

**RECONOCIMIENTO Y DISPERSION  
DE HONGOS CAUSANTES  
DEL "PICAMENTO" (RAY SPECK)  
EN CRISANTEMO (*Chrysanthemum  
morifolium* RAM) EN CONDICIONES  
DE INVERNADERO**

**JORGE ARTURO BAQUERO, MARTHA ISABEL  
VALENCIA, EMIRA GARCES DE GRANADA,  
INDIANA BUSTOS B**

Universidad Nacional de Colombia,  
Departamento de Biología. Apartado Aéreo 14490.  
Bogotá, D.C. Colombia.

**RESUMEN**

El reconocimiento de hongos causantes del "picamento" (ray speck) y su dispersión en crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* RAM) cv. Polaris, se realizó bajo condiciones de invernadero. Se identificaron tres especies de hongos que producen los síntomas: *Alternaria alternata* (FR) Keissler, *Alternaria zinniae* Ellis, *Stemphylium botryosum*, Wallroth (*Pleospora herbarum*) Raben Horst.

Para el análisis de la dispersión de la enfermedad, se usó un diseño completamente al azar con tres repeticiones. En cuatro sitios del cultivo se evaluó el número de colonias, la temperatura y la humedad relativa. Se encontró que la temperatura es el factor más importante para la producción y liberación de conidias. A las 12 M. (21 °C) se presentó la mayor esporulación.

## SUMMARY

The recognition of the fungi causing ray speck and their dispersion in chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* RAM) cv. Polaris, was carried out under greenhouse conditions. Three species were identified: *Alternaria alternata* (FR) Keissler, *Alternaria zinniae* Ellis, *Stemphylium botryosum*, Wallroth (*Pleospora herbarum*) Raben Horst.

The analysis of the disease dispersion was based on a random design with three repetitions. The number of colonies, the temperature and relative humidity were evaluated in four different places of the culture. The temperature was found to be the most important factor affecting the production and release of conidia. The sporulation reached its peak at noon (21 °C).

Palabras claves: Ray-speck. *Stemphylium*. *Alternaria*. Fitopatología.

## Introducción

Los síntomas del picamento en las cabezuelas florales del crisantemo son originados por especies de *Alternaria* y *Stemphylium* (Tammen 1963, Kofranek 1992). Las especies de ambos géneros son extremadamente cosmopolitas en un amplio rango de plantas y sustratos, incluidos suelos, textiles y comestibles. También es usual encontrarlos como invasores secundarios en *Compositae*, *Cruciferae*, *Cucurbitaceae*, *Malvaceae*, *Solanaceae*, *Amaranthaceae*, *Caryophyllaceae* y en hortalizas, cítricos y cereales (Domsch, Gams y Anderson 1980, Srivastava y Gupta 1983).

En Colombia, Orjuela (1965) ha reportado enfermedades producidas por especies de *Alternaria* y *Stemphylium* en plantas cultivadas como cebolla (*Allium cepa*), alfalfa (*Medicago sativa*), trigo (*Triticum vulgare*), repollo (*Brassica sp*), tomate (*Lycopersicum esculentum*), papa (*Solanum tuberosum*), fique (*Furcraea gigantea*), curuba (*Passiflora mollissima*), frijol (*Phaseopus vulgaris*), trébol rojo (*Trifolium pratense*) y algodón (*Gossypium sp.*).

La liberación y diseminación de las esporas de *Stemphylium* y *Alternaria* dependen de factores ambientales como la humedad relativa, temperaturas máximas diarias, velocidad del viento, turbulencia y rocío, que son asociadas con la periodicidad diurna (Bashi, Rotem y Putter 1973; Eversmeyer y Kramer 1975; Kofranek 1992).

Se ha observado que las conidias de *Stemphylium* son liberadas violentamente. Teniendo en cuenta que las flores nacionales compiten

en el mercado internacional con las producidas por Estados Unidos, Holanda, Francia e Israel, que el sector ocupa un renglón importante en la economía del país y que el desconocimiento de la biología de los agentes causales del picamento necesitan de más estudio, el objetivo de este trabajo es conocer el organismo que produce el picamento de la flor en crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* RAM) cv. Polaris y evaluar las condiciones que favorecen la dispersión del patógeno durante las diferentes etapas del desarrollo del cultivo.

## Materiales y métodos

Para la realización de este trabajo se utilizaron flores tipo exportación de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* RAM) cv. Polaris, cultivadas bajo condiciones de invernadero.

Las inflorescencias con síntomas típicos de la enfermedad, consistentes en pequeñas manchas rojizas de diámetro aproximado de 1 mm, se colectaron en cultivos ubicados en el municipio de Madrid, Cundinamarca. Este material se colocó en cámaras de humedad y en cajas de Petri con papa-dextrosa-agar (PDA) con el fin de inducir la esporulación.

Los aislamientos se caracterizaron de acuerdo a la forma, elevación, color de las colonias y tipo de crecimiento. El estudio del crecimiento micelial consistió en siembras de los hongos en cajas de Petri usando PDA como medio de cultivo, realizando medidas del diámetro de la colonia cada 24 horas e incubando a una temperatura de 23°C mas o menos 2.

Con el fin de comprobar si todos los aislamientos obtenidos pertenecían a las especies causantes del "picamiento" en la cabezuela del crisantemo, se hizo un estudio del tamaño, color y forma de las conidias; éstas se tiñeron con azul de lactofenol, observando 50 conidias por aislamiento.

Para las pruebas de patogenicidad se trabajó con flores cortadas en grado de apertura comercial de la cv. Polaris, inoculando las ligulas externas de cada inflorescencia. Se utilizaron 47 tinas de plástico cubiertas de polietileno para mantener la humedad y la temperatura adecuada; en su interior contenían bloques de oasis, sustrato poroso que retiene el agua y además sirve para sostener a las flores.

Los tallos de las inflorescencias se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1%, posteriormente se colocaron en las tinas y se inocularon de la siguiente forma: 15 tinas con el complejo *Alternaria-Stemphylium* y

las dos restantes se usaron como controles. Seguidamente se cubrieron con polietileno de color blanco.

Cada 24 horas se hicieron medidas repetidas del número de lígulas afectadas, tomando como base 12 lígulas externas. Sobre esta misma unidad se tomaron tres lígulas al azar, en las que se midió el porcentaje de área afectada.

Para las inoculaciones de cada uno de los aislamientos obtenidos se preparó una suspensión de 50000 esporas por ml. con ayuda de un hemacitómetro.

Para una mayor esporulación de los aislamientos, se sembraron en el medio de cultivo V-8. La inoculación se realizó con atomizadores de plástico asperjando sólo las partes externas de las inflorescencias.

Se estableció una escala de patogenicidad para el hospedante, con cinco grados de afección. La agresividad del agente causal se determinó mediante la variación de los síntomas sobre el hospedante, el tiempo de incubación de la enfermedad y el porcentaje de afección del involucro de las inflorescencias del crisantemo.

Para el análisis de la dispersión de las esporas que producen la enfermedad de "picamento" en las inflorescencias de crisantemo, se usó un invernadero con 40 camas (cada cama con un área de 36 m<sup>2</sup>) y una densidad de siembra de 97 plantas/m<sup>2</sup>.

Durante la época de los muestreos el cultivo se mantuvo bajo las prácticas agronómicas rutinarias.

Para el seguimiento de la dispersión de las esporas se utilizaron cajas de Petri con PDA y ácido láctico distribuidas en el invernadero en sitios seleccionados aleatoriamente; se colocaron en cada sitio tres cajas de Petri.

El monitoreo de la dispersión de las esporas se realizó semanalmente durante el ciclo del cultivo (14 semanas), las cajas de Petri se reemplazaron cada 2 horas y estuvieron expuestas durante 30 minutos en los sitios seleccionados, iniciando el muestreo a las 8 a.m. y terminando a las 6 p.m. En cada uno de los sitios de muestreo se registraron datos de temperatura y humedad relativa con un higrómetro colocado a nivel del follaje en cada sitio durante la exposición de las cajas de Petri.

Las cajas expuestas durante el día se llevaron al laboratorio y se incubaron en la estufa a 24°C más o menos 2 durante ocho días, al final de los cuales se identificó y contó el número de colonias del agente causal.

El ensayo estuvo dispuesto en un arreglo factorial 4 X 6 X 14 (localización, horas del día, semanas) en un diseño completamente al azar con submuestras (3 observaciones por unidad experimental).

## Resultados y discusión

Especies de *Alternaria* y *Stemphylium* fueron aisladas e identificadas como los agentes patógenos causantes de los síntomas del "picamento" (ray speck) en las inflorescencias del crisantemo en un cultivo de flores localizado en el municipio de Madrid (Cundinamarca).

Los aislamientos obtenidos correspondieron a las siguientes especies:

- a. *Alternaria alternata* (FR) Keissler, 1912.

*Alternaria tenuis* Ness, 1816.

*Torula alternata* Fries, 1832.

*Alternaria tomato* (Cooke) Brinkman, 1931.

*Macrosporium tomato* Cooke, 1883.

- b. *Alternaria zinniae* M. B. Ellis, 1972.

- c. *Stemphylium botryosum* Wallroth, 1883.

*Pleospora herbarum* (FR) Rabenhorst, 1855.

*Sphaeria herbarum* Fries, 1823.

Estos aislamientos mostraron variabilidad en forma y color de las colonias en condiciones similares de temperatura, luz, pH y medio de cultivo.

La apariencia visual del crecimiento de las colonias fue diferente. Las colonias de *S. botryosum* durante los tres primeros días presentaron coloración parda en la parte central y en los bordes un color más claro. El crecimiento fue radial en anillos conspicuos claros y oscuros (Fig. 1); a los 15 días tenían una coloración café verdoso y se fueron oscureciendo hasta tomar un color café oscuro; la apariencia que presentaba fue algodónosa y no cambio con el tiempo; la altura de la colonia no sobrepaso los 5 mm. Cowling, Gilchrist y Graham (1981) señalan que el crecimiento radial de la colonia de *S. botryosum* en anillos claros y oscuros corresponde a zonas de baja y alta densidad de esporulación respectivamente.



**FIGURA No. 1.** Colonia de *Stemphylium botryosum*.

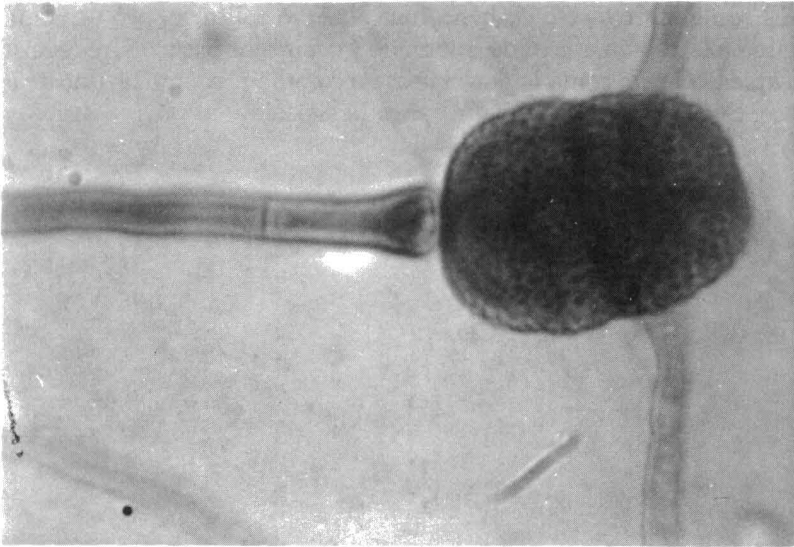
Las colonias de *A. alternata* en los tres primeros días presentaron una coloración café oscuro y finalmente negro. Cuando las colonias eran jóvenes tenían una apariencia algodonosa, pero cuando envejecieron presentaron formaciones granulares negras. La altura de las colonias no sobrepasó los 5 mm.

Las colonias de *A. zinniae* en los tres primeros días presentaron un color café verdoso uniforme, el crecimiento fue ramificado y disperso por toda la caja. A los quince días las colonias eran de color café oscuro, la apariencia fue siempre algodonosa y la altura no sobrepasó los 5 mm.

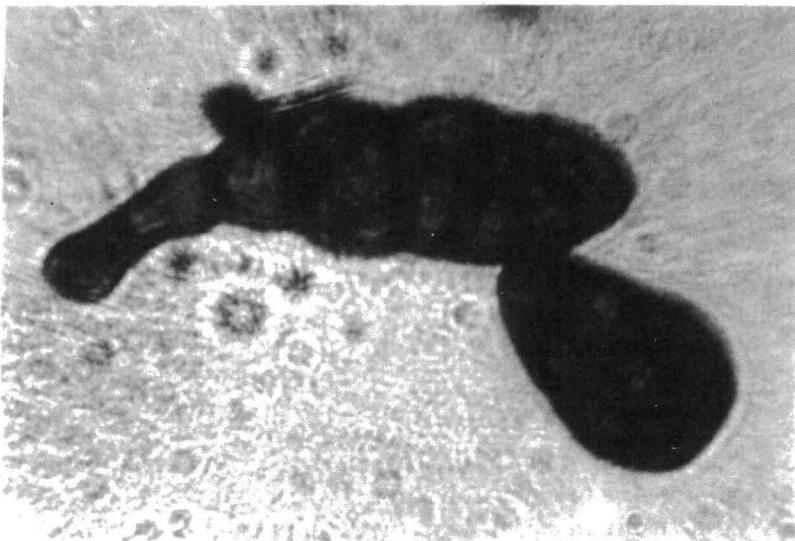
La tasa de crecimiento micelial evaluada en condiciones de laboratorio mostró que *S. botryosum* tiene crecimiento más rápido que el de *A. alternata* y el de *A. zinniae*.

El promedio de las dimensiones de las conidias (50 por cada aislamiento) fue de 18.5 X 27; 20,3 X 11,2 y 42,9 X 14,8 micras para *S. botryosum*, *A. alternata* y *A. zinniae* respectivamente.

Para *S. botryosum*, las conidias presentaron forma ovoide con un septo mayor en la parte central y algunos septos transversales y longitudinales secundarios. Las conidias maduras tenían aspecto muriforme, café oscuro y paredes equinuladas o verrucosas (Fig. 2).

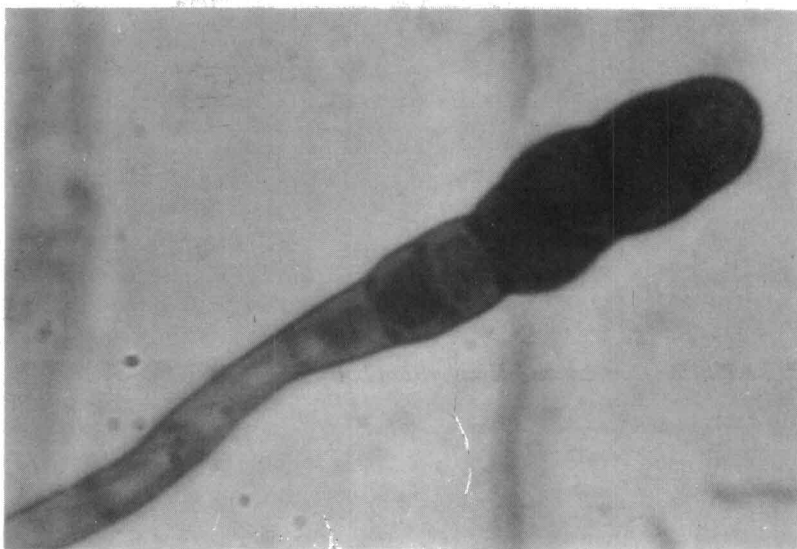


**FIGURA No. 2.** Conidia de *Stemphylium botryosum* (1000x).



**FIGURA No. 3.** Conidia de *Alternaria alternata* (1000x).

El conidióforo de *Stemphylium* se observó solitario, con un abultamiento en la región apical de color café y color más oscuro alrededor del polo apical, el cual tenía la pared lisa. La conidia presentó de uno a siete septos, características señaladas para la especie.



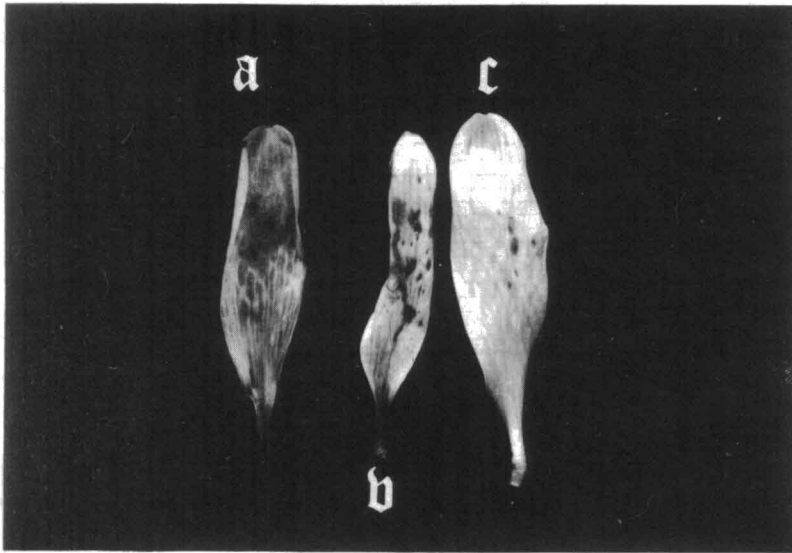
**FIGURA No. 4.** Conidia de *Alternaria zinniae* (1000x).

*A. alternaria* presentó conidias solitarias y en cadenas, de forma ovoide, a manera de raqueta de tennis, con tres a ocho septos transversales y usualmente con septos longitudinales u oblicuos que le dan un aspecto muriforme, con paredes lisas en estadios juveniles y equinulada en estados maduros (Fig. 3).

El conidióforo fue de color castaño, con paredes lisas, simple y derecho con uno a tres septos.

En *A. zinniae* las conidias se presentaron por lo general solitarias y algunas veces en cadenas de dos, tenían forma oblonga, de cinco a nueve septos transversales y algunos septos longitudinales, el ápice de la conidia fue filiforme, el color café claro y las paredes lisas (Fig. 4). Los conidióforos se presentaron solitarios, con paredes lisas, de color castaño. Las conidias de *A. zinniae* obtenidas en los aislamientos fueron de menor longitud que las consideradas por Ellis (1971) como características de la especie. El tamaño de las conidias de *S. botryo-*





**FIGURA No. 5.** Síntomas que presenta la cv. *Polaris* después de 15 días de inoculado: a) con *S. botryosum*, b) con el complejo *A. alternata-S. botryosum*, c) con *A. alternata*.

*sum* y *A. zinniae* parece ser afectado por las condiciones del medio artificial de cultivo.

Las pruebas de patogenicidad mostraron que *A. alternata*, *A. zinniae* y *S. botryosum* producen los síntomas del "picamento" en las inflorescencias del crisantemo cv. *Polaris* (Fig. 5).

Se observó que el período de incubación más corto se presentó cuando se inoculó el complejo *A. alternata-S. botryosum* (24 horas). Jackson (1961) señala que tanto las especies de *Alternaria* como de *Stemphylium* están asociadas con la aparición de la enfermedad. Cuando la cv. *Polaris* se inoculó con *S. botryosum* aparecieron los síntomas dispersos en el área floral después de 72 horas. Tamen (1963) registra que en pruebas de patogenicidad realizadas con *S. floridanum* en hojas jóvenes y de crecimiento vigoroso de crisantemo cv. Blue Chip, Forty Miner y otras bajo condiciones de invernadero, aparecen los síntomas de la enfermedad de 24 a 48 horas después de la inoculación, y en condiciones ideales de temperatura y humedad relativa reporta la aparición de los síntomas entre 18 y 24 horas.

Se presentaron variaciones en la agresividad de los aislamientos que son patógenos en la cv. *Polaris* (Fig. 6); el complejo *A. alternata-S. bo-*

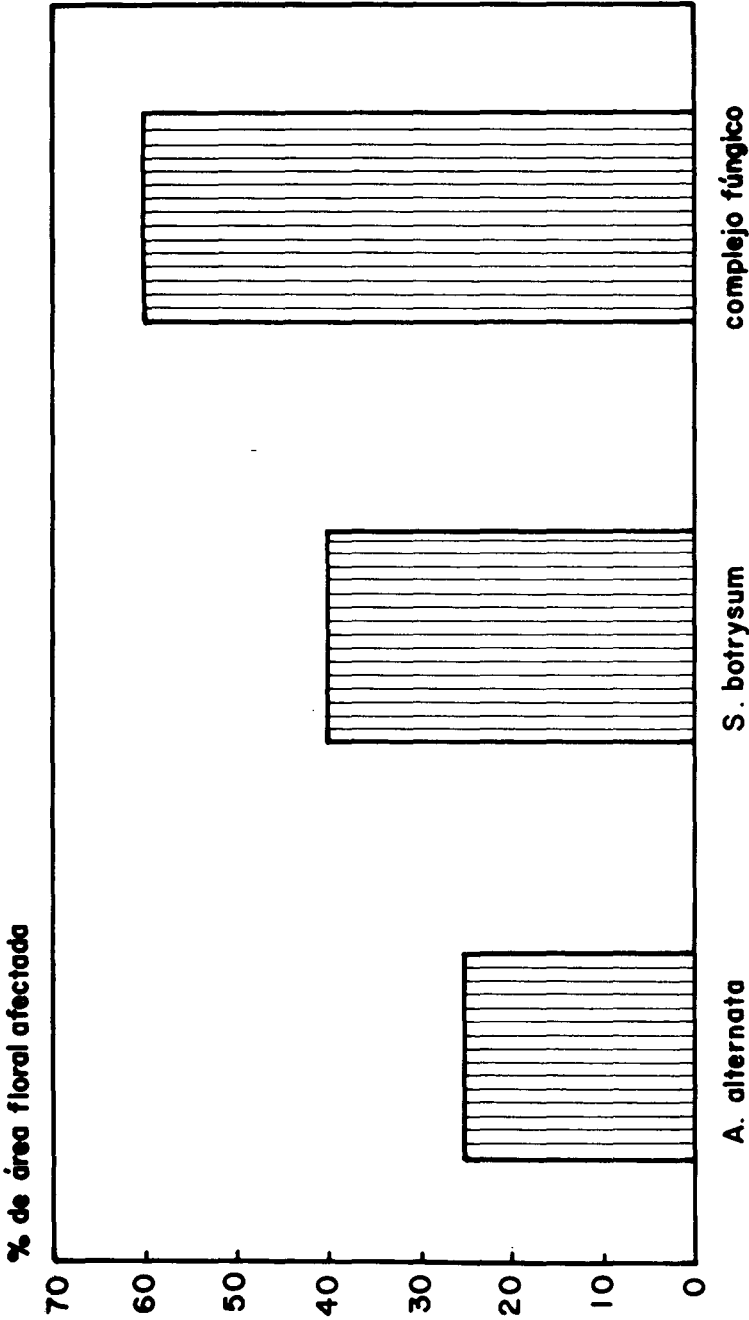


FIGURA No. 6. Porcentaje de área floral afectada luego de 15 días de incubación.

*tryosum* fue el más agresivo contra el área floral luego de 15 días de incubación.

Las diferencias de patogenicidad de *A. alternata* y el complejo fúngico posiblemente se deben a la especialización de los patógenos, a diferencias en la producción de toxinas o quizás a diferencias genéticas.

El número de colonias de *alternaria* encontradas durante las semanas de estudio y en las horas de muestreo mostraron diferencias altamente significativas, en tanto que, los lugares de cultivo en donde se llevó a cabo la toma de información no se encontraron diferencias considerables. Al hacer las comparaciones de promedios durante todo el período de muestreo se pudo observar en las semanas 1 y 2 mayor número de colonias.

Respecto a las horas del día, el mayor número de colonias de *Alternaria* se encontró al medio día y progresivamente este valor disminuyó en las horas de la mañana y en las horas de la tarde, siendo los valores más bajos los del atardecer.

La humedad relativa permaneció bastante alta en el cultivo durante las diferentes semanas de muestreo, horas del día y localizaciones.

La temperatura parece ser el factor más importante para la producción y liberación de conidias, a medida que aumenta la temperatura en las horas de la mañana, hasta 21°C (12 m) la esporulación fue mayor y cuando la temperatura descendió en las horas de la tarde, esta disminuyó.

Trabajos en tomate realizados por Pearson y Hall (1975) señalan que las temperaturas entre 21 y 27°C son ideales para la esporulación de *A. alternata* y *S. solani*.

Hay otros factores que contribuyen a la producción y dispersión de esporas, como las labores del cultivo y las corrientes de aire que circulan dentro del invernadero.

La distribución del número de colonias con respecto a las horas del día y localización (Fig. 7) señalan que los promedios más altos se presentaron a las 12 m. en todos los sitios de muestreo. A las 10 a.m. y 2 p.m. el promedio de esporulación fue intermedio y a las 8 a.m. y 4 p.m. presentaron los promedios más bajos en cada sitio de muestreo, el promedio de colonias más bajo se presentó a las 6 p.m. para las cuatro localizaciones.

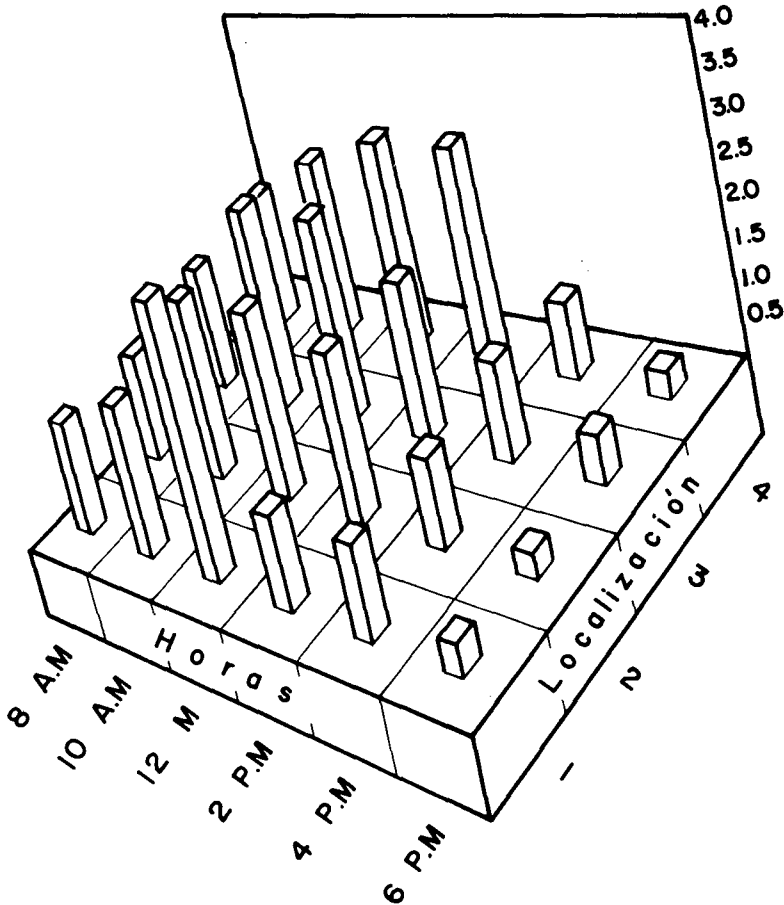
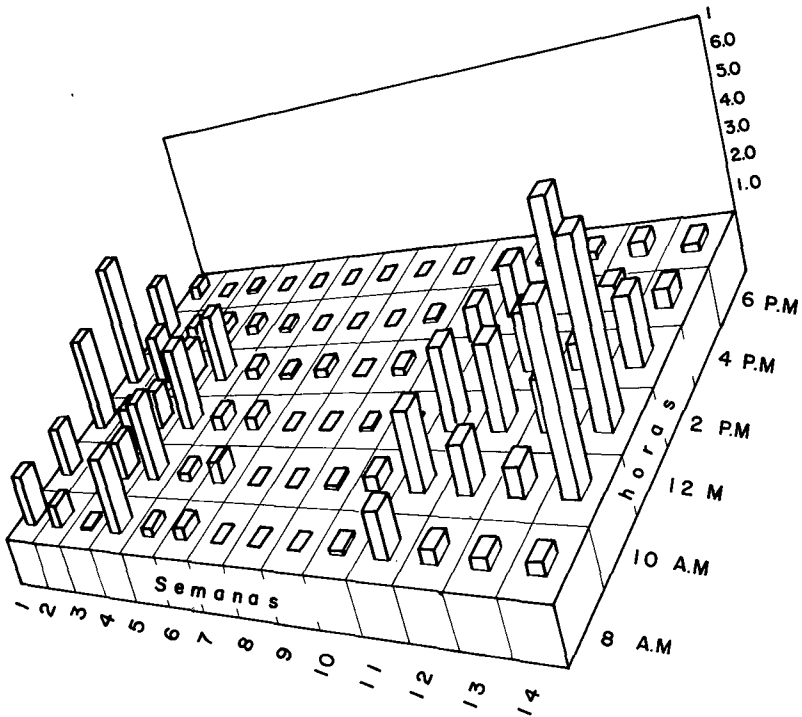


FIGURA No. 7. Promedio de colonias de *Alternaria* por hora-localidad.

El número de colonias de *Stemphylium* presentó diferencias significativas para las semanas y las horas. Se encontró en general promedios altos en las cuatro primeras y cuatro últimas semanas (Figura 8).

De las semanas cinco a la diez se observó una disminución en el número de colonias de *Stemphylium* debido probablemente a las fumigaciones preventivas que se realizaron por esta época y en especial en las semanas ocho y nueve.



**FIGURA No. 8.** Promedio de colonia de *Stemphylium* en el muestreo.

El número de colonias se incrementa en las últimas semanas por el manejo del cultivo, condiciones ambientales favorables y sustratos que facilitan el desarrollo de las enfermedades del "picamento".

Se observa un incremento marcado del número de colonias de *Stemphylium* hacia el medio día, donde se encuentra el promedio de temperatura más alto, para luego decrecer en las horas de la tarde hasta alcanzar el promedio más bajo hacia las 6 p.m. lo que indica que las condiciones extremas de alta humedad relativa y baja temperatura no permiten el desarrollo del hongo. La producción de conidias parece ser más afectada por cambios de temperatura que por humedad.

La humedad relativa durante el monitoreo permaneció bastante alta, condición considerada por Rotem y Cohem (1968) como un factor en la producción y desarrollo de *Stemphylium*.

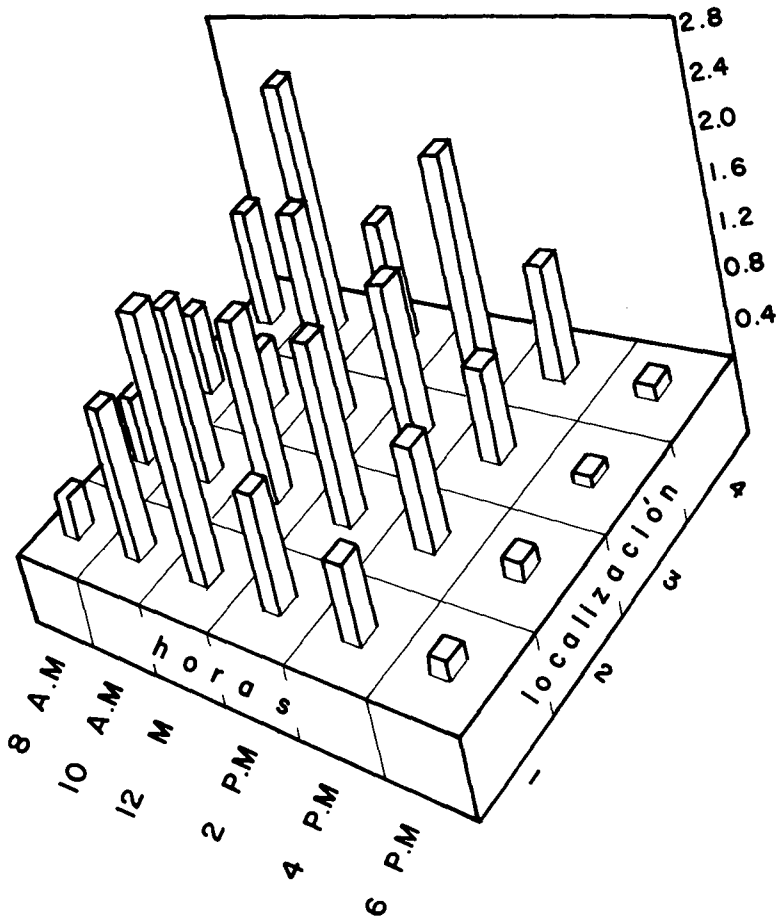


FIGURA No. 9. Promedio de colonias de *Stemphylium* por hora-localidad.

En relación con la localización, a pesar de no encontrar diferencias significativas entre los promedios del número de colonias, se pudo establecer que el camino central del invernadero (localización 4), fue un foco de dispersión de las esporas transportadas por las labores agronómicas que se realizan dentro del invernadero.

La distribución de colonias de *Stemphylium* con respecto a la hora-localización mostró un incremento marcado hacia el medio día, para luego decrecer en las horas de la tarde en las cuatro localizaciones. Los promedios más bajos se encontraron a las 6 p.m. (Figura 9).

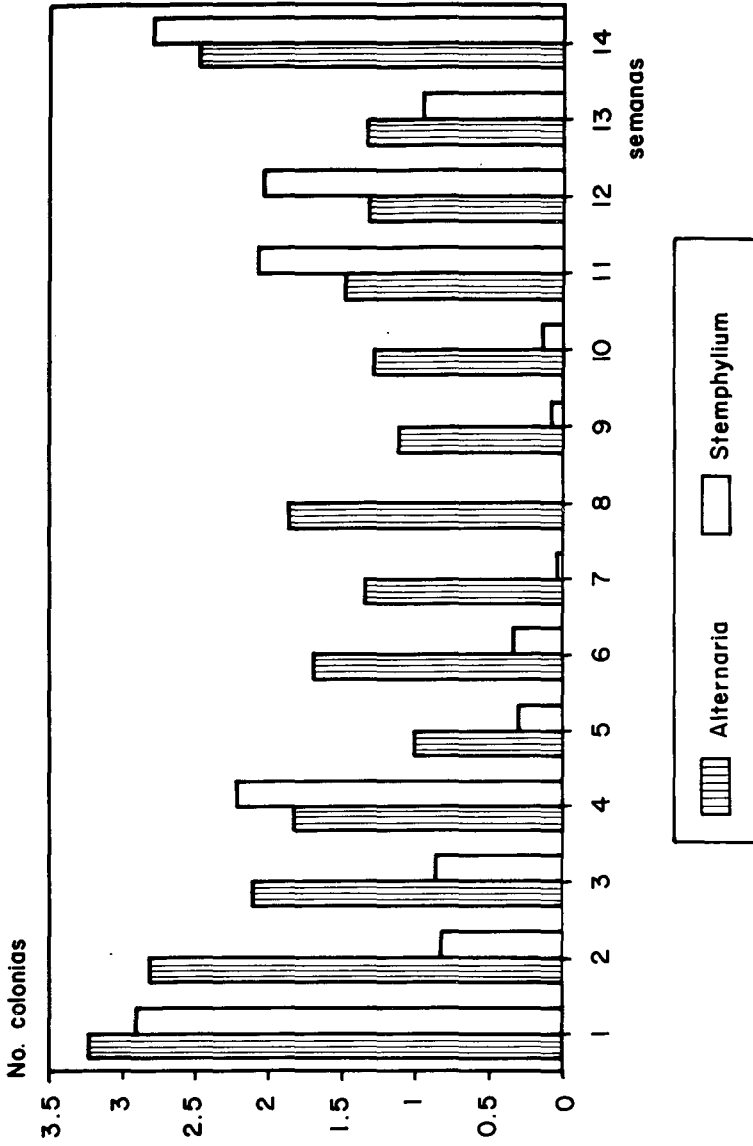


FIGURA No. 10. Promedio de colonias de *Alternaria* y *Stenphylium* durante las semanas de muestreo.

En general, el promedio del número de colonias de *Alternaria* fue superior al promedio de colonias de *Stemphylium* durante las 14 semanas de estudio (Figura 10). Los niveles de inóculo de *A. alternata* y *S. botryosum* fueron semejantes en las semanas 1, 13 y 14.

Es posible que durante algunas semanas el manejo preventivo en el cultivo pudo influir en la disminución del número de colonias de *Stemphylium*, pero al llegar los estados de cosecha y postcosecha y un incremento en la temperatura, se favoreció su proliferación, dado que en estos estadios fue donde se encontraron hojas senescentes que permiten el desarrollo acelerado de las esporas.

## Conclusiones

Se encontraron tres especies de hongos patógenos que producen la enfermedad del "picamento" (ray speck): *Alternaria alternata*, *Alternaria zinniae* y *Stemphylium botryosum*.

Las tres especies presentaron variaciones morfológicas que consistieron principalmente en el tamaño y forma de las conidias y del conidióforo.

Se encontró una relación directa entre la tasa de crecimiento micelial de los hongos en el medio de cultivo y la patogenicidad de los mismos. *S. botryosum* mostró la tasa de crecimiento más rápido y fue el más agresivo. *A. alternata* con un crecimiento más lento tuvo una agresividad menor. El complejo *A. alternata*-*S. botryosum* presentó mayor agresividad.

Se encontró relación entre el período de incubación y la patogenicidad de los hongos. Los aislamientos del complejo *A. Alternata* y *S. botryosum* fueron más agresivos y presentaron el período de incubación más corto; el aislamiento de *S. botryosum* presentó un período de incubación más largo fue menos agresivo.

El promedio de colonias de *Alternaria* y *Stemphylium* para las diferentes horas del día presentaron el valor más alto hacia las 12 m., mientras que el más bajo se encontró a las 6 p.m.

En el presente trabajo la esporulación de *A. alternata* y *S. botryosum* fue similar para las cuatro localizaciones del cultivo, presentando una mayor esporulación en el sitio 4, correspondiente al camino central del invernadero.

El promedio del número de colonias de *A. alternata* fue superior al promedio de *S. botryosum* en las 14 semanas de estudio, siendo mayor la esporulación del primero.



## BIBLIOGRAFIA

- BASHI, E. ROTEM, J., PUTTER, J. 1973. Effect of wetting duration, and other environmental factors, on the development of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* in tomatoes. *Phytoparasitica* 1 (2): 87-94 pp.
- DOMSCH, K.H. GAMS, W. ANDERSON, T. 1980. Compendium of soil fungi. Academic press. London.
- EVERSMeyer, M.G., KRAMER, C.L. 1975. Air-Spore above a Kansas wheat field. *Phytopath.* 65: 490-492 pp.
- KOKRANEK, A.M. 1992. Cut chrysanthemums. 33. p. In: LARSON, R.A. (Ed.). Introduction to floriculture. Academic Press Inc. USA. 636 pp.
- ORJUELA, J. 1965. Indice de enfermedades de plantas cultivadas en Colombia. ICA, Boletín Técnico No. 11.
- SRIVASTAVA, R.N., GUPTA, J.S. 1983. Pathogenecity of seedborne infections of *Zinnia* and their control. *Indian Phytopath.* 36 (1): 14-16 pp.
- TAMMEN, J. 1963. *Stemphylium* ray speck of *Chrysanthemum*. *Phytopath.* 54: 749-754 pp.