

# Hongos fitopatógenos del clavel

## (*Dianthus caryophyllus*)

Verónica García García y Sara Lucía Camargo Ricalde<sup>1</sup>

LA CAUSA MÁS FRECUENTE de la pérdida económica registrada en el cultivo del clavel, *Dianthus caryophyllus* L., son las enfermedades de origen fúngico. Por ello, se llevó a cabo este estudio en los invernaderos de San Luis Tlaxiátemalco, Xochimilco, Distrito Federal, que incluyó el aislamiento, purificación, identificación y descripción de los principales hongos fitopatógenos que atacan este

cultivo. Se encontraron seis de éstos: cuatro de importancia económica para el cultivo del clavel: *Fusarium*, *Botrytis*, *Alternaria* y *Rhizoctonia*, y dos de baja o nula importancia económica: *Stemphylium* y *Cladosporium*. Con lo anterior se formó una colección de cepas (cepario) y se reunieron preparaciones permanentes de los hongos fitopatógenos del clavel para facilitar su identificación y su estudio *in vitro* con el fin de usar medidas preventivas y de control. Ambas colecciones se encuentran en el Laboratorio de Hongos y Bacterias del Centro Nacional de Referencia de Diagnóstico Fitosanitario (CNRDF) de la Dirección General de Sanidad Vegetal, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).

El clavel, *Dianthus caryophyllus* L., es una planta de origen mediterráneo que ocupa un lugar importante dentro de la floricultura ornamental por su fácil propagación vegetativa. Ocupa el segundo lugar en importancia a nivel nacional e internacional, superado únicamente por la rosa. De su producción en México 93% se realiza a la intemperie y 7% en invernadero. El principal productor es el estado de México con 60% de la producción,<sup>2</sup> aunque también se cultiva en Puebla, Michoacán y Nuevo León, entre otros estados.<sup>3</sup>

En el Distrito Federal, Xochimilco es un típico productor de plantas ornamentales: 50% de su población depende directa o indirectamente de la producción y comercio de productos hortícolas, alrededor de 89 ha se destinan a la producción de plantas ornamentales, que se venden en maceta, cepellón o chapín principalmente en los mercados locales.<sup>4</sup> En 1998 el valor total de la producción del clavel para el Distrito Federal fue de 90 mil pesos.<sup>5</sup>



Fidel Ugarte

Las plantas de este centro hortícola sufren diversas plagas y enfermedades debido sobre todo a los canales y chinampas, donde se favorece el desarrollo de patógenos, especialmente de hongos. Esto es un grave problema para los floricultores, pues la mayoría posee escasos recursos económicos y desconoce las técnicas de prevención y control de enfermedades.<sup>6</sup>

Con vista en lo anterior, nuestro objetivo fue determinar los hongos fitopatógenos que atacan el cultivo del clavel en San Luis Tlaxiátemalco, para luego conformar con ellos un cepario y una colección de preparaciones permanentes. Por medio de éstos se facilita la identificación y estudio *in vitro* de los hongos con el fin de realizar medidas preventivas y de control para evitar las enfermedades que éstos provocan en el clavel.

Para conseguir nuestros objetivos seguimos la metodología esquematizada en la Figura 1 y descrita en los siguientes párrafos.

En primer lugar levantamos el muestreo: en los invernaderos de San Luis Tlaxiátemalco dedicados al cultivo del clavel llevamos a cabo tres muestreos, en cada uno recolectamos quince plantas con síntomas causados aparentemente por hongos. Las 180 muestras que obtuvimos procedían de cuatro partes de cada planta: flores, hojas, tallos y raíces. El material colectado se procesó en el Laboratorio de Hongos y Bacterias del CNRDF de la SAGARPA, donde lo analizamos y diagnosticamos de acuerdo con las técnicas de Espinoza; Ulloa y Hanlin; y López.<sup>7</sup>

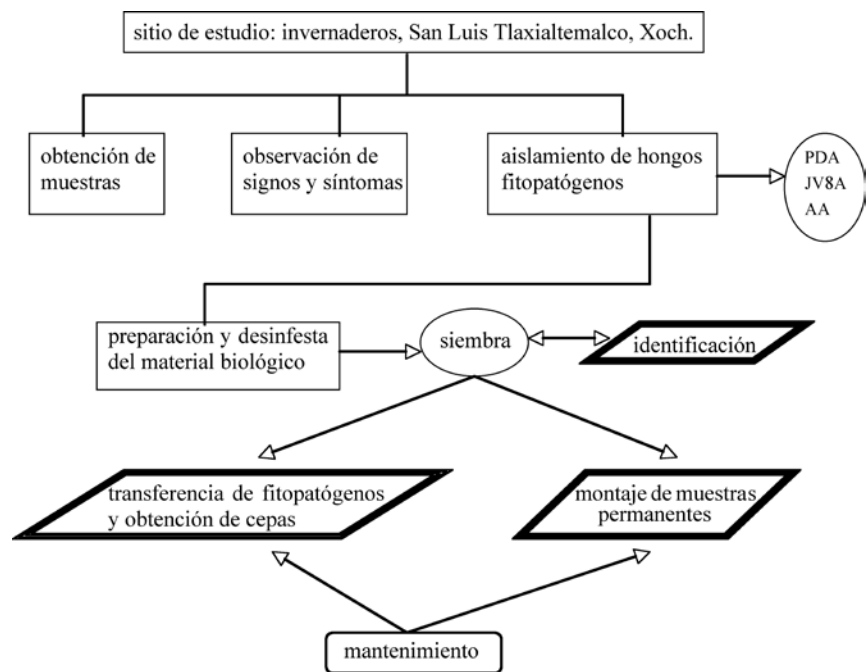
Más adelante, a partir de las muestras recolectadas hicimos una descripción de la sintomatología que presentaba cada uno de los órganos de las plantas. Enseguida procedimos a aislar los hongos, para lo que fue necesario elaborar tres medios de cultivo: uno compuesto de papa, dextrosa y agar (PDA), otro con jugo de ocho verduras y agar (JV8A), y uno más sólo con agua y agar (AA). Para la preparación de nuestras muestras, cortamos cuadros de tejido vegetal de 1 cm<sup>2</sup>, que tomamos de la zona de transición entre el tejido sano y el enfermo en los diferentes órganos de la planta; para su desinfección, sumergimos durante un minuto este tejido en una solución de hipoclorito de sodio al 1%. Luego lo

enjuagamos tres veces con agua destilada, para finalmente pasarlo a cámaras de secado.

Para sembrar el material de las cámaras de secado tras pasamos tres o cuatro secciones de tejido de cada órgano a cajas de Petri con diferentes medios de cultivo previamente elaborados. Cada caja se selló con papel *parafilm*, se incubaron a 28° C y la mayoría de los hongos formaron esporas entre el cuarto y el quinto día después de la siembra.

Sólo después de este proceso pudimos obtener suficientes colonias de hongos. Entonces asumimos la tarea de identificarlos. Elaboramos las descripciones a partir de estos criterios: color, forma de crecimiento y tipo de estructuras

Figura 1.  
Método para la identificación de los hongos fitopatógenos y la posterior conformación de un cepario y de una colección de preparaciones permanentes



reproductivas desarrolladas. Seguimos las claves monografías y síntomas particulares en el clavel determinados por diversos autores como Barnett y Hunter; Ellis, Ulloa y Hanlin; Espinoza; González, Herrera y Ulloa.<sup>8</sup>

A partir de esta identificación montamos preparaciones permanentes en resina, que pasaron a integrar la primera parte de nuestra colección. Cada preparación contiene las estructuras diagnósticas características de cada género o especie.

El siguiente paso fue purificar cada colonia a partir del material biológico infectado sembrado en las cajas de Petri. Conseguimos esto pasando el material de una caja a otra hasta obtener un cultivo puro (cepa).

Lo único que quedaba por hacer después de haber identificado y purificado las cepas era brindarles mantenimiento. Para ello las transferimos a tubos de ensaye con medio de cultivo PDA y sellados. Si los tubos se mantienen a 20° C en la oscuridad, pueden sobrevivir seis meses. Este paso se realiza indefinidamente para mantener la colección de cepas, ubicada en el Laboratorio de Hongos y Bacterias del CNRDF de la SAGARPA.

Una vez que las cepas estuvieron listas les aplicamos un análisis de varianza (ANDEVA)<sup>9</sup> para determinar la diferencia en el número de colonias desarrolladas por los hongos fitopatógenos identificados de acuerdo con cada órgano de la planta y con los tres medios de cultivo empleados. A partir de este análisis obtuvimos los siguientes resultados.

Los hongos aislados e identificados a partir de las muestras colectadas fueron *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:fr., *Alternaria* sp., *Botrytis cinerea* Pers.:fr. y *Rhizoctonia solani* Kühn, considerados de gran importancia económica para el cultivo del clavel. Además, se aislaron *Stemphyllium* sp. y *Cladosporium* sp., los cuales se consideran de baja o nula importancia económica debido a su baja incidencia (Tabla 1).

A continuación presentamos los signos y síntomas provocados por cada hongo, acompañados de notas en las que describimos cada colonia obtenida y sus características microscópicas.

*Fusarium oxysporum* Schlechtend.:fr.

Uno de los primeros síntomas es el marchitamiento de los brotes más jóvenes y es común observar cómo se distorsiona el tallo o se encorva hacia el lado afectado. El color verde del follaje cambia a amarillo paja, indicio de su muerte. El hongo también daña y bloquea los haces vasculares de la raíz del clavel, por lo que las plantas se marchitan primero y luego mueren.<sup>10</sup>

*Alternaria* sp.

Este hongo causa manchas en las hojas. Pequeñas y de color púrpura al principio, crecen rápidamente de forma circular. Es frecuente observar grandes áreas necróticas en las hojas debido a la unión de varias manchas. En los tallos las lesiones son superficiales al principio, pero después penetran en lo profundo, con lo que causan una especie de ahorcamiento y, por consiguiente, deshidratan los tejidos infectados, lo que provoca la muerte.<sup>11</sup>

*Botrytis cinerea* Pers.:fr.

Los pétalos presentan manchas pardas. Conforme avanza la enfermedad el color de las manchas cambia a pardo-grisáceo debido a las fructificaciones del hongo, las cuales, a su vez, mantienen unidos los pétalos y les dan una apariencia polvorienta.<sup>12</sup>

Tabla 1. Principales enfermedades de origen fúngico en el cultivo del clavel

ENFERMEDAD	SÍNTOMA	AGENTE	TIPO DE HONGO
alternariosis	manchas en tallos y hojas	<i>Alternaria</i> sp. *	necrotrófico
tizón	manchas en los pétalos	<i>Botrytis cinerea</i> *	necrotrófico
marchitamiento	asintomático	<i>Cladosporium</i> sp.	necrotrófico
fusariosis	deseccación de la planta	<i>Fusarium oxysporum</i> *	necrotrófico especializado
podredumbre	podredumbre del tallo	<i>Rhizoctonia solani</i> *	necrotrófico
marchitamiento	asintomático	<i>Stemphyllium</i> sp.	necrotrófico

Otros hongos fitopatógenos del clavel no reportados en este estudio:<sup>20</sup>

ENFERMEDAD	SÍNTOMA	AGENTE	TIPO DE HONGO
heterosporiosis	las hojas y tallos afectados se rompen fácilmente en los puntos de infección	<i>Heterosporium echinulatum</i>	necrotrófico
marchitamiento	manchas en las hojas	<i>Septoria dianthi</i>	necrotrófico
roya o chahuixtle	rompimiento de la epidermis de tallos y hojas por la acumulación de esporas	<i>Uromyces caryophyllinus</i>	biotrófico

\* Hongos fitopatógenos que también atacan el cultivo del crisantemo<sup>21</sup>

*Rhizoctonia solani* Kühn

Los síntomas son poco aparentes; sólo se observa una pequeña pudrición en la base del tallo, lo que ocasiona que la planta se marchite y luego muera debido a que se impide el paso del agua y los nutrimentos.<sup>13</sup>

*Stemphylium* sp. y *Cladosporium* sp.

Las plantas no presentaron signos o síntomas aparentes en ninguna de estas dos cepas.<sup>14</sup>

Por otra parte, es importante señalar que de los seis hongos los primeros dos en la lista se encontraron en los diferentes órganos de la planta; mientras que *R. solani* se halló únicamente en tallo y raíz; *B. cinerea* y *Cladosporium* sp. sólo se aislaron a partir de la flor, y *Stemphylium* sp. se consiguió de una sola muestra de hoja. Asimismo, se comprobó que *F. oxysporum* es el hongo fitopatígeno de mayor incidencia con 51.38% en esta localidad. El segundo lugar lo toma *Alternaria* sp., cuya incidencia alcanza 41.59%, mientras que los demás sólo se encontraron en porcentajes menores: *R. solana*, 3.67%, *B. cinerea*, 1.83%, *Cladosporium* sp., 1.22% y *Stemphylium* sp., 0.30% (Gráfica 1).<sup>15</sup> Una conclusión de este estudio es que el medio de cultivo óptimo es el de PDA, ya que favorece el crecimiento y la esporulación de una gran variedad de hongos fitopatógenos.<sup>16</sup>

Las especies de hongos fitopatógenos reportados en esta investigación corresponden con los señalados por otros autores;<sup>17</sup> sin embargo, no se registraron tres especies de hongos patógenos del clavel que han sido considerados de gran importancia económica por los graves daños al cultivo que provocan: *Uromyces caryophyllinus* (Schrank.) Wint., *Heterosporium echinulatum* (Berk.) Cke. y *Septoria dianthi* Desm. Asimismo, varios de los hongos fitopatógenos reportados atacan otros cultivos, como el crisantemo.

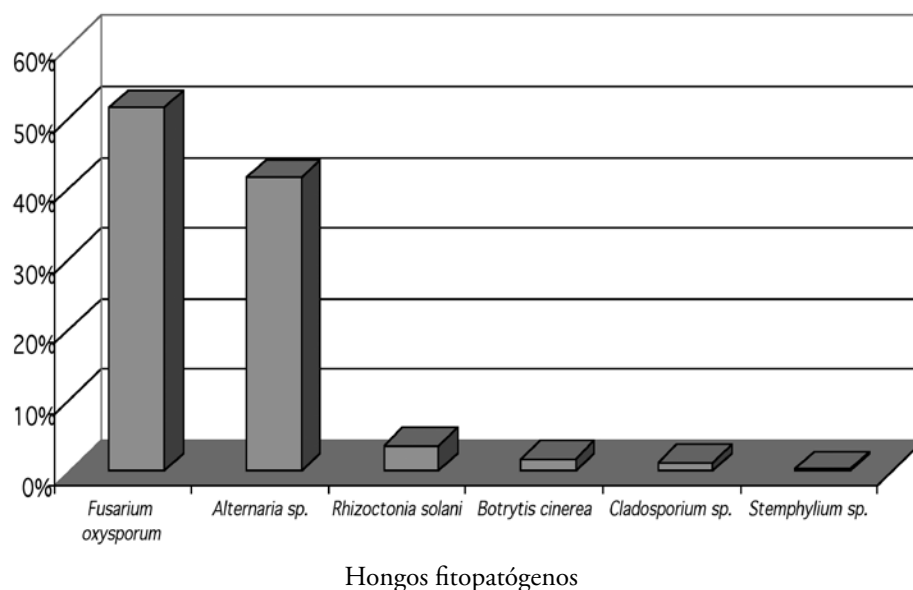
Es una situación crítica que se haya encontrado *Fusarium oxysporum* en los invernaderos estudiados, ya que causa la enfermedad más grave del clavel, la más difícil de controlar y de prevenir, la fusariosis. Tanto en México como en el resto de los



Fidel Ugarte

países productores –entre ellos Holanda, España e Italia– se le considera un estrago debido a que forma esclerocios, los cuales pueden sobrevivir por varios años en el suelo. De ahí la importancia de que se lleven a cabo las recomendaciones que sugerimos más adelante.

Gráfica 1. Porcentaje de incidencia de los hongos fitopatógenos encontrados en el cultivo del clavel



Con relación a los medios de cultivo empleados se confirma que el medio PDA es de amplio espectro. En él gran diversidad de hongos puede crecer y desarrollarse, así como formar estructuras reproductivas y esporular, por lo que se recomienda su uso en este tipo de estudios. Sin embargo, hay que considerar que ciertos hongos fitopatógenos, como *Septoria chrysanthemi* Halst. in Seym. & Earle, sólo pueden esporular en medios de cultivo específicos.

En lo que respecta a los ceparios y las colecciones de preparaciones permanentes, su importancia radica en la necesidad de mantener cepas de referencia para la identificación de los hongos fitopatógenos a partir de sus características morfológicas, tanto somáticas como reproductivas. Su existencia apoya y facilita la toma de decisiones respecto a las medidas preventivas y de control para la creación de programas fitosanitarios específicos; además, con ellas se apoya, al mismo tiempo, la experimentación *in vitro*. De ahí que sea necesario fomentar este tipo de estudios y la creación de estas colecciones (cepas y preparaciones permanentes) de hongos fitopatógenos.

Con este trabajo y con otro enfocado al cultivo del crisantemo<sup>18</sup> se iniciaron las colecciones de cepas y de preparaciones permanentes de hongos fitopatógenos. Ambas se encuentran en el Laboratorio de Hongos y Bacterias del Centro Nacional de Referencia de Diagnóstico Fitosanitario (CNRDF), de la Dirección General de Sanidad Vegetal, de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Las recomendaciones derivadas de este trabajo son:

- En el caso de *F. oxysporum* —el patógeno de mayor incidencia en esta localidad y la causa de mayores pérdidas económicas entre los floricultores—, que provoca la enfermedad de mayor importancia económica a nivel mundial, habría que considerar las siguientes medidas preventivas: 1) evitar la fertilización excesiva con nitrógeno, ya que favorece su proliferación; 2) esterilizar los sustratos utilizados para el enraizamiento de los esquejes, además, deben ser de materiales inertes y porosos como la agrolita y el tezontle
- Incentivar a los centros de investigación nacionales para que trabajen sobre situaciones que afectan sistemáticamente a la sociedad, como en este caso, a los productores de clavel de San Luis Tlaxiátemalco

También hacemos nuestras las recomendaciones que se enlistan en el estudio de los hongos fitopatógenos del crisantemo,<sup>19</sup> a saber:

- Evitar la introducción al país de plantas infectadas de origen; así como respetar y reconsiderar los periodos de cuarentena para reducir la incidencia de hongos fitopatógenos en la producción y comercialización de plantas ornamentales
- Mejorar el control fitosanitario (inspección y supervisión constante) para recolectar y destruir las plantas enfermas
- Construir invernaderos con las condiciones de ventilación, iluminación, aireación y control de humedad adecuadas para evitar el crecimiento, desarrollo y propagación de los hongos fitopatógenos
- Desinfección periódica de los invernaderos: lavar las paredes con sulfato de cobre, formaldehído o cloropicrina después de la cosecha de plantas y antes del inicio de una nueva siembra
- Adicionar materia orgánica con una gran cantidad de celulosa al suelo, ya que en algunas etapas de su descomposición ésta favorece una mayor producción de bióxido de carbono y menor cantidad de oxígeno, con lo que se provoca la muerte de algunos hongos fitopatógenos
- Usar fungicidas como Benomilo, Tiabendazol, Carbandaniz, Iprodiona, Vinclozolin, Clorotalonil, Mancozeb, Captán, Zineb y Botrán, entre otros
- Incrementar el número de cursos de capacitación y asistencia técnica a los productores de plantas. •

## Bibliografía

- Barnett, H. L. y B. B. Hunter, *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, 3ª ed., Minneapolis, Burgess Publishing Company, 1972.
- Camargo Ricalde, S. L., V. García García y R. M. Muciño Mares, “¿Qué es la fitopatología? Hongos fitopatógenos del crisantemo [*Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvelev], un estudio de caso”, en *ContactoS*, núm. 37, 2000, pp. 9-22.
- Daniel, W. W., *Bioestadística*, México, Limusa, 1982.
- Ellis, M. B., *Dematiaceous Hyphomycete*, Kew, Commonwealth Mycological Institute, 1971.
- Espinoza, M. A., “Estudios preliminares sobre la marchitez y la pudrición del tallo del clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) en villa Guerrero, México”, tesis de maestría, Chapingo, 1973.
- González, M. S., “Interacción de *Globodera rostochiensis*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* en la variedad de papa ‘Alpha’ bajo condiciones de invernadero”, tesis de maestría, Chapingo, 1987.
- Herrera, T. y M. Ulloa, *El reino de los hongos*, México, Fondo de Cultura Económica / Universidad Nacional Autónoma de México, 1990.
- Lamas, M. A., “Identificación de hongos fitopatógenos y descripción de las enfermedades que causan sobre plantas ornamentales de Xochimilco, D. F.”, tesis, Chapingo, 1978.

López, A. G. F., *Manejo de hongos fitopatógenos*, Chapingo, Universidad Autónoma Chapingo, 1984.

López, H. J. H., "Control químico de la roya del clavel (*Dianthus caryophyllus*) libre de virus a partir del cultivo *in vitro* de meristemos apicales del tallo", tesis, México, Facultad de Ciencias, UNAM, 1987.

Navarro, E. S., "Obtención y multiplicación masiva del clavel (*Dianthus caryophyllus*) libre de virus a partir del cultivo *in vitro* de meristemos apicales del tallo", tesis, México, Facultad de Ciencias, UNAM, 1985.

Romero, C. S., *Memorias del curso Acreditación técnica en el manejo y certificación fitosanitaria de ornamentales, 1 al 6 de Junio*, Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, 1992.

SAGAR, *Anuario estadístico de la producción agrícola de los Estados Unidos Mexicanos I*, México, Centro de Estadística Agropecuaria, SAGAR, 1998.

Ulloa, M. y T. Hanlin, *Atlas de micología básica*, México, Concepto, 1978.

## Notas

<sup>1</sup> Las autoras agradecen la colaboración y ayuda de los floricultores de clavel de San Luis Tlaxiátemalco, Xochimilco. Asimismo agradecen a David Bonilla López, jefe del Laboratorio de Fitopatología del Centro Nacional de Diagnóstico Fitosanitario y al Laboratorio de Hongos y Bacterias del CNRDF, de la Dirección General de Sanidad Vegetal, de la SAGARPA.

<sup>2</sup> Este estado aporta 2 414 111 toneladas, que equivalen a \$101 778 905. Al respecto, véanse Navarro, "Obtención y multiplicación"..., pp. 2-34 y SAGAR, *Anuario...*, pp. 244-245.

<sup>3</sup> Véase López, "Control químico"..., pp. 1-15.

<sup>4</sup> Véase Lamas, "Identificación de hongos"..., pp. 2-25.

<sup>5</sup> López, *op. cit.*

<sup>6</sup> Lamas, *op. cit.*

<sup>7</sup> Espinoza, "Estudios preliminares"..., pp. 19-50; Ulloa y Hanlin, *Atlas de micología básica*, pp. 25-35; López, *Manejo de hongos fitopatógenos*, pp. 111-126.

<sup>8</sup> Barnett y Hunter, *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, pp. 123-146; Ellis, *Dematiaceous Hyphomycete*, pp. 59-123; Ulloa y Hanlin, *op. cit.*; Espinoza, *op. cit.*; González, "Interacción"..., pp. 193-211; Herrera y Ulloa, *El reino de los hongos*, p. 552.

<sup>9</sup> Daniel, *Bioestadística*, pp. 193-211.

<sup>10</sup> Las colonias de *F. oxysporum*, en medios de cultivo PDA, JV8A y AA, presentaron al principio una coloración blanca con sectores violeta; posteriormente, predominó el violeta con pequeños puntos blanquecinos. El crecimiento del micelio fue lento (*ca.* una semana). Al microscopio óptico se observaron macroconidios delgados, de diferente tamaño, generalmente con 3 o 4 septos y en forma de media luna de 27 a 30 x 3 a 4.5  $\mu$ ; microconidios unicelulares más

o menos elípticos u ovals de 5 a 10 x 2.2 a 3.5  $\mu$  y clamidosporas globosas intercalares.

<sup>11</sup> Más tarde el hongo fructifica abundantemente en las áreas muertas formando una costra negra de conidióforos y conidios que cubre la superficie epidérmica. Las colonias de *Alternaria* sp. en PDA, JV8A y AA forman un micelio de color pardo claro en el centro y blanquecino a su alrededor con un desarrollo profuso y rápido (*ca.* dos días). A nivel microscópico se observaron conidios grandes piriformes, los cuales presentan septos transversales y longitudinales.

<sup>12</sup> En medio de cultivo PDA el hongo formó un micelio blanquecino de aspecto algodonoso y de crecimiento profuso. Al décimo día, el hongo empezó a formar esclerocios de forma irregular y de color pardo oscuro. Al microscopio óptico se identificaron conidióforos largos y delgados, ramificados con racimos de conidios unicelulares ovoides. En los otros medios de cultivo, JV8A y AA, el hongo no fructificó.

<sup>13</sup> En PDA las colonias se tiñeron de pardo oscuro, presentando un desarrollo profuso. Al microscopio óptico el micelio presentaba hifas septadas y ramificadas en ángulo recto de color pardo a pardo oscuro y algo gruesas (8 a 18  $\mu$  de diámetro). En los otros medios de cultivo, JV8A y AA, no se desarrolló el patógeno.

<sup>14</sup> En el caso de *Stemphylium* sp., las colonias en PDA formaron un micelio de color pardo claro, con un crecimiento profuso, muy similar al presentado por *Alternaria* sp. Al microscopio óptico se observaron conidióforos oscuros con conidios anchos en la parte terminal de forma variable, los cuales presentaban septos tanto transversales como longitudinales y "verrugas" en sus paredes. En los otros medios de cultivo, JV8A y AA, el hongo no fructificó; mientras que las colonias de *Cladosporium* sp. en PDA formaron un micelio de color verde oscuro; el crecimiento miceliar fue lento. Al microscopio óptico se observaron conidióforos variadamente ramificados cerca del ápice con conidios pardo oscuros de tamaño y forma variables (ovales a cilíndricos). En los otros medios de cultivo, JV8A y AA, no hubo fructificación del hongo.

<sup>15</sup>  $F_{cal} = 345.6 > F_{teórica} = 2.77$

<sup>16</sup>  $F_{cal} = 11.38 > F_{teórica} = 3.11$

<sup>17</sup> Lamas, *op. cit.* y Romero, *Memorias del curso...*, pp. 207-221.

<sup>18</sup> Camargo Ricalde, García García y Muciño Mares, "¿Qué es la fitopatología?..."

<sup>19</sup> *Loc. cit.*

<sup>20</sup> Pero presentes en Lamas, *op. cit.* y Romero, *op. cit.*

<sup>21</sup> De acuerdo con Camargo Ricalde, García García y Muciño Mares, *op. cit.*

VERÓNICA GARCÍA GARCÍA es profesora-investigadora egresada de la licenciatura en biología de la UAM Iztapalapa; trabaja en diferentes proyectos ambientales. SARA LUCÍA CAMARGO RICALDE es profesora-investigadora del Departamento de Biología en la UAM Iztapalapa.