierde su función, además se presenta caída de flores (Rivera *et al.*, 2002), las precipitaciones van de 1.500 a 2.500 mm (Jiménez, 2006).

5.2.4 Suelo

La gulupa se desarrolla en diferentes tipos de suelos, sin embargo prefieren suelos con texturas arenosas, pues en estos se presenta buen desarrollo y crecimiento del sistema radical. Los pH aconsejables deben estar entre 6,5 a 7,5, siendo necesarias buenas condiciones de drenaje, altos contenidos de materia orgánica y baja presencia de sales (Morton, 1987, citado por Jiménez 2006).

5.2.5 Humedad Relativa

Si en una zona existen periodos prolongados de humedad relativa (HR) alta, es aconsejable sembrar las plantas, a mayor distancia y además garantizar la aireación de la copa mediante el aclareo de ramas (Fischer, 2000). Por otra parte una HR muy baja ($\geq 40\%$) acompañada de vientos calurosos, puede originar marchitamiento de flores, deshidratación y cese de la fotosíntesis, por el cierre de los estomas a demás puede suceder la muerte de los brotes tiernos Para la mayoría de los frutales, una HR entre 65 y 75% es la más adecuada, sin embargo Murley – Bunker (1999) advierten que una HR muy alta, aumenta la susceptibilidad a enfermedades foliares y de frutos (Memorias congreso Passifloras, 2010).

Para Granadilla Garcés y Saldarriaga (1992), recomiendan una HR de 85% y otros autores como Bernal (1994), sugieren un 75% y Angulo (2008), entre 70 y 75%. (Memorias congreso Passifloras, 2010); sin embargo para los cultivos de gulupa se reporta una HR entre 75 y 80%.

5.3 Descripción Botánica

5.3.1 Raíz

El sistema radical es totalmente ramificado, sin raíz pivotante, superficial, distribuido en un 90% en los primeros 15 a 45 cm de profundidad, por lo que es importante no realizar labores culturales que remuevan el suelo. El 68% del total de las raíces se encuentra a una distancia de 60 cm del tronco, factor a considerar al momento de la fertilización y el riego (García, 2006.citado por Jiménez, 2006).

5.3.2 Tallo

El tallo es verde, trepador mediante zarcillos axilares, con un gran vigor vegetativo, angulosos cuando joven, glauco y hueco cuando adulto, las ramas jóvenes no presentan pubescencias; el pecíolo de las hojas es glauco, con canales en la parte superior de 2 a 7 cm de largo (Jiménez, 2006).

5.3.3 Zarcillos

Son redondos de forma espiral, alcanzan una longitud de 30 a 40 cm se originan en las axilas de las hojas junto a las flores; se fijan al tacto con cualquier superficie y son responsables que la planta tenga hábito trepador (Jiménez, 2006).

5.3.4 Hojas

Las hojas son alternas, trilobuladas, glabras, con bordes , aserrados, lustrosas en el haz, con dos pares de glándulas sésiles de forma circular, venación actinódroma, estomas anomocíticos, ocho nervaduras secundarias, un limbo entre 12 y 19 cm de largo y entre 9 y 16 cm de ancho (Quevedo, 1989, citado por Jiménez,).

5.3.5 Flores

Las flores son hermafroditas, con un androginóforo bien desarrollado, solitarias y se generan en las axilas, se sostienen por tres brácteas verdes; poseen 3 sépalos de color blanco verdoso, 5 pétalos blancos y una corona formada por varios filamentos que irradian hacia fuera, cuya base es de un color púrpura; su función básica es atraer insectos polinizadores. El androceo está formado por 5 estambres con anteras grandes, las cuales contienen los granos de polen que son amarillos y muy pesados, lo que dificulta la polinización anemofila, puesto que el gineceo, se ubica arriba de los estambres,

además de que existe dicogamia protándrica, es decir que las anteras maduran antes que los estigmas, el polen tiene una fertilidad del 70%. El gineceo está formado por un ovario tricarpelar, unilocular y multiovulado, con estigma tripartido sostenido por un estilo, la curvatura de este estilo al momento de la antésis da origen a tres tipos de flores: flor con estilo sin curvatura, flor con estilo parcialmente curvo y flor con estilo totalmente curvo (Almeciga,2008).

5.3.6 Fruto

Los frutos corresponden a bayas de forma globosa u ovoide con un diámetro de 0.04-0.08 m y de 0.06-0.08m de largo, la base y el ápice son redondeados, la corteza de consistencia dura, lisa y cerosa, con un espesor aproximado de 0.003 m, el pericarpio grueso, contiene un promedio de 200-300 semillas cada una rodeada de una membrana mucilaginoso. La formación del fruto se da con la etapa diferenciación, quedando estructuras persistentes como las brácteas y los rastros del triple pistilo. En este proceso el pericarpio es blando y su coloración verde con puntos blanquecinos sobre su superficie, durante este estado el fruto alcanza su tamaño definitivo, al terminar el estado de diferenciación el fruto comienza su estado de llenado en el que el arilo que rodea a las semillas comienza a hacerse mas consistente y jugoso, lo cual hace que el fruto muestre un color verde intenso en el exterior, finalizando este proceso el fruto cambia de color verde a púrpura con lo que el fruto comienza su estado final de maduración. Los frutos de estas plantas son considerados climatéricos (García. M, 2002) (Pinzón *et al*, 2007). (Citado por Almeciga M, 2008)

5.4 Enfermedades

Según Casas (2006), citado por Neira (2006) las plagas y enfermedades que se presentan en el cultivo de maracuyá son similares y causan el mismo daño en cultivos de gulupa. De acuerdo a un estudio realizado en la Universidad de Cundinamarca, encontraron a *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp. y *Cladosporium* sp. como agentes causales de la roña de la gulupa (Jiménez, 2006 *et al*, 2004).

5.4.1 *Colletotrichum*

Es uno de los principales hongos fitopatógenos limitantes en la producción de frutas tropicales en Colombia, donde los registros que se tienen de antracnosis considerada la enfermedad más severa durante la poscosecha, es causada por el hongo *Colletotrichum* spp ; cuando se presenta en el campo se desarrolla en temporadas de lluvia principalmente, afectando todos los órganos aéreos de la planta, ocasionando una severa defoliación de la misma, marchitez de las ramas y pudrición de los frutos; en ocasiones sobre las lesiones se pueden apreciar pequeños puntos de color negro que corresponden a los acérvulos (Fisher y Rezende, 2008). las hojas, se presenta en el pecíolo y a lo largo de las nervaduras; en los frutos, las lesiones son ligeramente hundidas, secas, de color café claro, de forma redondeada que al avanzar pueden ir coalesciendo, siguiendo el movimiento del agua sobre el fruto. (Franco y Zuleta, 2006). *C. gloeosporioides* es un parásito facultativo y cosmopolita perteneciente al orden Melanconiales, de la clase Coelomycetes de la división Deuteromycota, el cual ha sido asociado con infecciones quiescentes y enfermedades poscosecha en varias frutas, como aguacate, mango, papaya, pasifloras, entre otras (Agrios, 2005).

5.4.2 Cladosporium

Es uno de los más numerosos y heterogéneos de la clase Hyphomycetes (orden Moniliales) de la división Deuteromycota. *C. herbarum* se considera un saprófito que se vuelve fitopatógeno bajo varias condiciones de estrés; en Brasil, se presenta como un patógeno importante en la gulupa, reduciendo la producción y la calidad de la fruta, también en Australia se registra a *C. oxysporum* como uno de los agentes que ocasiona los chancros o roñas sobre frutos. Se ha demostrado que varios factores ambientales favorecen la esporulación, entre ellos altas temperaturas, alta humedad relativa y lluvia antes de la diseminación de las esporas. (Crous *et al.*, 2007, Barbosa *et al.*, 2001 citado por Castro 2004)

5.4.3 Alternaria

La mancha parda tiene alta incidencia en zonas de alta precipitación, es ocasionada por *Alternaria* spp. de la cual se han reportado nueve especies capaces de causar enfermedad en Passifloras: *A. passiflorae*, *A. alternata*, *A. macrospora*, *A. aliena*, *A. aragakii*, *A. hawaiiensis*, *A. tenuissima*, *A. tropica*, *A. guangxiensis* y *A. bannaensis*. Sin

embargo, son las dos primeras especies los agentes más comunes de producir síntomas de mancha parda. En frutos, la enfermedad se empieza a expresar síntomas catorce días después de la infección con *A. passiflorae* y cinco a nueve días con *A. alternata*. *A. passiflorae* ocasiona manchas circulares de color marrón rojizo, hundidas en frutos cuando aun están inmaduros, pueden afectar la pulpa disminuyendo su valor comercial; en cambio, *A.alternata* produce manchas de color verde grisáceo, oscuro y grasoso . (Buritica P. 1999)

5.4.4 Septoria

En el caso de la septosiosis, se han reportado tres especies de *Septoria* de ocasionar enfermedad en pasifloras: *S. fructigena*, *S. passiflorae* y *S. passifloricola*. Las hojas son las estructuras de las plantas de maracuyá más susceptibles a la septoriosis, una sola lesión puede llegar ocasionar la caída de la hoja. La propagación de las conidias se lleva a cabo por el agua de rocío y por insectos; el hongo sobrevive en tejidos infectados con ayuda de un mucílago. Las lluvias prolongadas y suaves favorecen el desarrollo de la enfermedad (Buriticá, 1999).

6. Metodología

6.1 Características Agro-Ecológicas de la Zona de Estudio:

Esta investigación se realizó el Departamento de Boyacá, (Fig.1) Colombia, en cinco cultivos de gulupa (***Passiflora edulis Sims***) ubicadas en los municipios, Garagoa (*vereda Quinua Arriba*), Miraflores (*vereda San Antonio*), Buenavista (*vereda Patiño*), Ramiriqui (*vereda Viracacha*), Boyacá (*vereda Soconzaque - Huertas*) y Sotaquirá (*vereda El Manzano*).

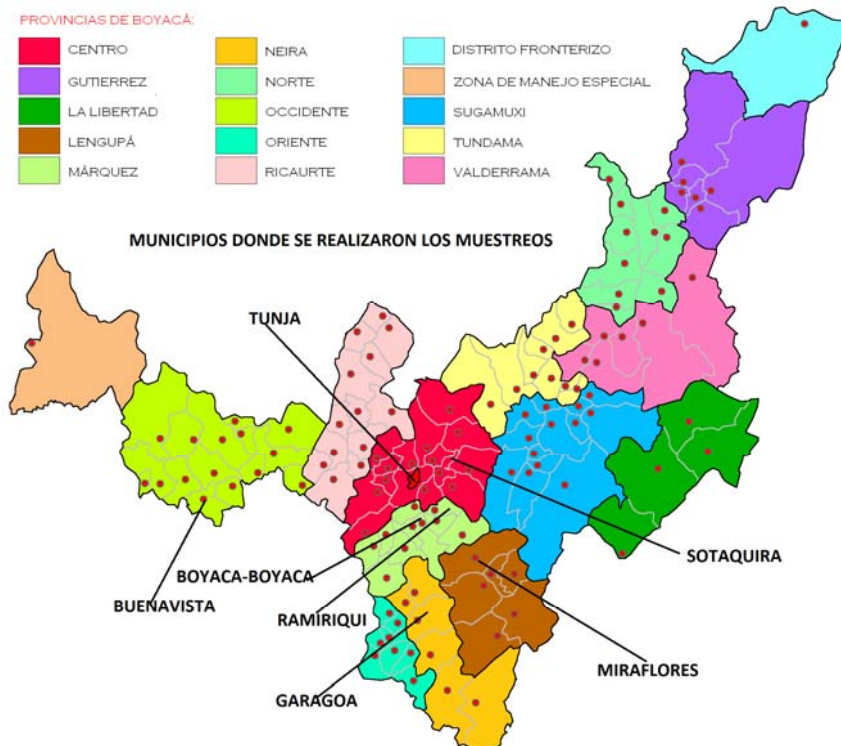


Fig. 1 (Localización de los muestreos en el Departamento de Boyacá).

Fuente: <http://es.wikipedia.org>

La edad de los cultivos oscilaba entre 9 meses a 3 años y la extensión variaba entre 03 - 0.9 ha. Para la época en que se llevó a cabo este estudio los cultivos de gulupa en la mayoría de los municipios estudiados, excepto Buenavista presentaba una alta incidencia de plantas con Roña y Antracnosis. Los municipios estudiados tienen una altitud promedio entre 1700 - 2400 msnm y corresponden a una zona del tipo bosque húmedo que se caracteriza por presentar 1000 y 1500 mm de precipitación anual, ocurriendo dos picos de lluvias durante los períodos de mayo-junio y julio-octubre, (IDEAM, 2009-2010) temperatura promedio 20°C; y una humedad relativa del 82 %. Por lo general el producto de buena calidad es comercializada hacia las firmas exportadoras ubicadas en Bogotá y al mercado nacional.

6.2 Material Colectado

En cada una de las fincas evaluadas se seleccionaron al azar 50 plantas con diferente sintomatología. Para los análisis microbiológicos se tomaban muestras de los siguientes

órganos: hojas en el período de prefloración, ramas de los últimos flujos de crecimiento, inflorescencias, frutos (en todos los estadios de maduración), flores y zarcillos. La recolección de las muestras se realizó durante el ciclo productivo comprendido entre los años julio de 2009 y octubre de 2010.

6.3 Análisis microbiológicos:

Los aislamientos de hongos endofitos se realizaron a partir de segmentos de los tejidos vegetales colectados. Estos segmentos de órganos se sometieron al proceso de triple esterilización para eliminar colonizadores superficiales (Petrini 1986) citado por Morales, 2006. Para ello se sumergieron las muestras por 1 minuto en etanol al 70%, 10 minutos en hipoclorito de sodio al 2,5% y 30 segundos en etanol al 70%. Seguido de un enjuague con agua esterilizada y un secado sobre papel estéril. Una vez estériles los segmentos se incubaron en cápsulas de Petri con PDA (Agar-Papa-Dextrosa) enmendado con ácido láctico al 25% para controlar el crecimiento bacteriano y agar V8, a temperatura ambiente (18 a 22°C con fuente de luz natural.)

Para la purificación y mantenimiento de todos los aislamientos, los hongos fueron transferidos a otras cajas de Petri de con PDA, y replicados cada 3 semanas. Todos estos procesos se realizaron en una cámara de flujo laminar para minimizar el riesgo de contaminación.

Para la observación de las estructuras vegetativas y reproductivas de los hongos aislados en cultivos puros se prepararon montajes con porciones de las colonias sobre láminas portaobjetos con una gota de lactofenol azul.

Igualmente se prepararon microcultivos tipo Riddel los cuales consistían en inocular con aguja de disección estéril pequeños cubos de agar (aprox. 1 cm³) dispuestos sobre láminas portaobjetos, luego estos cubos eran cubiertos con la lámina cubre-objetos y se colocaban sobre papel de filtro estéril y humedecido dentro de una cápsula de Petri estéril la cual era incubada a temperatura ambiente y en condiciones de luz natural durante un lapso de 10-15 días. Al cabo de este tiempo se descartaba el cubo de agar y se colocaba sobre un nuevo porta-objeto una gota de azul de lactofenol el cual se cubría con el cubre-

objeto separado del cubo; igualmente el porta-objeto separado del cubo era teñido con azul cubriéndose con un nuevo cubre-objeto (Rincón G, 1994) citado por Morales, 2006. De esta forma se obtenían dos montajes a partir de un Riddel para realizar las observaciones de las estructuras fúngicas y tomar las fotografías. Esto incluye también la observación macroscópica y microscópica de los reislamientos obtenidos en las pruebas de patogenicidad para confirmar los postulados de Koch.

Todas las láminas preparadas se examinaron con microscopio de luz (10x, 40x) y se realizaron las respectivas tomas fotográficas Posteriormente se procedió a realizar las respectivas descripciones taxonómicas de los especímenes examinados. La identificación de los hongos se realizó mediante la utilización de claves taxonómicas especializadas Barnett (1999).

La ocurrencia de un hongo se registró como positiva si era detectado en al menos una muestra o segmento de órgano.

6.4 Pruebas de Patogenicidad

6.4.1 Frutos

Inicialmente se adelantaron las pruebas de patogenicidad colocando bloques de agar, sobre frutos sanos (en los estados de cuajado y llenado), hojas y fragmentos de tallos tomados del tercio superior de plantas de gulupa. Se procedió a lavarlos con agua corriente y jabón, por espacio de 3-5 minutos y luego se pasaron por espacio de dos minutos en hipoclorito de sodio, a una concentración de 0.525% con el fin de eliminar la flora normal, el procedimiento finalizó con un lavado en agua estéril y se secaron con una toalla estéril bajo condiciones asépticas.,

El sistema de cámara húmeda se realizó en recipientes plásticos con rejillas ubicadas en el fondo, adicionando agua destilada estéril, luego se llevaron a una cámara de flujo laminar para la inoculación de los hongos de interés: se adelantaron 6 repeticiones por cada microorganismo aislado. Se utilizó un diseño completamente aleatorio, de la siguiente manera:

En el lado izquierdo de los frutos, se colocaron Bloques de agar con el crecimiento micelial del microorganismo estudiado, sobre pequeñas heridas (**CH**) realizadas en la superficie del fruto; sobre el lado izquierdo se adelanto el mismo procedimiento, pero sin heridas en la superficie del fruto (**SH**). Para el control se usaron bloques de agar sobre la superficie de los frutos con y sin heridas, tal como se presenta en la Figura 2.



Figura 2. Método utilizado en la inoculación con los microorganismos aislados, con bloque de agar con el crecimiento micelial, el fruto del lado izquierdo se observa totalmente sano e inmaduro y en el de la derecha la forma como se ubicaron los bloques de agar con el crecimiento micelial. Fotos: Sanabria (2010).

Las heridas se realizaron con un alfiler entomológico y como inóculo se usaron cuadros de agar de 5x5 mm con el crecimiento del patógeno, extraídos de colonias de 15 días de crecimiento en agar PDA. Los recipientes se cubrieron con papel vinipel para conservar las condiciones de alta humedad, La temperatura promedio fue de $\pm 20^{\circ}\text{C}$ por un periodo de 15 días, para observar el desarrollo de la enfermedad. Una vez cumplido el periodo de incubación, a partir de los tejidos que expresaron los primeros síntomas de la enfermedad se realizaron aislamientos para comprobar los postulados de Koch (Cedeño *et al.*, 1993).

6.4.2 Hojas y Tallos

El inóculo se preparo a partir de los cultivos puros de cada aislamiento, crecidos en PDA por un espacio de tiempo entre 7 y 14 días a 25°C , que se observaran esporulados (Que *et al.* 2008b). Las conidias se recogieron en 1.5 ml de agua destilada esterilizada, que luego se agitaron vigorosamente. La concentración de los conidios se ajusto en la cámara de Newbawer a 1×10^6 esporas / ml, (Tshering, 2006). Los tallos y hojas recién cosechados, se lavaron con agua del grifo durante 60 segundos, posteriormente se esterilizaron mediante la inmersión en etanol al 70%, por espacio de tres minutos, y luego

se pasaron por una solución de hipoclorito de sodio al 1%, durante tres minutos, y luego se enjuagaron tres veces, en agua destilada estéril por dos minutos cada vez y se secaron en toallas de papel estéril (Sanders and Korsten, 2003; Montri *et al*, 2009, citado por Cai, 2009)

Sobre las hojas y tallos (Figura 3 esterilizados se colocó un pañuelo para mantener la humedad relativa en torno al 95% (Montri *et al.*, 2009). Las muestras se inocularon con heridas (**CH**) y sin heridas (**SH**) (Lin *et al*, 2002.; Kanchana-udomkan *et al*, 2004;.. Que *et al*, 2008b). Las heridas se hicieron en la parte media de los tallos o las hojas, con una aguja estéril y luego colocaron 6 ml de la suspensión de conidios (Freeman y Shabi, 1996; et al, 2008b). Sobre los tejidos usados como controles, se depositaron 6 ml de agua destilada estéril. Las muestras que se incubaron en recipientes plásticos a temperatura y luz ambiental por espacio de 7 a 14 días Que *et al.*(2008b, citado por Cai(2009).

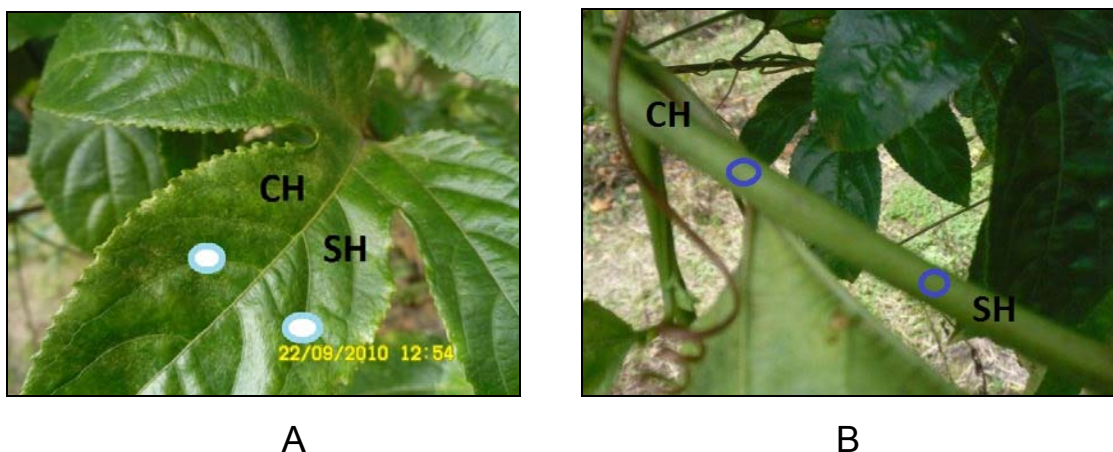


Figura 3. Hojas y tallos inoculados. A. Hojas con el inoculo colocado sobre tejido con (CH) y sin heridas (SH). B. Tallos inoculados con (CH) y sin heridas (SH). Foto Sanabria, 2010

7. Resultados y Discusión

De acuerdo con las visitas de reconocimiento de las principales enfermedades en los municipios ubicados en el departamento de Boyacá, se detectaron varias de las encontradas y registradas, sobre pasifloráceas por Buriticá (1999), en el Directorio de enfermedades en Colombia; en varios textos dedicados a los estudios fitopatológicos, se menciona que la identificación de los agentes causales es un aspecto fundamental al momento de tomar decisiones en las formas de control de la enfermedad ya que la sanidad del cultivo es importante para obtener un producto de alta calidad. Existen

muchas enfermedades que atacan la planta, y el reconocerlas constituye una necesidad para conseguir la protección adecuada y la calidad sanitaria; ante esto es conveniente evaluar distintos parámetros que puedan intervenir en la aparición de enfermedades.

7.1 Cultivos Visitados

Los cultivos visitados y sus principales características agroecológicas, que inciden en alguna de las etapas del ciclo de una enfermedad, se presentan en el Cuadro 1. Como se observa la mayoría se ubican en alturas entre los 1700 y 2450 msnm, que se aproximan a las recomendadas para la gulupa; se indica que la mejor ubicación se encuentra entre los 1.400 y 2.200 msnm (Jiménez, 2006), si bien las mejores producciones se logran alrededor de los 1800 y 2400 siendo optima la primera altura (Pachón *et al.*, 2006), los cultivos establecidos a alturas superiores pueden traer disminución en la producción, como en el caso del municipio de Sotaquira (Vereda Manzano), donde el cultivo presento retardo en su crecimiento y poco desarrollo foliar, teniendo en cuenta la edad del cultivo (9 meses).

Las alturas reportadas han permitido el establecimiento y desarrollo con buena producción en los últimos años en los municipios de Buenavista, Boyacá y Ramiriqui pero cierto descenso en la producción en Miraflores y Garagoa posiblemente por el mal tutorado y la falta de información. Las temperaturas evaluadas en los distintos municipios oscilaron entre 16 y 23 °C., optimas para el cultivo; pero que al aumentar disminuye la producción, situación que se observo en los municipios de Boyacá, Miraflores y Garagoa, según Nakasone y Paull (1998), las altas temperaturas y la HR prevalecen cuando ocurre la maduración de los frutos, favoreciendo la infección y propagación de numerosos hongos, conduciendo frecuentemente a epidemias destructivas. Por otra parte una HR muy baja ($\geq 40\%$) acompañada de vientos calurosos, puede originar marchitamiento de flores, deshidratación y cese de la fotosíntesis, (Fischer, 2000) que cuando están acompañadas de temperaturas altas, debilitan las plantas siendo también más susceptibles al ataque de hongos y plagas, tal como se observo en el municipio de Ramiriqui (vereda Viracacha) donde las condiciones climáticas influyen en la decadencia de la planta y la calidad de los frutos.

Agrios (2005), menciona que cuando por ciertas circunstancias se presentan variaciones de temperatura, precipitación, HR, vientos, o la intensidad solares y demás factores del ambiente, que inciden en el comportamiento normal de los cultivos que generan condiciones desfavorables para continuar con la producción, también inciden sobre la presencia de enfermedades, por los desequilibrios en los sistemas productivos. Otros factores importantes que posiblemente favorecen a la presencia de enfermedades fungosas es el sitio de siembra (Cuadro 1), ya que el 50% de los productores no utiliza ningún criterio técnico para la ubicación del sitio de siembra de las plantas, ni realiza prácticas culturales, que son factores importantes que limitan el desarrollo y producción del cultivo en la mayoría de las fincas muestreadas.

En los cultivos de gulupa visitados, la mayoría de las fincas se encontraban acompañados por uno o más cultivos dependiendo del tipo de actividad agrícola reportando, como uchuva, tomate de árbol y lulo, cultivos con una alta incidencia de enfermedades como es el caso de algunas de las reportadas en tomate de árbol, que también se presentan sobre gulupa (Molina, 2010) La finca los Cerezos se encontró rodeada de un área de bosque natural y quebradas; también en el cultivo ubicado en la vereda Quigua Arriba (Garagoa), se encontró una fuente de agua a 5 mts aproximadamente de las plantas, lo cual incrementa la humedad y incidencia de las enfermedades reportadas en el estudio. La incidencia y severidad de las enfermedades fueron favorecidas por la temperatura promedio de 20 °C y la humedad relativa >80% en las zonas estudiadas (Tabla 1), estos factores ambientales pueden estar favoreciendo el desarrollo de hongos, ya que los factores climáticos como la temperatura y la lluvia influyen directamente en la liberación y dispersión de las esporas, así como en la severidad de los síntomas.

Tabla 1. Registro de las principales características agroecológicas de los cultivos visitados durante el reconocimiento de las enfermedades de origen fungoso en gulupa.

FECHA MUESTREO	MUNICIPIO/ VEREDA	M.S.N.M	Tº	EDAD DEL CULTIVO	EXTENCION DEL CULTIVO (HTA)	CULTIVOS VECINOS	DISTRIBUCION DEL DAÑO	CONDICION AMBIENTAL	INCIDENCIA	OBSERVACIONES
12-10-09	BOYACA-BOYACA.	2100	17 - 23	2 AÑOS	0.3	CALABAZA, MAIZ	GENERALIZADO	LLUVIAS CON TEMPERATURA MEDIA	65%	APROX. 800 PLANTAS EN ESPALDERA, PRESENTAN 12 FRUTOS POR PLANTA CON SINTOMAS MAS REPRESENTATIVOS EN FRUTOS Y HOJAS, EN TALLOS Y FLORES CON MENOR INCIDENCIA.
28-10-09	BOYACA BOYACA	2100	17 - 23	1 AÑO	0.3	TABACO	POR ZONAS	LLUVIAS CON TEMPERATURA MEDIA	30%	APROX. 600 PLANTAS EN ESPALDERA CON 20 A 27 FRUTOS POR PLANTA EN ESTADO DE PRODUCCION SE PRESENTAN SINTOMAS EN FRUTOS Y EN TALLOS Y HOJAS
29-11-09	SOTAQUIRA MANZANO	2450	15 - 18	9 MESES	0.1	PASTIZAL	POR ZONAS	SEQUIA CON TEMPERATURA MEDIA	35%	APROX. 200 PLANTAS EN ESPALDERA CON 15 A 20 FRUTOS POR PLANTA EN ESTADO DE PRODUCCION SE PRESENTAN SINTOMAS CON MAYOR INCIDENCIA FRUTOS HOJAS
08-02-10	RAMIRIQUI VIRACACHA	2000	18 - 25	2 AÑOS	0.4	PEPINO UCHUVA	GENERALIZADO	SEQUIA CON TEMPERATURA ALTA	50%	APROX. 1000 PLANTAS SE ENCUENTRA AFECTADO POR LA SEQUIA, SINTOMAS EN FRUTOS EN LA MAYORIA TALLOS Y ZARCILLOS CON PUDRICION AL FINAL DE ESTOS.
14-04-10	BUENAVISTA PATIÑO	1860	16 - 21	2 AÑOS	0.8	CAFÉ GRANADILLA TOMATE DE ARBOL	POR ZONAS Y PLANTAS AISLADAS	LLUVIAS CON TEMPERATURA MEDIA	30%	SON 1700 PLANTAS EN ESPALDERA Y ENPARRILLADO CON SINTOMAS EN TODA LA PLANTA, APROX 40 FRUTOS POR PLANTA CON SINTOMAS MAS FRECUENTES EN FRUTO
19-06-10	MIRAFLORES/ SAN ANTONIO	1700	18 - 20	2 AÑOS	0.3	TOMATE DE ARBOL CHAMBA	POR ZONAS	LLUVIAS CON TEMPERATURA MEDIA	50%	APROX. 600 PLANTAS EN ESPALDERA 20 FRUTOS CON SINTOMAS EN HOJAS, TALLOS Y FRUTOS, CULTIVO QUE ESTA SIENDO REMPLAZADO POR TOMATE DE ARBOL
25-08-10	GARAGOA/ QUIGUA ARRIBA	1730	19- 20	2 1/2 AÑOS	0.3 HTA	LULO BOSQUE	GENERALIZADO	LLUVIAS CON TEMPERATURA MEDIA	65%	APROX. 700 PLANTAS EN ESPALDERA CON 15 FRUTOS CON SINTOMAS EN HOJAS, TALLOS, ZARCILLOS Y FRUTOS. CULTIVO QUE ESTA SIENDO REMPLAZADO POR LULO

7.2 Principales Enfermedades Encontradas

7.2.1 *Antracnosis*

Ocasionada por el hongo *Colletotrichum* spp. se detectó en todos los cultivos de gulupa, especialmente en los que presentaron alta precipitación y HR elevada, caso especial para los municipios de Miraflores, Garagoa y Boyacá (finca Las Margaritas), donde los cultivos tiene una edad de 2 años aproximadamente, de las 50 plantas analizadas más del 40% presentaron esta sintomatología, el microorganismo fue recuperado como endófito de las muestras analizadas, hallándose con mayor frecuencia en frutos, hojas, en las ramas y yemas y con una baja frecuencia en flores y zarcillos. Este hongo es sin lugar a dudas uno de los principales agentes patógenos en frutas y nivel mundial y es el causante de la antracnosis (Fischer y Rezende, 2008). Específicamente en Colombia, ha sido reportado como patógeno principalmente sobre frutos de numerosas especies cultivadas (Buriticá, 1999).

Sobre los frutos (Figura 4 A) las lesiones se presentan como depresiones o áreas hundidas con pudrición seca, causando una maduración precoz, además se observo que la pudrición llego a la parte interna del fruto; en las áreas necróticas se observaron las estructuras reproductivas del hongo, como puntos negros que corresponden a los acervulos o peritecios. En las hojas (Figura 4B) se encontraron síntomas localizados hacia los márgenes, que se manifiestan como manchas de forma circular, con un halo de color verde oliva, en cuyo centro se encuentran los acévalos y peritecios del hongo, los cuales fueron visibles con estereoscopio, mientras que en las yemas se forman manchas negras relativamente pequeñas; en los tallos (Figura 4 C) se observan lesiones alargadas al igual que en zarcillos (Figura 4 D). En todos los casos las esporas del microorganismo, son liberadas cuando la superficie del tejido infectado está húmeda, y son diseminados por las salpicaduras de la lluvia o del riego y por el viento, además por insectos, herramientas, manipuleo, etc. Las esporas germinan solamente en contacto con el agua. Bajo condiciones adversas el hongo desarrolla su estado sexual para sobrevivir de una temporada a otra (Schwartz *et al.* 1980).

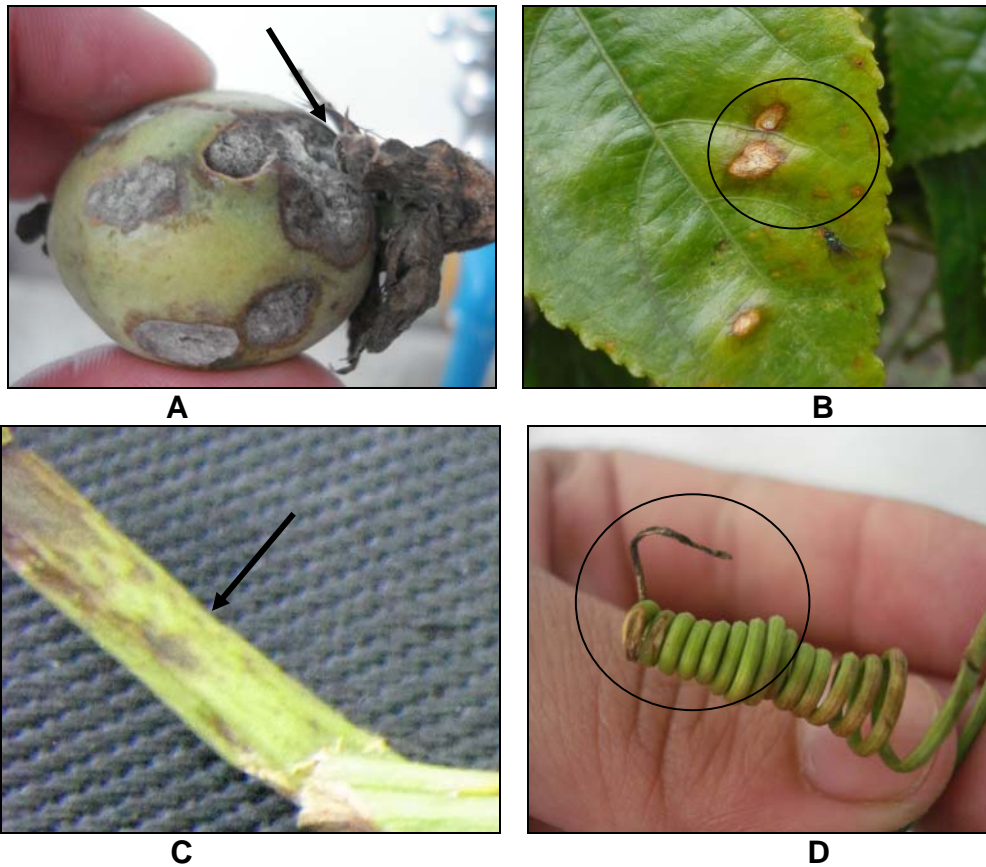


Figura 4. Síntomas de antracnosis, ocasionados por el hongo *Colletotrichum* en diferentes tejidos de gulupa: **A.** Frutos con manchas necróticas, bordes definidos y con el centro hundido. **B.** Manchas de color café claro y borde verde oliva localizadas en las hojas. **C.** Lesiones alargadas de color oscuro localizadas sobre tallos y ramas. **D.** Zarcillos con manchas oscuras, que necrosan las zonas apicales. Fotos: Sanabria, 2010.

7.2.2 Roña

Ocasionada por *Cladosporium sp.* Este síntoma fue muy característico en la mayoría de las fincas visitadas se observa en casi todos los frutos de una planta algunos por zonas y otros generalizados, pero se reporta mas incidente y con una severidad alta en Garagoa, Miraflores y Boyacá donde la HR y las precipitaciones incrementaban esta enfermedad. E las otras como Buenavista no es tan incidente y es por zona. Se identifico en los tejidos tiernos, como en las hojas con lesiones circulares de 3-5 mm rodeadas de un halo amarillo y un centro oscuro (Imagen C), en la flor con alta frecuencia produce como una perforación bordes definidos en los sépalos con mancha necrótica de color marrón (Imagen A), en las ramas las lesiones son longitudinales, formando una ralladura color café con forma de canoa (Imagen D) algunas lesiones presenta formación corchosa,

En los frutos, pequeños (menores de 3 cm) los síntomas se inician como una decoloración de los tejidos, y en los frutos que se encuentren en cuajado y llenado (5 a 7 cm) aparecen lesiones en forma de verrugas (Imagen B), Internamente el fruto no sufre daño, solo afecta la parte externa de la cáscara.

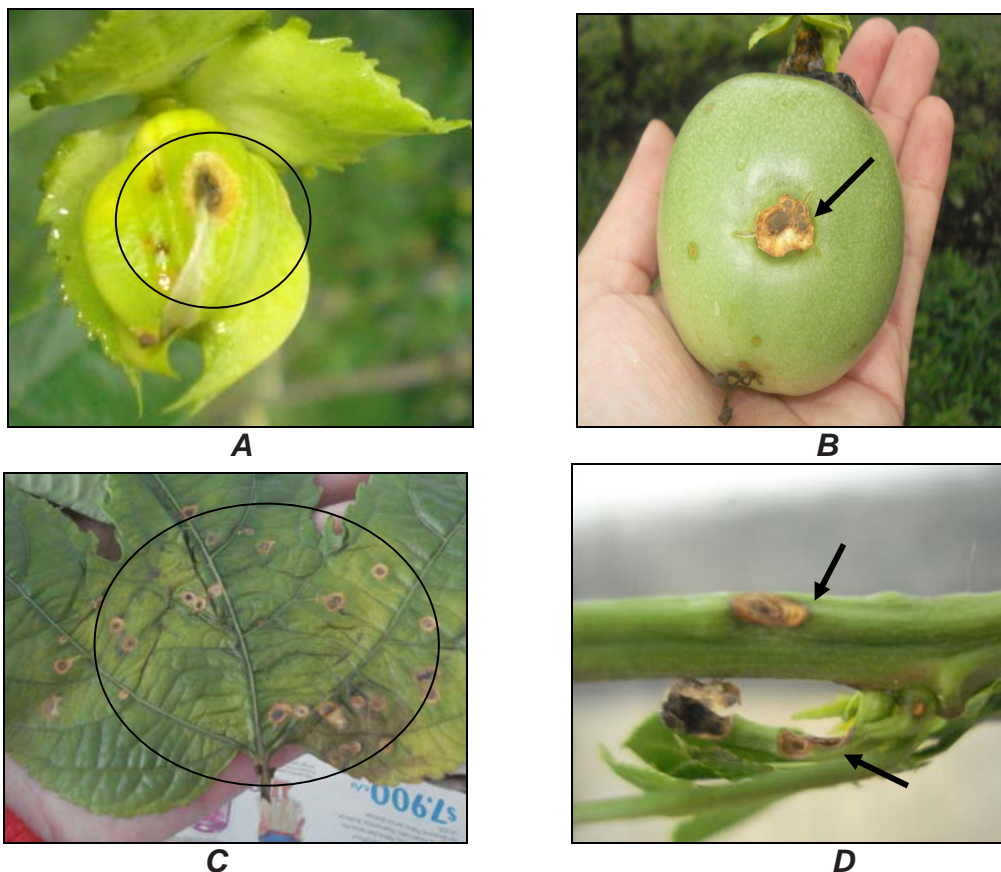


Figura 5. Botones florales afectados con sintomatología muy característica de *Cladosporium sp.*: **A**, Verrugas o Roña muy frecuentes en todos los estadios frutales: **B**, Hojas con manchas síntomas muy frecuentes en casi toda la planta: **C**, Ramas y tallos afectados con el hundimiento por la penetración del microorganismo. Fotos: Sanabria, 2010.

7.2.3 Mancha Parda

La enfermedad ocasionada por *Alternaria sp.* se encontró con alguna frecuencia en todos los muestreos, se observó sobre hojas, tallos y frutos. Los síntomas se asocian con pequeñas lesiones superficiales de color café claro, hasta lesiones hundidas. Esta sintomatología se encontró en frutos (Figura 6A) asociada con *Colletotrichum sp.*; se encontró sobre aquellas hojas menos expuestas a la aireación. Este microorganismo se disemina por todos los órganos, su frecuencia es alta dependiendo de las condiciones climáticas. Se encontró con alta incidencia y severidad en los cultivos que presentaban

dos años de edad en los cultivos de los municipios de Garagoa, Miraflores y Boyacá. Diversos autores señalan a este hongo como el agente causal de manchas negras sobre hojas, ramas y frutos, que afectan el ciclo productivo de las plantas. Cuando las infecciones progresan, las lesiones se agrandan formando surcos concéntricos muy característicos. Los frutos presentan manchas necróticas circulares, ligeramente hundidas y de color pardo rojizo. (Jiménez, 2010).

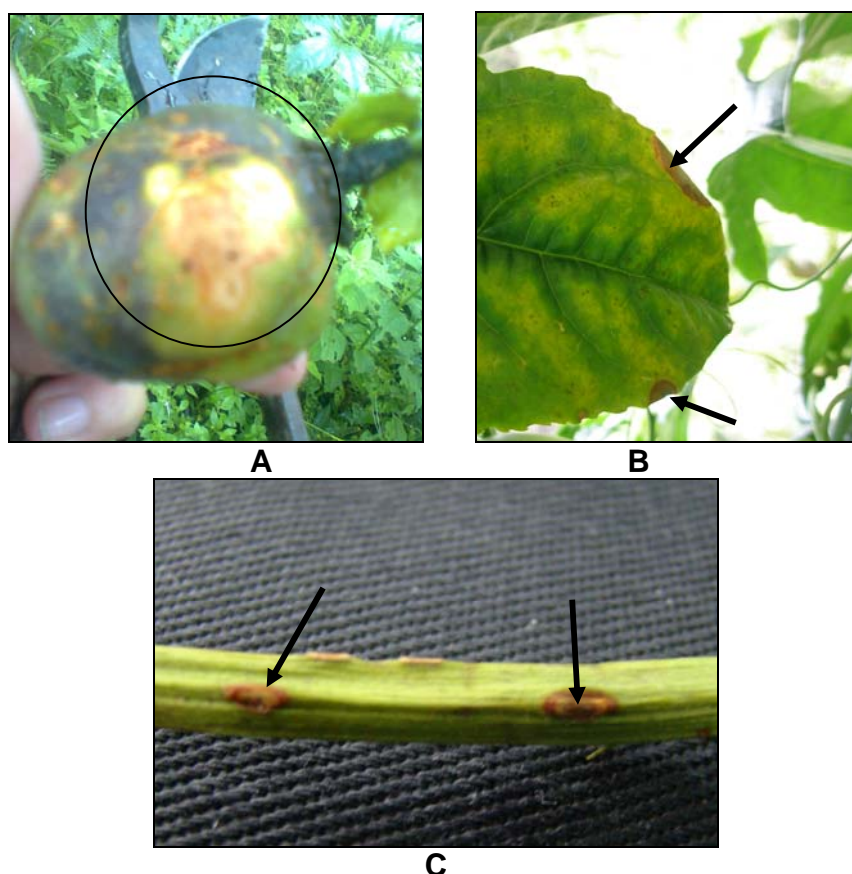


Figura 6: Frutos con síntomas que van acompañados de síntomas de *Colletotrichum sp.* **A**, *Alternaria sp.* Produce manchas rojizas marrón en hojas: **B** En tallos se observan manchas circulares rojizas marrón. **C**. Fotos: Sanabria, 2010.

7.2.4 Mancha parda por *Septoria sp.*

Esta enfermedad se encontró asociada con el hongo ***Septoria sp.***, microorganismo que se aisló principalmente de hojas basales (Figura 6B) y los síntomas corresponden a lesiones necróticas de formas redondas, como mancha café que denotan la muerte de

tejido, a veces con amarillamiento en su contorno y con diversos puntos negros., que corresponden a los picnidios del hongo (Figura 6A). Estas estructuras permitieron la identificación del agente causante de la enfermedad. Este microorganismo se aisló de hojas recolectadas en los municipios de Garagoa y Miraflores, que presentaron abundantes lluvias durante la recolección de las muestras; según la literatura, la enfermedad se generaliza durante la época lluviosa, lo cual sugiere que el hongo requiere humedad, para la germinación de las conidias y la penetración del tubo germinativo al hospedante; además, la humedad facilita la liberación de las conidias contenidas en los picnidios. (Icochea 1997).



Figura 7: Se observa los picnidios de *Septoria spp.* **A**, Mancha café que denota la muerte del tejido **B**. Fotos: Sanabria, 2010.

7.2.5 Moho Gris

La enfermedad ocasionada por el hongo conocido vulgarmente como moho gris, ***Botrytis cinérea***, se aisló a partir de los botones florales, que se observaron cubiertos de un crecimiento de color gris; su presencia se debe a las altas condiciones de HR y precipitaciones altas, en la mayoría de los municipios como Miraflores, Boyacá y Garagoa. Además como se presenta en la (Figura 7A) en algunas de las flores se encontraron lesiones de apariencia húmeda, que posiblemente conlleve posteriormente a la pudrición de los frutos (Figura 7B); su incidencia fue relativamente alta y generalizada en cultivos que se encontraban en producción; el microorganismo afecta los pistilos de la flor ya fecundada (Corpoica, 2007).



Figura 8. Flores que se observan cubierto de moho gris, *Botrytis cinérea*, este es transmitido al pedúnculo del fruto: **A Y B.** Fotos: Sanabria, 2010.

En algunos casos aislados, se encontraron tallos de apariencia débil y secos, especialmente en los cultivos ubicados en el municipio de Ramiriquí, , en temporada de sequía, posiblemente por las condiciones climáticas registradas en esa temporada. Los síntomas consisten en lesiones de color café a gris oscuro, sobre las que se observaron picnidios o estructuras de fructificación, características que permitieron identificar el agente causante de los síntomas, un hongo del género *Ascochyta*; registrado en algunas especies vegetales cultivadas, en las regiones con temperaturas frías a moderadas, lluvias continuas y humedad relativa alta. En América Latina es común encontrar *Ascochyta* en regiones productoras de frijol de clima frío, ubicadas a más de 1500 msnm. (*bayer cropscience*).

7.3 Identificación de Microorganismos

Varios géneros de hongos fueron recuperados como patógenos a partir de los órganos vegetativos y reproductivos, procesados en el laboratorio. Como se presenta en el Cuadro 2, los identificados corresponden a *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., *Alternaria* sp. , *Cladosporium pos. herbarum*, *Ascochyta* sp. (*Phoma* sp.), *Septoria* sp., y *Botrytis cinérea*.

Cuadro 2. Hongos aislados como patógenos de distintos órganos aéreos de plantas de gulupa en el Departamento de Boyacá

Tallos (Ramas jóvenes y sus yemas)	Hojas (Laminas foliares)	Flores	Frutos	Zarcillos
<i>Alternaria</i> Sp.	<i>Alternaria</i> Sp.	<i>Cladosporium</i> pos. <i>Herbarum</i>	<i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i>	<i>Colletotrichum</i> <i>Gloeosporioides</i>
<i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i>	<i>C.</i> <i>gloeosporioides</i>	<i>Botrytis</i> sp.	<i>Cladosporium</i> <i>herbarum</i>	
<i>Cladosporium</i> <i>herbarum</i>	<i>Cladosporium</i> <i>herbarum</i>		<i>Alternaria</i> Sp.	
<i>Ascochyta</i> sp	<i>Septoria</i> sp.			
<i>Phoma</i> sp				

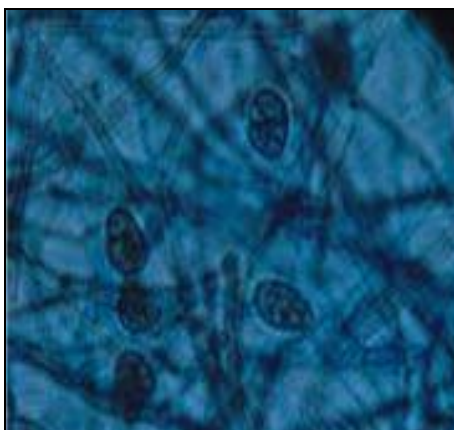
Estos hongos prevalecieron en los flujos de crecimiento más recientes, encontrándose en las hojas y ramas jóvenes durante el período de prefloración, flores y zarcillos, muchos de ellos sobrepasaron la floración, y llegaron incluso a la fructificación, encontrándose en frutos de distintas edades (Cuadro 1). Estas especies han sido reportadas por otros autores como endófitos en gulupa (Franco y Zuleta, 2006; Serrato y Jiménez, 2006, citado por Castro, 2004) También han sido reportadas como agentes patógenos causantes de enfermedades en gulupa.

La descripción de algunos de los microorganismos aislados sobre el medio de cultivo PDA, se anotan a continuación.

Agente causal: ***Alternaria* sp**

Hongo filamentoso con conidióforos simples, tabicados, de color pardo, con septos transversales y verticales. Por gemación de la célula apical se genera un nuevo conidio,

formándose largas cadenas de 10 o más conidios. (Figura 9A). En PDA las colonias fueron crecimiento rápido (tres o cuatro días), vellosas, al principio de color gris, después el centro se oscurece pero los bordes siguen siendo grisáceos. Al reverso de color negro (Figura 9B.)



A



B

Figura 9: Conidias de *Alternaria* posiblemente *Alternata* por su morfología **A:** Colonia de alternaría en PDA: **B.** Fotos: Sanabria 2010

Agente causal: ***Colletotrichum gloeosporioides***

Los conidias son oblongos, hialinos y de una célula, (Figura 10A) En PDA el crecimiento circular, micelio blanco que a los nueve días presento estructuras de color salmón y seis días después se tornaron negras .(Figura 10B)



A



B

Figura 10: conidias posiblemente de *Colletotrichum gloeosporioides*: **A** Colonia y se observa la esporulación de color salmón **B.** Fotos: Sanabria 2010

Agente causal: *Cladosporium pos. herbarum*

Conidióforos de cadenas ramificadas de conidios elipsoides de extremos redondeados y gemación continua, conidios. (Figura A11) En PDA las colonias fueron de crecimiento lento, planas y vellosas de color oliva verde o pardo oliva. (Figura B11)



Figura 11: Se observan el conidióforo ramificado. **A** Colonia característico color verde oliva. **B.** Fotos: Sanabria, 2010.

Agente causal: *Septoria sp.*

Los picnidios son marrones, globosos, oscuros (Figura A12). Las conidias son alargadas, hialinas, con abundantes septos. En V8 las colonias se observaron grises planas de crecimiento lento en PDA. (Figura B12)

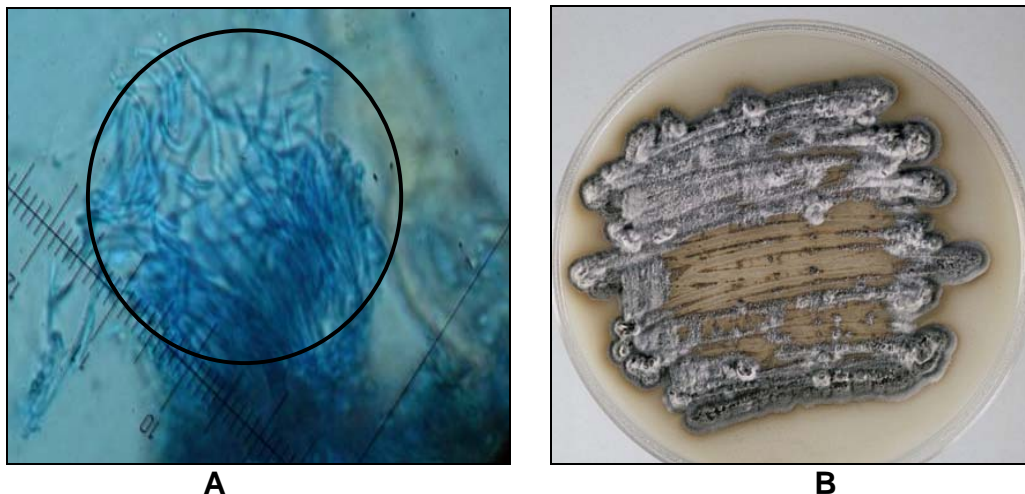


Figura 11. Se observan las conidias alargadas hialinas. **A,** Micelio plano gris en medio V8. **B.** Fotos: Sanabria, 2010.

7.4 Pruebas de Patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad efectuadas “*in vitro*”, con los hongos aislados y resultaron positivas en todos los casos, los primeros síntomas comenzaron a evidenciarse a partir de la segunda semana de la inoculación y coincidieron con los observados en el campo.

Las inoculaciones realizadas con ***C.gloesporoides*** sobre hojas inoculadas con heridas, mostraron síntomas en el cuarto día; (Figura 12B) se observó en el área de punción la formación y desarrollo de una lesión necrótica de borde oscuro sin halo clorótico, ocho días después de la inoculación las manchas crecieron 2 mm manteniendo su forma elipsoidal y su color, después de varios días se extendieron afectando la hoja causando muerte en la zona inoculada. En las hojas inoculadas sin heridas (SH), los síntomas se presentaron a partir de los 7 días en forma de pequeñas manchas aisladas a lo largo del foliolo; entre 13 a 20 días las manchas crecieron 2 mm de forma elipsoidal alargada con un centro color crema.

La inoculación de tallos (Figura 12C) CH, reprodujo los síntomas similares a los observados en campo aproximadamente a los 12 días observándose en tallos y ramas afectadas manchas negras deprimidas inicialmente ovaladas o redondeadas con bordes irregulares. En cortes longitudinales se vio el avance necrótico. En el área que solo se inoculó SH desarrollaron los síntomas 15 días, entre el día 18 al 20 aparecieron síntomas muy débiles.

Los frutos (Figura 12A) inoculados fueron susceptibles al hongo, desarrollaron síntomas de antracnosis entre los 9 y 16 días el diámetro de las manchas fue de 1-2 cm y el de las manchas de los que recibieron inoculación CH fue de 0,5-1 cm, demostrando que el hongo puede afectar frutos inmaduros. Se observaron lesiones oscuras y hundidas, circulares o angulares con presencia de decoloración en la piel de los frutos inoculados CH. Se pudo aislar nuevamente el patógeno para comprobar así, que *C. gloeosporioides* es el agente causal de la Antracnosis en frutos de gulupa.

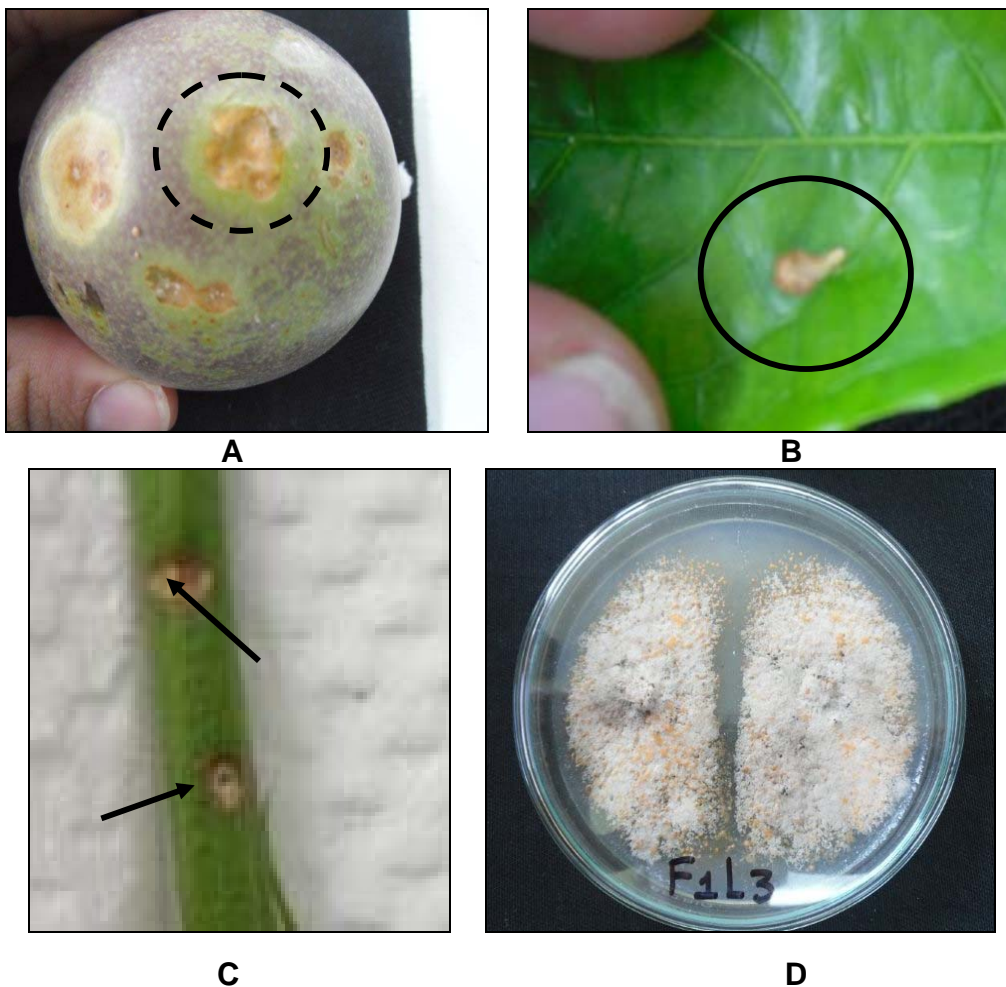


Figura 12: Síntomas los 9 días de inoculados CH: **A,** Síntoma producido a los 6 días de inoculadas CH. **B** Síntomas con heridas a los 12 de inoculados CH: **C.** Reaislamiento de *Colletotrichum gloesporioides*. **D.** Fotos: Sanabria, 2010.

En las inoculaciones realizadas a partir de *Cladosporium* sobre hojas (Figura 13B) se presentaron síntomas a los 4 días CH, muchas de las muestras estudiadas presentaron en superficie lesiones necróticas circulares con borde definido, de aprox de 3mm, conforme la mancha creció se fue definiendo una parte externa de color marrón oscuro y el centro ligeramente más claro, además hubo desarrollo abundante de un moho pulverulento y coloreado; en la zona inoculada SH desarrollaron algunos síntomas, hasta 20 días. En Tallos (Figura 13C) se presentaron los primeros síntomas a los 12 días, en la inoculación CH, se observaron manchas alargadas, con bordes oscuros, centro ligeramente más claro y 20 días se presentaron las estructuras del agente causal.. En los tallos inoculados SH, no se evidenciaron síntomas de la enfermedad.

Sobre los frutos (Figura 13A) se produjo una pudrición relativamente seca y dura de apariencia corchosa alrededor de los 15 a 18 días, y crecimiento micelial alrededor de las heridas; no se observó algún síntoma en las zonas inoculadas SH.

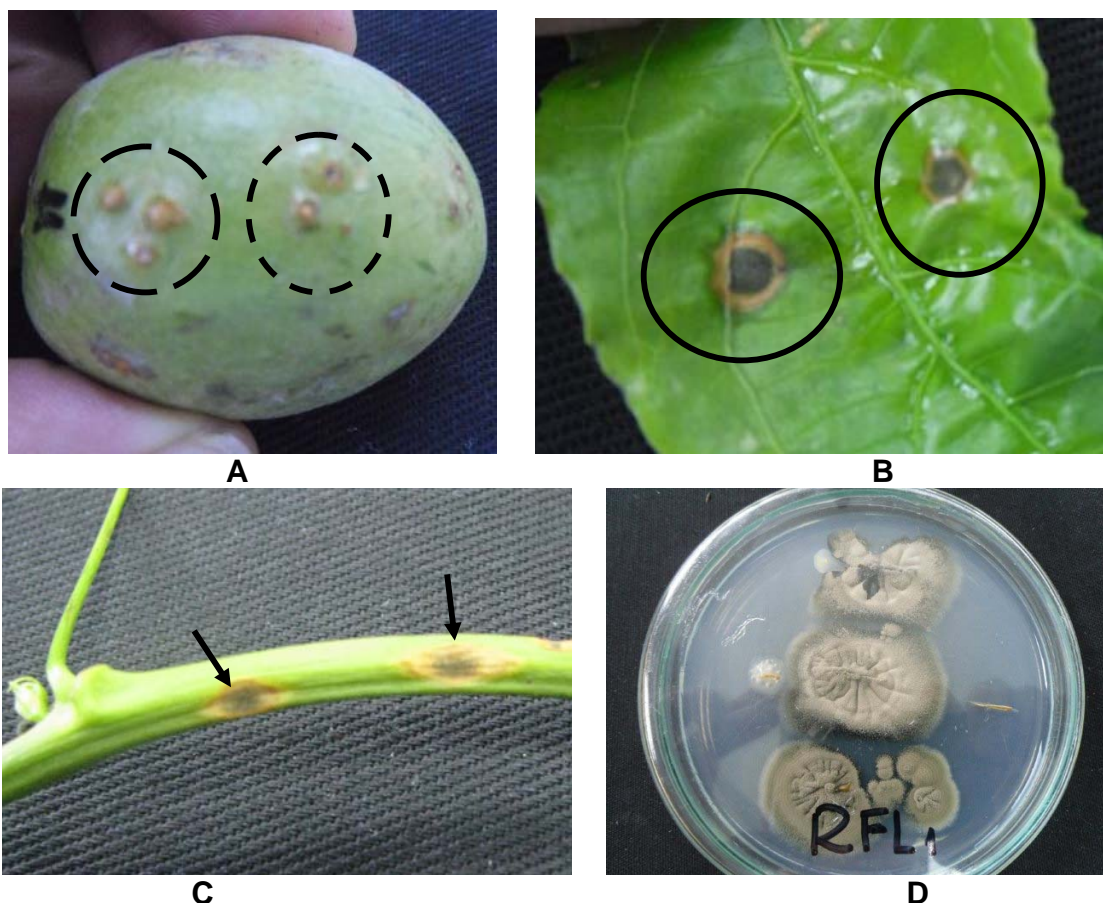


Figura 13: Se observa la roña síntoma característico de *Cladosporium* sp. A los 15 días de inoculados **A**, En hojas se observa con bordes definidos a los 4 días de inoculados, **B**, En tallos a los 12 días con heridas se observa el hundimiento alargado. **C**, Reaislamiento de *Cladosporium* **D**. **Fotos: Sanabria, 2010**

Los síntomas causados por los hongos aislados de las diferentes estructuras evaluadas en gulupa corresponden a los descritos en otros trabajos de *Pasiflora* por Serrato y Jiménez, (2006) citado por Castro (2004) entre otros. De acuerdo a los resultados obtenidos y las características macroscópicas y microscópicas para identificación taxonómica de los aislamientos en el caso de *Cladosporium* es posible que la especie corresponda a *herbarum*, agente causal de la roña en frutos y lesiones en tallos, flores y hojas, que son más frecuentes en frutos de cualquier estado de madurez (Torres *et al*, 1999). Las precipitaciones y altas temperaturas reportadas en la mayoría de los

municipios posiblemente hallan favorecieron su desarrollo e infección (Crous *et al.*, 2007, Barbosa *et al.*, 2001) entre otros.

C.gloeosporoides ocasiona antracnosis, tal como lo reporta Fisher y Rezende, para *Passiflora edulis*, lo cual se corrobora mediante los aislamientos y posterior identificación. Según los mismos autores se ha reportado a *A. alternata* como posible patógeno de esta familia, cuyas características taxonómicas son similares a las cepas aisladas en este estudio. Sin embargo, es a *A. passiflorae* a la que se le atribuyen enfermedades en pasifloras, en esta investigación la falta de esporulación, no permitió determinar su especie, pero de acuerdo con los síntomas observados y los reportados para *A. alternata* probablemente, permite atribuir la enfermedad a esta especie. Con menos frecuencia se aisló el moho gris, *Botrytis cinerea* en flores, es posible que su presencia sea debida a contaminación de tejidos dada su actividad saprofitica o a su característica de microorganismo que sobrevive en estado de quiescencia. . El hongo del género *Septoria* se encontró en muy pocos casos ocasionando manchas en hojas, sin embargo su reconocimiento no es fácil de observar en campo y *Ascochyta spp.* se detecto en tallos.

8. Conclusiones

- En los cultivos de gulupa (*Passiflora edulis* var. *edulis*), ubicados en el Departamento de Boyacá, se reconocieron las enfermedades conocidas como antracnosis, localizada sobre hojas y frutos, ocasionada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* y chancros o roñas sobre frutos, hojas, tallos y ramas, por *Cladosporium* pos. *herbarum*, con una alta incidencia y distribución en los cultivos monitoreados.
- El hongo *Cladosporium* pos. *herbarum*, se observó atacando varios de los tejidos foliares de las plantas, sobre frutos ocasiona chancros o roñas, en tallos y ramas lesiones corchosas alargadas, en hojas manchas y sobre zarcillos lesiones necróticas, síntomas no detectados anteriormente sobre las últimas estructuras.
- Se logró evidenciar el efecto de las condiciones del clima y el manejo inadecuado de los cultivos, como una de las causas que predisponen las plantas al ataque de los hongos que indican el desarrollo de las enfermedades estudiadas.
- Se conocieron dos nuevas enfermedades no registradas en gulupa, que se localizan en tallos, ramas y hojas, ocasionando necrosis de tejidos, asociadas con los hongos *Ascochyta* sp., *Phoma* sp. y *Septoria* sp.

9. Recomendaciones

- Estudiar las fuentes de inóculo de los microorganismos encontrados, de manera que se propongan métodos de prevención de estas enfermedades.
- Evaluar bajo condiciones de campo la severidad y pérdidas en producción por efecto de las principales enfermedades identificadas
- Evaluar el potencial patogénico de los microorganismos que se encontraron con menor frecuencia, para evitar que lleguen a producir pérdidas de importancia económica.
- Estudiar si los microorganismos que se localizan sobre las flores y frutos, tienen alguna capacidad de sobrevivir como estados quiescentes, durante el proceso de fecundación.
- Divulgar ante los productores, investigadores y entidades encargadas de velar por la sanidad de los cultivos promisorios para comercializarse en los mercados externos, los resultados de esta investigación, de manera que se implementen medidas de control para evitar pérdidas durante la cadena de producción y comercialización.

10. Referencias

- Agrios, G. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press, USA. pp. 483 – 499.
- Almeciga M., Herrera G., 2008. INVENTARIO PRELIMINAR DE LA ENTOMOFAUNA ASOCIADA AL CULTIVO DE GULUPA (*Passiflora edulis f. edulis* SIMS), EN LOS MUNICIPIOS DE CHOACHI Y UBAQUE, CUNDINAMARCA, COLOMBIA. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 77 p.
- BURITICÁ, P. 1999. Directorio de patógenos y enfermedades de plantas de importancia económica en Colombia. Instituto Colombiano Agropecuario ICA - Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín. Ed. Produmedios 329 p.
- Cai, L., 2009. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. Fungal Diversity. Online advance.
- Castro, O 2004. EVALUACIÓN DE UN MANEJO CON PODAS Y FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DE LA ROÑA EN EL CULTIVO DE LA GULUPA (*Passiflora edulis* Sims.) EN EL MUNICIPIO DE GRANADA (CUNDINAMARCA). Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá
- Consulta on line: <http://es.wikipedia.org>
- Consulta on line: www.asohofrucol.com.co, www.frutasyhortalizas.com.co Observatorio Regional de Gestión Empresarial Mipyme 2008. Grupo de Investigación Escuela de Administración de Empresas Uptc.Tunja, Noviembre de 2008.
- Consulta on line: www.asohofrucol.com.co, www.frutasyhortalizas.com.co Observatorio Regional de Gestión Empresarial Mipyme 2008. Grupo de Investigación Escuela de Administración de Empresas Uptc.Tunja, Noviembre de 2008.
- Consulta on line: www.bayercropscience.com.
- Contreras, C. 2006. Caracterización y Pruebas de Patogenicidad cruzada entre aislamientos de *Colletotrichum spp.* Obtenidos de frutos de Lulo (*Solanum quitoense* Lam), Tomate de Árbol (*Solanum betacea* Sendt), Granadilla (*Passiflora ligularis* Juss), mango (*Mangifera indica* L) y tallos de Mora (*Rubus glaucus* Benth) con síntomas de Antracnosis. Microbiólogo Agrícola y Veterinario. Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá. 115 p.
- Enfermedades Fungosas y Bacterianas de Raíces y Tubérculos Andinos — Teresa Ames de Icochea. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa, 1997. 172p <http://www.cipotato.org/publications/pdf/002438.pdf>
- ENFERMEDADES Y PLAGAS EN EL CULTIVO DE GRANADILLA (*Passiflora ligularis*) EN EL DEPARTAMENTO DEL HUILA BOLETIN TECNICO Jairo García Lozano. I.A. MSc.1 Luís Enrique Chamorro2 Johanna Andrea Floriano Q. 3 Luís Felipe Vera4 José Dimas Segura C.I. Corpoica Nataima, Febrero 2007

- ENFERMEDADES Y PLAGAS EN EL CULTIVO DE GRANADILLA (*Passiflora ligularis*) EN EL DEPARTAMENTO DEL HUILA BOLETIN TECNICO Jairo García Lozano. I.A. MSc.1 Luís Enrique Chamorro2 Johanna Andrea Floriano Q. 3 Luís Felipe Vera4 José Dimas Segura C.I. Corpoica Nataima, Febrero 2007
 - FISHER, I.; REZENDE, J. 2008. Diseases of Passion Flower (*Passiflora* spp.). Pest Technology. Global Science Books.
 - ICA, Grupo de Epidemiología Agrícola. 2006. Listado Nacional de Viveros Registrados en el ICA para Producción y Comercialización de Material de Propagación de Frutales.
 - Jiménez, 2006. EL CULTIVO DE LA GULUPA *Passiflora edulis* SIMS. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 47 p.
- M.B Ellis, 1990. Dematiaceou Hyphomycetes. CABY Publishing.
- PACHÓN, A Y MONTAÑO, R. 2006. Efecto del empaque, encerado y temperaturas sobre las características fisicoquímicas y organolépticas de la gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis*) en poscosecha. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 34 p.
 - PINZON, I.; FISCHER, G.; CORREDOR, G. 2007. Determinación de los estados de madurez del fruto de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). Agronomía Colombiana. 25:83-95.
 - Quevedo, E. 1989. Análisis de la floración y fructificación bajo tres sistemas de soporte en la gulupa. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá 98 p.
 - Schwartz Howard, F; Gálvez, Guillermo E. (edit) 1980. Problemas de producción del frijol. Enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris*. Trad. Jorge Victoria. CIAT. Cali, Colombia. p55-56.
 - SOCIEDAD COLOMBIANA DE CIENCIAS HORTICOLAS. Mayo 28 de 2007. Boletín de la Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas. Volumen 2 No.2.
 - V. Morales-Rondón y M. Rodríguez-González, 2006 Hongos endofitos en plantaciones de mango 'Haden' de la planicie de Maracaibo, Venezuela. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Maracaibo - Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2006, 23: 273-283.