

ESTUDIO DE LA MICOFLORA PRESENTE EN LA RIZÓSFERA DE PLANTACIONES DE OLIVO, *OLEA EUROPAEA* L., CON MUERTE REGRESIVA EN LA ZONA LA YARADA DEL DEPARTAMENTO DE TACNA

Responsable: Mblgo. Liduvina Sulca Quispe
Miembro: Blgo. Pablo Juan Franco León

RESUMEN

El Olivo, *Olea europaea*, es un cultivo de importancia económica y está extendido en toda la zona sur de nuestro país gracias a las condiciones medioambientales favorables para su desarrollo; sin embargo, en los últimos años, las plantaciones están siendo afectadas por la pudrición radicular por *Armillaria mellea*, mostrando síntomas aéreos de marchitez y muerte lenta, afectando su producción. El presente trabajo de investigación se desarrolló con el objetivo principal de determinar los componentes de la microflora en la rizósfera de plantaciones de olivo con muerte regresiva.

Se aislaron 16 hongos que corresponden a las siguientes especies: *Cylindrocarpon destructans*, *Cylindrocarpon spp.*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Paecylomyces spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Macrophomina phaseolina*, *Trichoderma sp1*, *Trichoderma sp.2*, *Nigrospora spp.*, *Phyalophora spp.*, *Curvularia spp.*, *Rhizopus spp.*, *Rhizoctonia solani* y *Armillaria mellea*.

ABSTRACT

The Olive, *Olea europaea*, is a cultivation of economic importance and this extended in all the south zone of our country thanks to the favorable environmental conditions for its development, nevertheless, in recent years, the plantations are being affected for the putrefaction radicular by *Armillaria mellea*, showing air symptoms of withered state and slow death, affecting its production. The investigation work present, developed with the main objective to determine the components of the micoflora in the rizósfera of plantations of olive with regressive death.

16 fungus were isolated and correspond to the following species: *Cylindrocarpon destructans*, *Cylindrocarpon spp.*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Paecylomyces spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Macrophomina phaseolina*, *Trichoderma sp1*, *Trichoderma sp2*, *Nigrospora spp.*, *Phyalophora spp.*, *Curvularia spp.*, *Rhizopus spp.*, *Rhizoctonia solani* and *Armillaria mellea*.

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo del olivo en el Perú ocupa el sexto lugar en importancia dentro de los frutales, con un promedio de producción de 40 kg por árbol (Cruzado, 1975). Casi toda la producción es para elaborar aceitunas de mesa y, en pequeña escala, aceite de oliva, los que son utilizados, en parte, para consumo interno y el resto destinado para la exportación a Brasil, Chile, Estados Unido, Venezuela y Ecuador (Anuario Estadístico Agrario Regional, 1998).

Uno de los problemas fitosanitarios que afecta al cultivo de olivo en la zona La Yarada, es la muerte regresiva, que se caracteriza por una marchitez descendente de la planta y luego una muerte lenta. Estos síntomas aéreos se deben a la pudrición radicular producida por *Armillaria mellea*, un hongo de suelo de distribución cosmopolita.

La supresión de la enfermedad resulta más eficiente si es que esta es considerada dentro del

esquema de manejo integrado de la producción de cultivos en donde se emplee sistemas tecnológicos y se tome en cuenta el potencial destructivo de los diferentes patógenos. Un manejo integrado efectivo demanda que el cultivo y su ambiente sean considerados como un agroecosistema.

Se ha reconocido desde los comienzos de la microbiología, que el suelo está habitado por microorganismos, los que influyen de diversas maneras en la producción agrícola. En algunos casos, esta influencia es positiva, por las siguientes razones: participa en la descomposición de la materia orgánica transformándola en sustancias asimilables por las plantas; transforman los constituyentes minerales del suelo como el amonio y azufre, oxidándolos hasta nitratos y sulfatos respectivamente; intervienen en la fijación del nitrógeno libre; en la producción de sustancias de crecimiento para las plantas y además tienen influencia en la formación de una estructura estable del suelo. En otros casos, puede ejercer

acción negativa, al producir sustancias tóxicas para las plantas; reducir los nitratos y sulfatos hasta nitrógeno gaseoso y sulfuros, tornándolos no disponibles para las plantas.

Los hongos del suelo tienen un crecimiento saprofito competitivo y compiten exitosamente con otros organismos del suelo en la colonización y el metabolismo de la materia orgánica.

No existen trabajos relacionados con el estudio de la micoflora en suelos de cultivos de olivo, razón por la cual se realizó el presente estudio de investigación, que pretende alcanzar los siguientes objetivos:

1. Aislar e identificar los hongos presentes en la rizósfera de plantas de Olivo con muerte regresiva.
2. Determinar los tipos de hongos fitopatógenos presentes en la rizósfera de plantas de olivo.
3. Determinar la proporción de hongos fitopatógenos y saprofitos obligados.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

Área de Estudio:

Ubicación del área de estudio:

La zona de La Yarada se encuentra ubicada entre las coordenadas geográficas de 18° 11 y 30" latitud sur y 70° 30 y 09" longitud oeste.

Es una estrecha faja desértica con valles que constituyen las áreas más productivas. Existe ausencia de precipitación. Tiene una superficie agrícola cultivada de 27,789 ha. El clima es subtropical-árido. (Anuario Estadístico Agrario Regional, 1988).

Población y Muestra:

La población está representada por las plantas de olivo del Fundo San Martín, en la zona de La Yarada. La selección de muestras fue en forma randomizada.

Técnicas y Métodos de trabajo:

Toma de muestras:

Se colectaron raíces gruesas, raicillas con suelo adherido a ellas y tejidos corticales de la base del tronco de árboles enfermos. Se envolvieron en papel y colocaron dentro de bolsas de polietileno. Cada muestra fue rotulada y transportada al Laboratorio de Micología de la UNJBG-Tacna.

Aislamiento de hongos de raíces y suelo rizosférico.

Se separó el suelo rizosférico de cada una de las muestras de raíz y se sembró en agar Czapek Dox por el método de dilución en placa.

Las raíces se lavaron cuidadosamente con

abundante agua corriente y cepillo. De las zonas afectadas se cortaron porciones de tejido de aproximadamente 5 mm de lado y, luego, previo secado sobre papel filtro estéril, fueron colocadas en cuatro puntos equidistantes sobre el medio de cultivo. Se emplearon los medios de Agar Papa Dextrosa Oxitetraciclina (PDAO), Agar Extracto Malta (MEA), Corn meal agar mas piramicina, ampicilina y rifampicina (PAR), Agar agua. Jugo V-8 y el medio Spezieller Nährstoffarmer Agar plus Yeast Extract (SNAY). Las placas sembradas fueron selladas con parafilm e incubadas a temperatura de 25 °C. Todo este proceso se realizó en condiciones asépticas (Dhingra y Sinclair, 1995) (French *et al.*, 1980). Las colonias desarrolladas fueron repicadas en placas con Agar Papa Dextrosa para su purificación. Se realizó un segundo repique en tubos con Agar Papa Dextrosa para la conservación de los hongos aislados. Se sellaron los tubos con parafilm y se almacenaron en la refrigeradora a 4°C (Singleton *et al.*, 1993) (French y Hebert, 1980).

Identificación del Patógeno:

A partir de los cultivos puros se examinaron las características macroscópicas y microscópicas. Para el examen macroscópico se tomaron en cuenta el aspecto, borde, color, consistencia, pigmentación en el reverso y velocidad de crecimiento de la colonia. Para el examen microscópico de las características estructurales del hongo, se hicieron montajes en Lactofenol y Azul de Lactofenol y observaciones en el microscopio compuesto.

La identificación se realizó siguiendo la corrida de claves de Barnett y Hunter, 1972; Barron, 1968; Commonwealth Mycological Institute, 1969; Ellis, 1976; Guzmán, 1990 y Sarasola & Rocca, 1975.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aislaron 16 hongos que corresponden a: *Cylindrocarpon destructans*, *Cylindrocarpon spp.*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Paecilomyces spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Macrophomina phaseolina*, *Trichoderma sp1*, *Trichoderma sp2*, *Nigrospora spp.*, *Phyalophora spp.*, *Curvularia spp.*, *Rhizopus spp.*, *Rhizoctonia solani* y *Armillaria mellea*.

1. *Cylindrocarpon destructans*

En medio Agar Papa Dextrosa (PDA) formó una colonia de aspecto algodonoso, color beige, reverso marrón oscuro, consistencia compacta, diámetro de la colonia de 4,5 cm y velocidad de crecimiento lento (1,2 cm/día).

2. *Fusarium solani*

Sobre Agar PDA presenta colonia de aspecto algodonoso no elevado, de color blanco, ligeramente verde azulado a la madurez,

velocidad de desarrollo lento (1,2 cm/día), a los 7 días llena la placa.

3. *Fusarium oxysporum*

Presenta colonia algodonosa, blanca con pigmentación púrpura que se difunde en el medio. Tiene velocidad de crecimiento lento (1,2 cm/día).

4. *Paecilomyces*:

En medio PDA, produce colonias de aspecto algodonoso compacto de color blanco. Tiene una velocidad de crecimiento de 1,6 cm/día.

5. *Penicillium*:

Presenta colonia de aspecto algodonoso compacto, de color verde azulado. Velocidad de crecimiento rápido (2,7 cm/día), al cuarto día llena la placa.

6. *Aspergillus flavus*:

Produce colonias de color verde limón, inicialmente de aspecto algodonoso y luego granuloso por la esporulación. Velocidad de crecimiento rápido (2,8 cm/día).

7. *Aspergillus fumigatus*:

La colonia tiene aspecto algodonoso compacto, de color verde oliváceo. Tiene una velocidad de crecimiento rápido (2,5 cm/día). El reverso de la colonia es no pigmentado.

8. *Macrophomina phaseolina*:

En medio PDA formó una colonia de aspecto algodonoso, inicialmente blanco que luego se tornó en un color verde olivo, el reverso de la colonia es negro, consistencia laxa, velocidad de crecimiento rápido (2,8 cm/día), cubre la placa completamente a los 4 días.

9. *Nigrospora*:

Presenta una colonia de aspecto algodonoso, de color blanco inicialmente que luego se torna en plumizo. Tiene una velocidad de crecimiento de 1,7 cm/día.

10. *Phialophora*:

Forma una colonia de aspecto algodonoso, efuso, de color marrón verduzco, con micelio superficial e inmerso, de velocidad de crecimiento de 1,6 cm/día. A los 7 días cubre completamente la placa. El reverso de la colonia es negro.

11. *Curvularia*:

Colonia algodonosa, efusa, negra. Con velocidad de crecimiento de 1,6 cm/día.

12. *Rhizopus*:

Presenta una colonia de aspecto algodonoso, de color blanco inicialmente y granulado posteriormente, que corresponden a los esporangios. Tiene una velocidad de crecimiento rápido (2,8 cm/día). El reverso de la colonia no es pigmentado. Presenta dos tipos de micelio, un micelio inmerso y otro aéreo.

13. *Rhizoctonia*:

Forma una colonia de aspecto algodonoso, color canela, con anillos. El reverso pigmentado por zonas. Tiene una velocidad de crecimiento de 1,6 cm/día. A los 9 días llena la placa por completo.

14. *Trichoderma*:

Colonia de aspecto polvoriento, color verde, de rápido crecimiento (2,6 cm/día).

15. *Gliocladium*:

Presenta una colonia algodonosa, compacta, blanca, ligeramente naranja, de crecimiento rápido (2,0 cm/día).

16. *Armillaria mellea*:

Sobre medio PDA, forma una colonia de aspecto algodonoso, sin elevación, color blanco, consistencia compacta y velocidad de crecimiento lento (1,6 cm/día). A los 11 días cubre totalmente la placa.

De los 14 géneros de hongos aislados de la rizósfera y suelo rizosférico, 8 géneros contienen especies que son fitopatógenos, tales son: *Cylindrocarpon destructans*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phialophora*, *Curvularia*, *Rhizoctonia solani* y *Armillaria mellea*.

El resto de hongos aislados corresponde a especies que son saprofitos obligados, tales como: *Penicillium spp.*, *Paecilomyces spp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma spp.*, *Nigrospora spp.* y *Rhizopus spp.*

La presencia de determinados hongos en un área determinada depende del factor climático, tipo de cultivo y presencia de materia orgánica. *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*, son especies de hongos de suelos mejor caracterizados en términos de distribución geográfica, son ubicuas y considerados como cosmopolitas.

Armillaria mellea, es un hongo patógeno de suelo muy difundido, cosmopolita, extendido por casi todo el mundo. Los rizomorfos crecen más activamente en suelos alcalinos. La temperatura del suelo entre 20 a 24 °C es la óptima para la vida del hongo.

Los microorganismos de la rizósfera se caracterizan por ser organismos saprofitos y patógenos, también definidos como organismos alóctonos. Maximizan su tasa de crecimiento a costa de su supervivencia cuando escasea la fuente de alimento.

VI. CONCLUSIONES

1. Los hongos fitopatógenos aislados de la rizósfera de plantas de olivo con muerte regresiva son: *Cylindrocarpon destructans*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*,

Macrophomina phaseolina, *Phyalophora*, *Curvularia*, *Rhizoctonia solani* y *Armillaria mellea*.

2. Los hongos saprofitos obligados aislados de la rizósfera corresponden a: *Penicillium spp.*, *Paecylomyces spp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma spp.*, *Nigrospora spp.* y *Rhizopus spp.*
3. Los factores determinantes fueron la temperatura, tipo de cultivo y clima.

V. BIBLIOGRAFÍA

BARNETT, H.L. and Hunter, B. B. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Editorial Burgess Publishing Company, USA, 241 pp.
BARRANCO, D. **FERNANDEZ-ESCOBAR** R. Y

Rallo L. 1999. *El cultivo del olivo*. Tercera edición. Ediciones Mundi-Prensa, España, 701 pp.
COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE. 1969. *Descriptions of Pathogenic fungi and Bacteria*. England. Set. 21-24. Pág. 351-354.
DE ANDRÉS CANTERO, F. 1991. *Enfermedades y plagas del olivo*. Riquelme y Vargas Ediciones, S.L., Jaén, 646 pp.
SINGLETON, L.L. ; Mihail, J.D. y Rush, C.M. 1993 . *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*, Aps press, Inc, St.paul Secord priting, USA, 259 pp.
SMITH, I.M. ; Dunez J. ; **PHILLIPS**, D.H. ; **LELLIOTT**, R.A. y Archer, S.A. 1992. *Manual de enfermedades de las plantas*. Primera edición. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 671 pp.
SULCA QUISPE ,Liduvina. 2003. *Identificación y control del agente causal de la muerte regresiva en Olivo en la zona la Yarada en Tacna*.

VI. ANEXO

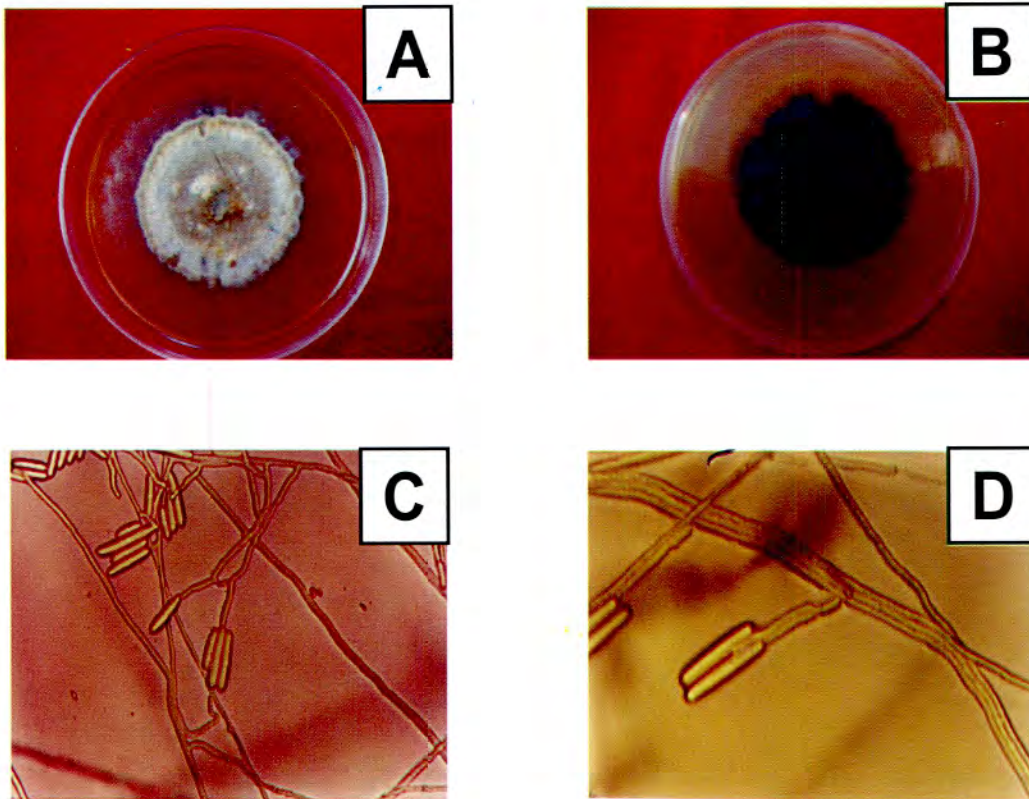


FIGURA: *Cylindrocarpon destructans*.

- A) Anverso de la colonia.
- B) Reverso de la colonia.
- C) Conidias jóvenes con 1 septa.
- D) Conidióforo ramificado y conidias con 2 septas.