UNICIENCIA 5 (1-2)
pp. 53-59
1988

SITIOS DE INFECCION POR HONGOS MAS FRECUENTES EN LA ZANAHORIA (*Daucus carota* L.) Y PATOGENICIDAD EN SUS DIFERENTES TEJIDOS

German Rivera
Alejandro Esquivel
Rafael Salazar
Escuela de Ciencias Agrarias
Universidad Nacional
Heredia, Costa Rica

RESUMEN

Se recolectaron raíces de zanahoria en el campo y mercado con el fin de aislar e identificar los hongos asociados con ellas y se determinaron los sitios de infección natural de diferentes hongos sobre la raíz. Dieciséis géneros fueron identificados y su patogenicidad fue probada colocando cada hongo sobre: la peridermis sin heridas, parénquima del periciclo, parénquima del floema y parénquima del xilema.

La mitad del total de hongos se aisló tanto en muestras del campo como en el mercado. Los sitios de infección natural más frecuentes fueron: la "corona", final de la raíz principal y raíces laterales. En las pruebas de patogenicidad se manifestó una gradiente de resistencia que va desde un alto nivel en la peridermis hasta un bajo nivel en el parénquima del xilema. Sclerotinia sclerotiorum, Sclerotium rolfsii, Fusarium tricinctum, F. nivale, F. solani, F. oxysporum, Fusarium *sp.*, Trichoderma *sp. y* Gliocladium *sp., penetraron directamente a través de la peridermis y también infectaron los otros tejidos.* Geotrichum candidum, *Rhizopus stolonifer, Verticillium* sp., *Penicillium* sp. y *Candida* sp. no infectaron la peridermis, pero sí mostraron patogenicidad en el parénquima del periciclo, floema y xilema. *Phoma* sp. y *Mucor* sp. solamente infectaron al parénquima del floema y del xilema.

ABSTRACT

Fungi from carrot roots collected in the field local market were isolated and identified. Sites of natural infection on the root were recorded. Sixteen genera were identified and their patogenicity tested by placing them on: not wounded periderm, pericyclic parenchyma, phloem parenchyma and xylem parenchyma.

Half of the total fungi was isolated in both field and market samples. The most frequent natural infection sites were the crown, end of the tap root, and lateral roots. In the pathogenicity tests a gradient of resistance was shown varying from a very high level at periderm to a low level at the xylem parenchyma. Sclerotinia sclerotiorum, Sclerotium rolfsii, Fusarium tricinctum, F. nivale, F. solani, F. oxysporum, Fusarium *sp.*, Trichoderma *sp., and* Gliochadium *sp., all penetrated directly throught the periderm and also infected the other tissues.* Geotrichum candidum Rhizopus stolonifer. Verticillium *sp.*, Penicillium *sp., and* Candida *sp. did not infect the periderm, but were pathogenic to the pericyclic, phloem, and xylem parenchyma.* Phoma *sp. and* Mucor *sp. only infected phloem and xylem parenchyma.*

INTRODUCCION

Toda planta que está en el campo convive con una población microbiana que puede infectarla, o simplemente mantenerse sobre la superficie en una asociación inocua para ella (Agrios, 1978). Entre los patógenos que infectan el tejido puede darse el caso de microorganismos, que de inmediato inicien la desintegración tisular o entran en un período de inactividad, hasta que las condiciones tanto ambientales como del tejido subyacente sean propicias para continuar su proceso de infección (Swinburne, 1983).

En la zanahoria (*Daucus carota* L.) las interacciones antes citadas se dan con mayor intensidad por cuanto la parte utilizable está inmersa en el suelo donde normalmente existe una gran actividad microbiana. Por otra parte, después de la cosecha se le somete a procesos de lavado y empaque que causan heridas y nuevas inoculaciones en los tejidos parenquimáticos (Vigliola y Calot, 1982). Además, en mercados como los existentes en Costa Rica, generalmente no se dan las condiciones fitosanitarias óptimas para que el producto sea protegido de la contaminación microbiana. Con mucha frecuencia, la zanahoria comercializada se ubica cerca o en contacto con residuos de lotes anteriores y superficies contaminadas produciéndose así otra serie de infecciones que inciden directamente en el estado sanitario del producto adquirido por el consumidor (Rivera, 1984).

La presencia de heridas juega un papel muy importante en la patología poscosecha de los microorganismos adquiridos tanto en el campo como en las diversas etapas de la comercialización (Sommer, 1985; Harvey, 1988). En la zanahoria ocurre una situación muy particular, pues las heridas se concentran en ciertas partes de la raíz, y dependiendo de la profundidad, se infectan diferentes tejidos que tienen una susceptibilidad diferencial (Goodlife y Heale, 1977; Davies *et al.*, 1981). Considerando estas características, se pretendió en el presente trabajo determinar la población de hongos asociados a la raíz de zanahoria, las áreas más frecuentemente infectadas y la susceptibilidad de los diferentes tejidos.

MATERIALES Y METODOS

Recolección de material portador de hongos

Durante el período comprendido entre enero y mayo de 1986 se recolectaron muestras semanales de 50 zanahorias, seleccionadas al azar. Este proceso se realizó en puestos de venta del Mercado Municipal de la ciudad de Heredia y en dos parcelas comerciales ubicadas en los distritos de Tierra Blanca (Cartago) y San Luis de Santo Domingo, Heredia, Costa Rica.

Las muestras de mercado fueron colocadas en cámara húmeda por siete días con el fin de estimular la esporulación de infecciones latentes o ligeramente visibles. A partir de lesiones desarrolladas se hicieron aislamientos usando la siguiente metodología: con un bisturí estéril se cortaron pequeños trozos de tejido al borde de cada lesión. Luego se sumergieron por un minuto en hipoclorito de sodio (NaClO) y se lavaron dos veces consecutivas en agua destilada estéril. Una vez concluida la desinfección, se colocaron en platos petri conteniendo el medio: papa-dextrosa-agar (PDA) acidificado con ácido láctico al 25 °/o. Después de siete días de incubación a 25° C se procedió a transferir porciones de las colonias puras a tubos de ensayo conteniendo el mismo medio de cultivo, donde se les mantuvo en crecimiento por siete días, para almacenarlos finalmente a 5°C, hasta su identificación.

Las muestras procedentes del campo fueron cosechadas en forma manual y empacadas individualmente en papel periódico para evitar lesiones en el transporte. Al llegar al laboratorio fueron sumergidas una a una en un beaker que contenía 500 ml de agua destilada estéril agitándolas ligeramente. De esta forma se obtuvo una sola suspensión por muestra. A partir de ella se tomaron por triplicado alícuotas de 1.0 ml para series de diluciones hasta 1×10^7. Luego se utilizó 0.5 ml por dilución para esparcirse sobre PDA sólido y acidificado en platos petri. De las colonias resultantes se hizo reaislamiento y se almacenaron colonias puras para su identificación posterior.

Determinación de los sitios más frecuentes de infección en zanahoria de mercado

Durante cinco semanas se hicieron diez muestreos al azar (dos por semana) en el Mercado Municipal de la ciudad de Heredia, con el fin de determinar la frecuencia de lesiones en: a) la base de los peciolos o "corona", b) los "hombros" de la raíz, c) el área de raíces laterales y d) el vértice (Fig. 1).

Para realizar esto se colocó cada zanahoria en cámara húmeda durante un período de cinco a siete días al final de los cuales se evaluó, por simple inspección visual, la ubicación del área afecta-

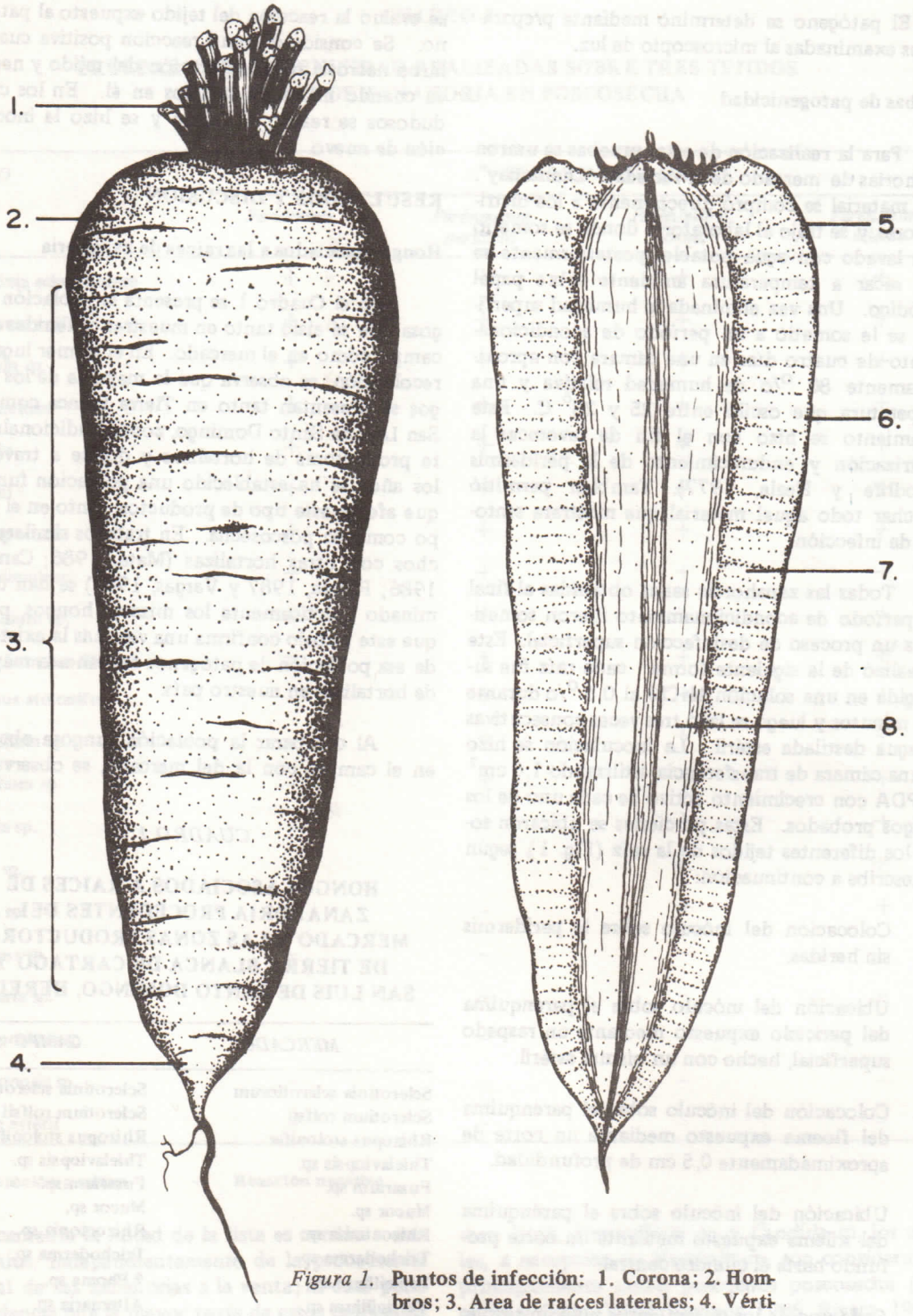

Figura 1. **Puntos de infección: 1. Corona; 2. Hombros; 3. Area de raíces laterales; 4. Vértice.**
Tejidos inoculados: 5. Periciclo; 6. Parénquima del periciclo; 7. Parénquima del floema; 8. Parénquima del xilema.

da. El patógeno se determinó mediante preparaciones examinadas al microscopio de luz.

Pruebas de patogenicidad

Para la realización de estas pruebas se usaron zanahorias de mercado de la variedad "Chantenay". Este material se compró directamente a los distribuidores y se trajo al laboratorio donde se sometió a un lavado con agua potable; posteriormente se dejó secar a temperatura ambiente sobre papel periódico. Una vez eliminada la humedad superficial, se le sometió a un período de acondicionamiento de cuatro días en una cámara con aproximadamente 80 °/o de humedad relativa y una temperatura que osciló entre 25 y 28° C. Este tratamiento se hizo con el fin de favorecer la cicatrización y endurecimiento de la peridermis (Goodlife y Heale, 1977). También permitió desechar todo aquel material que mostrara síntomas de infección.

Todas las zanahorias sanas obtenidas al final del período de acondicionamiento fueron sometidas a un proceso de desinfección superficial. Este se realizó de la siguiente forma: cada raíz fue sumergida en una solución NaClO al 0,5 °/o durante tres minutos y luego se lavó tres veces consecutivas en agua destilada estéril. La inoculación se hizo en una cámara de transferencia, utilizando 1,0 cm^2 de PDA con crecimiento activo de cada uno de los hongos probados. Estas porciones se ubicaron sobre los diferentes tejidos de la raíz (Fig. 1), según se describe a continuación:

a. Colocación del inóculo sobre la peridermis sin heridas.

b. Ubicación del inóculo sobre el parénquima del periciclo expuesto mediante un raspado superficial, hecho con un bisturí estéril.

c. Colocación del inóculo sobre el parénquima del floema expuesto mediante un corte de aproximadamente 0,5 cm de profundidad.

d. Ubicación del inóculo sobre el parénquima del xilema expuesto mediante un corte profundo hasta el cilindro central.

Cada uno de los tratamientos tuvo un testigo al que se le colocó 1,0 cm^2 de PDA estéril.

El material inoculado se trasladó a una cámara húmeda estéril, donde se mantuvo por siete días a temperatura ambiente. Al final de este período se evaluó la reacción del tejido expuesto al patógeno. Se consideró como reacción positiva cuando hubo necrosis o desintegración del tejido y negativa cuando no hubo cambios en él. En los casos dudosos se reaisló el hongo y se hizo la inoculación de nuevo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Hongos asociados a las raíces de zanahoria

En el Cuadro 1 se presenta la población fungosa que se aisló tanto en muestras obtenidas en el campo como en el mercado. En el primer lugar de recolección, se observa que la mayoría de los hongos se presentan tanto en Tierra Blanca como en San Luis de Santo Domingo, zonas tradicionalmente productoras de hortalizas y donde a través de los años se ha establecido una población fungosa que afecta este tipo de productos, tanto en el campo como en poscosecha. En trabajos similares hechos con otras hortalizas (Mata, 1986; Campos, 1986; Rivera, 1987 y Vargas, 1987) se han determinado prácticamente los mismos hongos, por lo que este trabajo confirma una vez más la existencia de esa población de patógenos común a la mayoría de hortalizas en nuestro país.

Al comparar la población fungosa obtenida en el campo, con la del mercado, se observa que

CUADRO 1

HONGOS ASOCIADOS A RAICES DE ZANAHORIA PROCEDENTES DEL MERCADO Y LAS ZONAS PRODUCTORAS DE TIERRA BLANCA DE CARTAGO Y SAN LUIS DE SANTO DOMINGO, HEREDIA

MERCADO	*CAMPO*
Sclerotinia sclerotiorum	Sclerotinia sclerotiorum
Sclerotium rolfsii	Sclerotium rolfsii
Rhizopus stolonifer	Rhizopus stolonifer
Thielaviopsis sp.	Thielaviopsis sp.
Fusarium sp.	Fusarium sp.
Mucor sp.	Mucor sp.
Rhizoctonia sp	Rhizoctonia sp.
Trichoderma sp.	Trichoderma sp.
Penicillium sp.	* Phoma sp.
Verticillium sp.	Alternaria sp.
Gliocladium sp.	Cladosporium sp.
Geotrichum sp.	* Micelio estéril
Candida sp.	

* Hongos aislados solamente en muestras de Tierra Blanca de Cartago.

CUADRO 2

PRUEBAS DE PATOGENICIDAD REALIZADAS SOBRE TRES TEJIDOS DE LA RAIZ DE ZANAHORIA EN POSCOSECHA

HONGO	*TEJIDO INOCULADO*			
	Peridermis	*Parénquima periciclo*	*Parénquima floema*	*Parénquima xilema*
Sclerotinia sclerotiorum	+	+	+	+
Sclerotium rolfsii	+	+	+	+
Fusarium sp.	+	+	+	+
F. tricinctum	+	+	+	+
F. nivale	+	+	+	+
F. solani	+	+	+	+
F. oxysporum	+	+	+	+
Trichoderma sp.	+	+	+	+
Gliocladium sp.	+	+	+	+
Geotrichum candidum	—	+	+	+
Rhizopus stolonifer	–	+	+	+
Verticillium sp.	–	+	+	+
Penicillium sp.	–	+	+	+
Candida sp.	–	+	+	+
Mucor sp.	–	–	+	+
Phoma sp.	–	–	+	+
Rhizopus sp.	–	–	–	–
Alternaria sp.	–	–	–	–
Cladosporium sp.	–	–	–	–
Thielaviopsis sp.	–	–	–	–
Micelio estéril	–	–	–	–

\+ **Reacción positiva** — **Reacción negativa**

prácticamente la mitad de la lista es común a ambos sitios, independientemente de la procedencia original de las zanahorias a la venta; lo cual pone en evidencia que la mayor parte de estos patógenos vienen desde el campo desarrollando infecciones posteriormente (Harvey, 1988; Orias, 1989). Algunos hongos solamente se lograron observar en muestras de mercado como: *Penicillium* sp, *Aspergillus* sp, *Gliocladium* sp, *Geotrichum candidum* Link, *Verticillium* sp y *Candida* sp, los cuales, a excepción de *Verticillium*, son considerados principalmente como patógenos poscosecha (Vigliola y Calot, 1982; Campos, 1986; Rivera, 1987; Vargas, 1987).

Sitios más frecuentes de infección

Los sitios más frecuentes de infección fueron

el vértice de la raíz, la zona lateral y la "corona". Estos resultados coinciden con los sitios naturales de infección para *Mycocentrospora acerina* (Hartig) Deighton descritos por Davies *et al.* (1981).

En el vértice de la raíz y zona lateral frecuentemente ocurren infecciones debido a que con facilidad se produce la ruptura de la raíz principal y raíces laterales. Estas lesiones se convierten en puntos de penetración de los patógenos, a partir de los cuales se extiende la infección hacia los tejidos internos, que son más susceptibles (Goodlife y Heale, 1977). Además cuando existen abrasiones y heridas longitudinales o transversales, producto de la cosecha y manejo posterior, se incrementa el número de lesiones. Esto ocurre debido a la ruptura de la peridermis, que es el tejido más resistente a infecciones en la zanahoria (Goodlife y Heale, 1977; Davies *et al.*, 1981; Davies y Lewis, 1980; Lewis y Garrot, 1983). En la "corona" se producen lesiones al remover los pecíolos y a partir de éstas se empiezan a extender las infecciones hacia el cilindro central, desde donde se puede iniciar una maceración generalizada del resto de tejidos.

Patogenicidad de los hongos aislados

Las pruebas de patogenicidad sobre los diferentes tejidos de la raíz demuestran una resistencia diferencial que se reduce conforme se avanza hacia el centro de la raíz (Cuadro 2). Similares resultados encontraron Davies, Lewis y Day (1981), cuando inocularon *M. acerina* sobre peridermis parénquima del pericíclo, parénquima del floema y parénquima del xilema. Lo cual se cumplió prácticamente para todos los hongos que mostraron patogenicidad en este estudio. El tejido que se mostró más resistente fue la peridermis, sin embargo, a pesar de no existir heridas, hubo penetración de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) D By., *Sclerotium rolfsii* (Lib.) D By., *Fusarium* sp, *F. tricinctum* (Corda) Sacc., *F. nivale* (Fr.) Ces., *F. solani* (Mart.) Sacc., *F. oxysporum* Schlecht., *Trichoderma* sp. y *Gliocladium* sp. Los tejidos que fueron infectados por un mayor número de hongos fueron el parénquima del floema y del xilema, los cuales mostraron infecciones extensas en todos los casos. El parénquima del pericíclo mostró lesiones bien desarrolladas cuando se colocaron sobre él aquellos hongos que mostraron penetración directa en la peridermis, pero con los restantes hongos solo produjo lesiones localizadas lo que puede obedecer a la concentración de aceites esenciales que dificultan el establecimiento de los hongos; según Davies, *et al.*, (1981) este es un factor que restringe el crecimiento de estos patógenos. Por otra parte, este tejido tiene una mayor capacidad de cicatrización (Lewis *et al.*, 1981), la que pudo haberse activado al colocar en cámara húmeda el material inoculado.

Las heridas profundas que alcanzan el parénquima del floema o del xilema, pueden originar infecciones rápidamente; del mismo modo aquellas originadas en la "corona", raíz principal y raíces laterales de la zanahoria.

14 de agosto de 1989.

LITERATURA CITADA

AGRIOS, G. N. 1978. Plant Pathology. Academic Press, New York. 703 p.

CAMPOS, D. 1986. Identificación y patogenicidad de los hongos presentes en frutas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mills) en poscosecha. Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 45 p.

DAVIES, W.P. and B.G. LEWIS. 1980. The inter-relationship between the age of carrot roots at harvest and infection by *Mycocentrospora acerina* in storage. Annals of Applied Biology. 95: 11-17.

DAVIES, W.P., B.G. LEWIS and J.R. DAY. 1981. Observations on infection of stored carrot roots by *Mycocentrospora acerina*. Transactions of the British Mycological Society. 77: 139-151.

GOODLIFE, J.P. and J.B. HEALE. 1977. Factors affecting the resistance of stored carrot roots to *Botrytis cinerea*. Annals of Applied Biology. 85: 163-164.

HARVEY, M. 1988. Efecto del período y dos temperaturas de almacenamiento sobre la susceptibilidad de raíces de zanahoria (*Daucus carota* var *sativa* L.) a la infección por los patógenos más frecuentes en poscosecha. Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 84 p.

LEWIS, B.G., W.P. DAVIES, and B. GARROT. 1981. Wound-healing in carrot roots in relation to infection by *Mycocentrospora acerina*. Annals of Applied Biology. 99: 35-42.

LEWIS, B.G. and B. GARROT. 1983. Carrots. *In* Post-Harvest Pathology of Fruits and Vegetables. Ed. by C. Dennis. Academic Press. London. pp. 103-120.

MATA, F. 1986. Identificación de los principales hongos y bacterias presentes en la superficie de tubérculos de papa. Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 52 p.

ORIAS, L. 1989. Evaluación de pérdidas poscosecha causadas por patógenos en cebolla (*Allium cepa* L.) veranera, sometida a diferentes períodos y temperaturas de almacenamiento. Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 102 p.

RIVERA, G. 1984. Manejo poscosecha de hortalizas. Boletín Agrario. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 4 p.

RIVERA, O. 1987. Efecto de la temperatura en la manifestación de patogenicidad de microorganismos patógenos portados sobre la superficie de frutos de chile (*Capsicum annum* L.). Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 92 p.

SOMMER, N.F. 1985. Role of controlled environments in suppression of postharvest diseases. Canadian Journal of Plant Pathology. 7: 331-339.

SWINBURNE, T.R. 1983. Quiescent infections in Post-Harvest Diseases. *In* Post-Harvest Pathology of Fruits and Vegetables. Ed. by C. Dennis. Academic Press. London. pp. 1-17.

VARGAS, R. 1987. Detección, identificación y patogenicidad de microorganismos presentes durante cosecha en cebolla (*Allium cepa* L.) producida en la zona alta de Cartago. Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 68 p.

VIGLIOLA I. y I. CALOT. 1982. Enfermedades en poscosecha. Argentina. Hemisferio Sur. pp. 72-75.