

Identificación de Mohos Asociados al Deterioro Post Cosecha de Frutos de Cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal)

Ramírez-López, Santiago¹; Quispe-Condori, Sócrates²; Quito-Vidal, Moisés¹

Resumen

El presente trabajo tuvo por objetivo identificar el género del moho que infecta los frutos frescos post cosecha de cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal). Las colonias presentes en la superficie del fruto fueron aisladas y cultivadas por extensión en medio de cultivo agar papa con oxitetraciclina al 10 % (APOX). Fueron observadas cepas de coloración rojiza, púrpura y morado. Estas características fueron usadas para la identificación presuntiva. La prueba confirmativa se realizó con la técnica de cámara húmeda, observándose por el microscopio que el ordenamiento, estructura y configuración de las esporas son morfológicamente similares al género *Fusarium* sp. Esta información concuerda con lo citado en la literatura.

Palabras Clave: Cocona, moho, *Solanum sessiliflorum*, *Fusarium*, cámara húmeda.

Identification of Mold Damage Associated with Post Harvest Fruit Cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal)

Abstract

The objective of the present work was to identify the mold genus that infects cocona fruits (*Solanum sessiliflorum* Dunal). The colonies on the surface were isolated and cultivated in potato agar for longevity with oxytetracycline 10% (APOX). The colors of the strains were red, purple and violet. These features were used to make a presumptive identification. The confirmatory test was carried out by the moist chamber technique. The morphological arrangement, structure and configuration of the spores were found to be similar to those of *Fusarium* sp. These findings correspond with similar cited experiments in literature.

Keywords: Cocona, mold, *Solanum sessiliflorum*, *Fusarium*, moist chamber.

Introducción

La cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal) es considerada como un producto amazónico prioritario para el aprovechamiento y utilización, siendo necesario el desarrollo de técnicas para incrementar la producción y conservación, así como, poner en evidencia su potencial manejo postcosecha (De Melo 1996).

Como todas las solanáceas, la cocona es susceptible a la infección por parte de mohos y bacterias, las cuales son favorecidas por el exceso de humedad (Gallozi y Duarte 2007). También fueron observados síntomas de infección de virus, tales como: huecos severos y zonas necróticas en hojas de las plantas de cocona sembradas en la selva alta de Tingo María (al este

del Perú) en el año 2000 (Melgarejo y otros 2003).

En los cultivos de cocona se han reportado ataques de *Meloidogyne* sp. y *Sclerotium* sp, así también de *Ocimum basilicum* (Melgarejo 2002). Se realizaron estudios para evaluar el efecto de diferentes fungicidas sobre el control de *Alternaria solani* obteniendo como resultados mayores rendimientos y menores incidencias del tizón sobre hojas y frutos a una concentración del 0.5 %.

Los principales géneros de mohos que afectan la cocona, son: *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Pythium* y *Fusarium*, provocando marchitez de la planta (Gallozi y Duarte 2007).

Según la International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1998), el *Fusarium* es uno de los géneros más importantes de los hongos patógenos en las plantas y las especies siendo responsables de

¹Centro de Investigación en Ciencia de Alimentos, ²Centro de Investigación en Ingeniería de Alimentos, EAP Ingeniería de Alimentos, Universidad Peruana Unión. Casilla 3564, Carretera Central Km. 19.5, Ñaña, Lima - Perú, santiago@upeu.edu.pe

agostamientos, tizones y putrefacciones de raíz.

La importancia de este género radica en que las infecciones pueden darse a través de las semillas de los productos, especialmente de los cereales; mientras que las micotoxinas son variadas y capaces de provocar la intoxicación “aleukia tóxica alimentaria” (ATA), tal como sucedió entre 1942 y 1948 en la URSS (ICMSF 1998).

Para el recuento de especies de *Fusarium* los medios de cultivo deben contar con elevada actividad de agua (a_w), que permitan un rápido crecimiento de las cepas. El agar papa, resulta apropiado, con la incorporación de cloranfenicol u otro antibiótico de amplio espectro con el fin de eliminar las bacterias (Mossel y otros 2003).

Para la identificación de las colonias de *Fusarium* se requiere observación cuidadosa y experiencia, sin embargo, para la identificación presuntiva a nivel de género se puede realizar en base al aspecto de la colonia, mientras que para la confirmación se requiere la observación microscópica, observando los macroconidios de forma crescente, característicos del género (ICMSF 1998)

Por lo tanto, el presente trabajo tuvo por objetivo identificar morfológicamente al moho principal responsable del deterioro post cosecha de frutos de cocona.

Materiales y Métodos

Lugar de ejecución

Esta investigación se desarrolló en las instalaciones del Centro de Investigación en Ciencias de Alimentos (CICAL) de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura.

Medio de Cultivo: Agar papa con oxitetraciclina

El medio usado para el crecimiento y desarrollo de los mohos fue el agar papa con oxitetraciclina (APOX) desarrollado por Pérez y Quito (2006) (Figura 1).

Como fuente de nutrientes se utilizó la papa blanca, variedad Yungay, la glucosa como fuente de carbono y el agar agar como soporte del medio de cultivo (agar papa). Paralelamente, fue preparada con agua destilada estéril, la solución de oxitetraciclina al 0.1 %, la que fue mezclada con el medio de cultivo a una concentración del

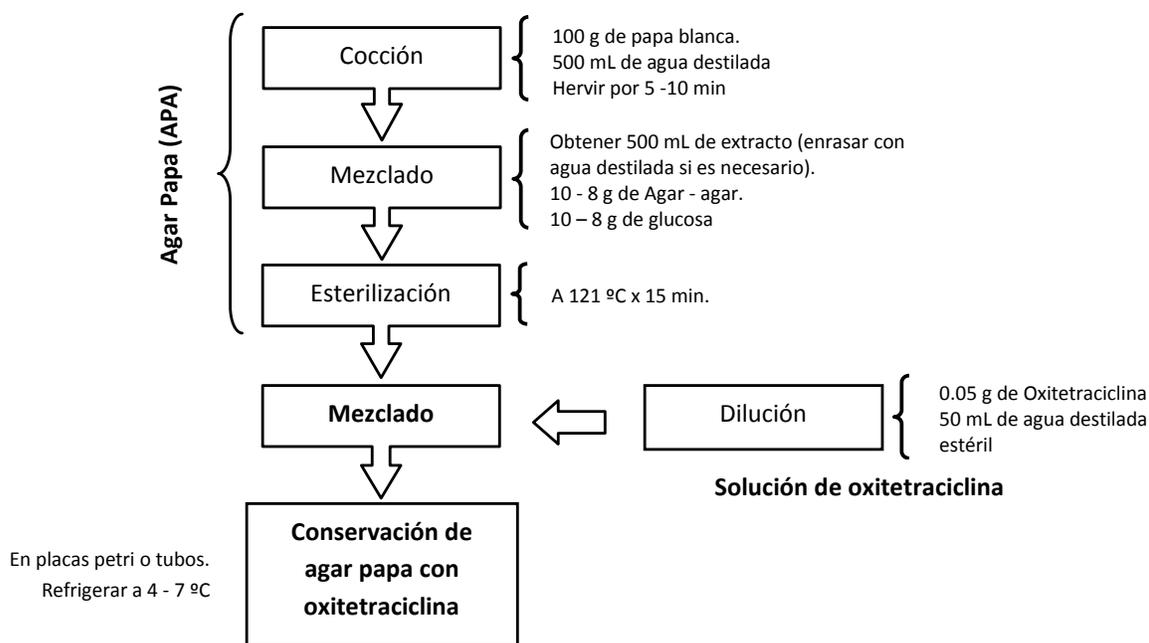


Figura 1 - Preparación del agar papa con oxitetraciclina (0.1 %) utilizado para el aislamiento de mohos (Pérez y Quito 2006)

10 % del volumen del medio.

Cabe señalar que mezclado el agar papa con la solución de oxitetraciclina al 0.1 %, el APOX es colocado en placas y tubos para su conservación y posterior utilización. Así también, fue necesario preparar una placa con una delgada capa de APOX para la identificación de los mohos.

Metodología de siembra e aislamiento

Para aislar los mohos responsables del deterioro de cocona fueron tomadas muestras de frutos con evidencias claras de enmohecimientos y seguidamente se realizó siembra por extensión (0.1 mL de muestra) de distintas diluciones de solución salina peptonada enriquecida con la carga microbiana de la cocona e incubada por espacio de cinco días a temperatura ambiente.

Posteriormente, las colonias desarrolladas fueron repicadas en placas con APOX fresco y sembrando con la técnica de estrías por agotamiento de superficie. Asegurado la presencia exclusiva de los mohos seleccionados para el estudio, se procedió a sembrar en tubos con APOX inclinado y almacenados en refrigeración (4 - 7 °C) para su conservación.

Después fueron evaluadas las características culturales de las colonias desarrolladas en el medio APOX, tales como: color, tamaño, número de colonias y desarrollo de micleos, brillantez. Esto con el propósito de establecer presuntivamente el género del moho para luego ser confirmado por la observación a través del microscopio.

Identificación Morfológica: Cámara húmeda

Para la observación microscópica de los mohos presentes en la cocona descompuesta fue preparada la técnica de cámara húmeda. Esta técnica es una modificación de la descrita por Mossel y otros (2003), la cuál favorece el crecimiento exclusivo del microorganismo entre el portaobjeto y cubreobjeto sobre la base del medio de cultivo selectivo de agar papa con oxitetraciclina (capa delgada de APOX).

El incremento de la humedad se logra a través de la incorporación de un trozo de algodón húmedo y estéril (Figura 2). Finalmente, la identificación de los mohos fue realizada usando un microscopio óptico con pantalla integrada marca Tecnal.

Resultados y Discusión

Durante los experimentos fue observado que a medida que el tiempo avanzaba, el desarrollo de mohos en los frutos (Figura 3 - a) fue intensificándose. Las esporas provenientes de la misma carga microbiana del fruto influyeron en el mismo. Los microorganismos comenzaron a desarrollarse al encontrar las condiciones favorables, tales como: temperatura (25—30 °C), a_w (0.90—0.95) y sustrato.

Los mohos presentes en el deterioro del fruto (Figura 3 - a) fueron sembrados por extensión y por agotamiento de superficie en placas con medio APOX (Figura 3 - b), posteriormente fueron aislados en tubos con agar APOX inclinado. A medida que transcurrían los días, la cepa fue coloreando con púrpura la base sobre la cual se crecía. Finalmente, algunas cepas cambiaron el color púrpura por cierta coloración azul, estas características son acordes a los descritos por el ICMSF (1998).

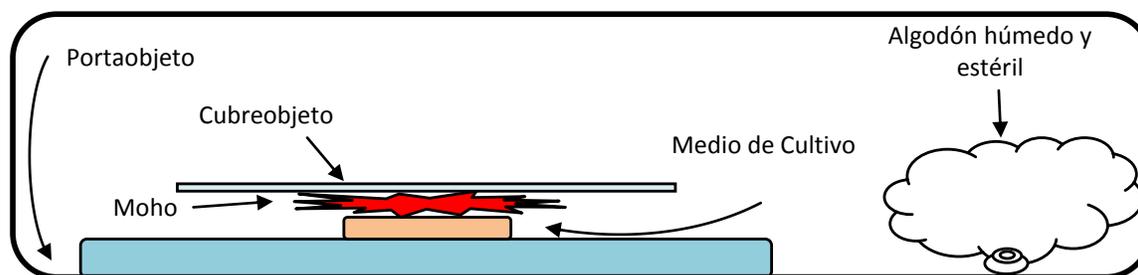


Figura 2 - Esquema de la cámara húmeda modificada y preparada para el crecimiento y observación de los mohos que afectan la cocona, desarrollada por Mossel y otros (2003)

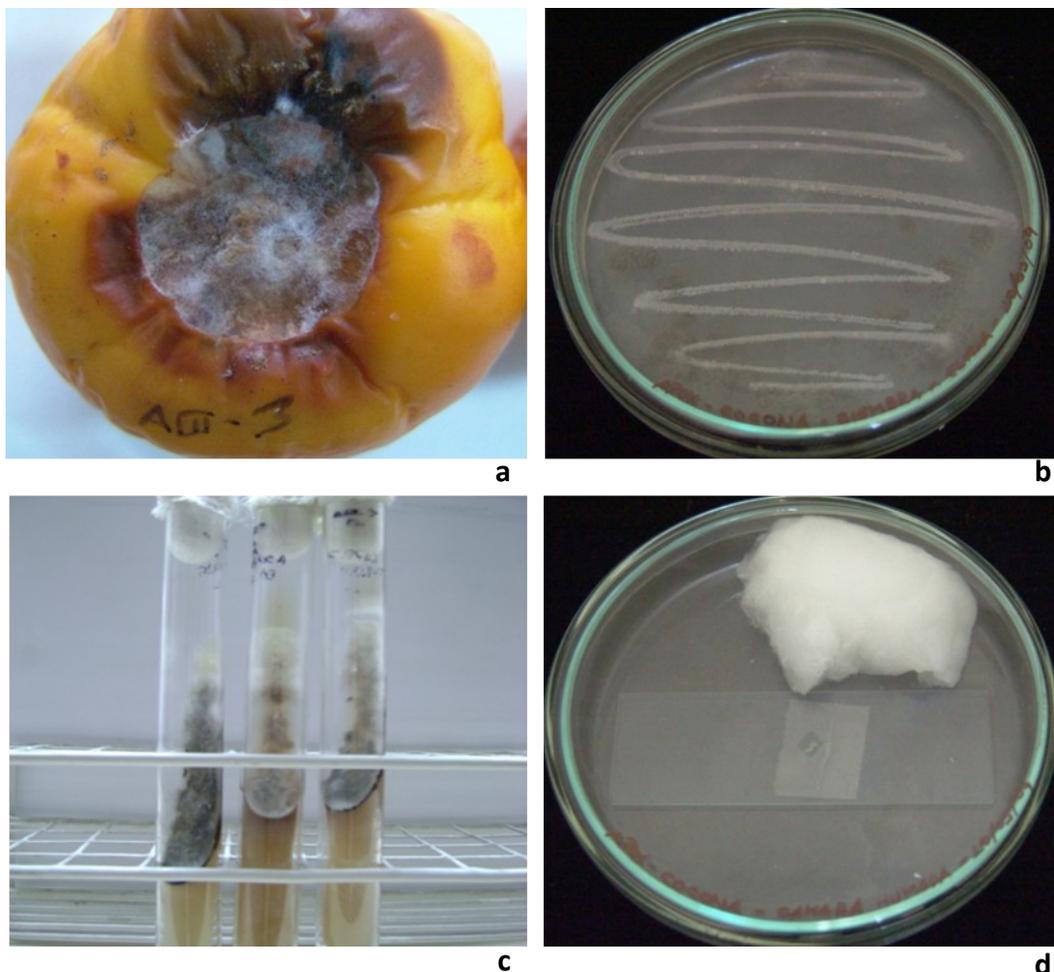


Figura 3 - Aislamiento y siembra de mohos responsables del deterioro de cocona: (a) desarrollo de mohos en la fruta, (b) siembra de mohos por extensión, (c) aislamiento en APOX inclinado y (d) siembra en cámara húmeda

Las siembras por extensión preliminares mostraron una fuerte competencia entre mohos y levaduras, por ese motivo fue necesario añadir la siembra por agotamiento de superficie, intentando desarrollar cepas aisladas que faciliten su cultivo puro. Obtenido el desarrollo de cepas totalmente aisladas y sin contaminación, fueron repicadas en tubos con APOX inclinado para su conservación y utilización en los estudios de identificación. Comportamientos similares al desarrollo en las placas y en los tubos con APOX inclinado fue encontrado para el caso de las cámaras húmedas.

Los *Fusarium* como género están ampliamente distribuidos en zonas de cultivos. Atacan generalmente plantas arbustivas produciendo

marchitez y podredumbre. La cocona y la naranjilla son muy susceptibles al ataque por mohos del género *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Pythium* (Gallozi y Duarte 2007). Al igual que en el aislamiento del moho, durante el cultivo en la cámara, la cepa comenzó a producir pigmento de color púrpura y azulado. A medida que el micelio aumentaba en volumen la coloración se extendía. Muchas veces esta pigmentación puede verse influenciada por el pH de medio de cultivo. Además, el rápido crecimiento (24 - 48 h en incubación a temperatura ambiente) de los micelios en el agar papa, son señal de desarrollo de *Fusarium* sp.

Las siembras en cámaras húmedas fueron observadas en el microscopio óptico las cuales

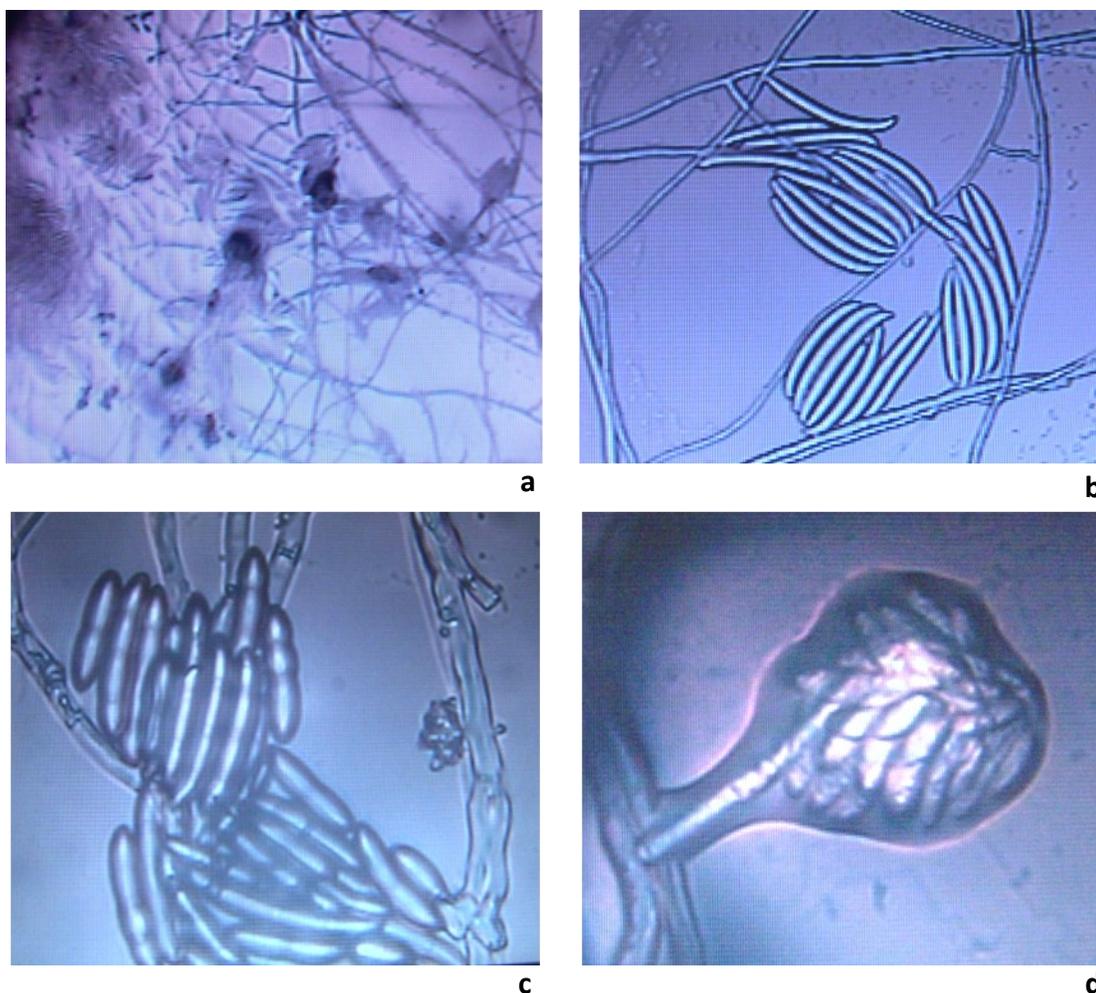


Figura 4 - Mohos aislados que se desarrollan en la superficie de la cocona observados con aumento de: (a) x 4, (b) x 40, (c) y (d) x 100

son presentadas en distintas amplificación en la figura 4. Para las fotografías fueron seleccionadas estructuras que muestren la distribución representativas de las esporas, formación de micelios, desarrollo de conidios. Los mohos que se desarrollan en los frutos de cocona, presentan microconidias (estructuras reproductoras asexuales) tal como se presenta en la figura 4 - d.

Otro aspecto importante para la identificación, de los mohos encontrados, es la agrupación de macroconidias y formaciones de clamidiosporas, todas las muestras analizadas coincidieron con este tipos de estructuras. La identificación de especies fúngicas tiene como primer paso el estudio morfológico, es decir, la descripción de las características de esporas, micelos, forma y color de las cepas. Generalmente el desarrollo de

macroconidias es exclusividad del género *Fusarium sp.* sumando las características observadas en el moho, tales como: la formación de conidios septados en forma de “banana”, formaciones en masa y terminaciones punteadas, que son características propias del género *Fusarium sp.* (Carrillo 2003).

De acuerdo con la morfología presentada por Mossel y otros (2003), en cuanto a forma y distribución de las esporas, el moho aislado de la cocona se asemeja al *Fusarium sp.* Esto es apoyado por Giménez (1982), quien estudio el desarrollo de mohos en plantaciones de naranjo, logrando identificar al *Fusarium lateritium* como el responsable de la infección

Conclusiones

En el estudio del control biológico postcosecha fue identificado el microorganismo responsable del deterioro de la cocona, la evaluación cultural en el medio APOX muestra características propias del género *Fusarium* sp. Así también, el ordenamiento, estructura y configuración de las esporas observadas por el microscopio permitió comparar y confirmar morfológicamente que la cepa aislada pertenece al género *Fusarium* sp.

Referencias

- Carrillo L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Salta - Argentina: Universidad Nacional de Salta.
- De Melo S. 1996. Complementariedad de producción sostenible fruti hortícola Amazónica. Pucallpa - Perú: Tratado de Cooperación Amazónica.
- Gallozi R, Duarte O. 2007. Cultivos de diversificación para pequeños productores de frijol y maíz en América Central. Nicaragua: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Giménez I. 1982. Identificación de *Fusarium lateririum* Ness. (*Gibberella bacatta* (Wallr) Sacc.) en naranjo Navel. Bol. Serv. Plagas. 8: 149 - 157.
- ICMSF. 1998. Microbiología de los alimentos: Características los patógenos microbianos. Traductor Manuel Ramis V. Zaragoza - España: Editorial Acribia.
- Melgarejo T. 2002. Aislamiento y caracterización de dos virus que infectan a la cocona (*Solanum sessiliflourum* Dunal). Lima - Perú: Tesis de Maestría - UNALM.
- Melgarejo T, Fribourg C, Russo M. 2003. Properties of a tombusvirus that infects cocona (*Solanum sessiliflourum*) in the peruvian jungle. Journal of Plant Pathology. 85 (2) 105 - 110.
- Mossel D, Moreno-García B, Struijk C. 2003. Microbiología de los Alimentos. Zaragoza - España: Editorial Acribia.
- Pérez A., Quito M. 2006. Aislamiento e identificación morfológica de mohos en tomate fresco utilizando agar papa oxitetraciclina (APOX). VI Congreso Nacional de Industrias Alimentarias. Juliaca - Perú.