

Identificación de hongos fitopatógenos asociados a *Brassica oleracea* var. *Capitata* en la granja la Arandela de Armenia, Quindío.

Identification of phytopathogenic fungi associated with *Brassica oleracea* var. *Capitata* in the Armenia city, Quindío.

*Maria Camila Ocampo Arias^{1,2}, Natalia Andrea Ocampo Madrid^{1,2}, Laura Daniela Gómez Rondón¹, Fabiana Lora Suarez^{1,2}, Ricardo Soto Agudelo^{1,3}

¹ Programa de Biología. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Universidad del Quindío

² Grupo de Estudio en Ciencias Básicas y Educación (GICBE). Universidad del Quindío

³ Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología. Universidad del Quindío

Recibido: Mayo 05 de 2023

Aceptado: Julio 15 de 2023

*Correspondencia del autor: Maria Camila Ocampo Arias

E-mail: mariac.ocampo@uqvirtual.edu.co

<https://doi.org/10.47499/revistaaccb.v1i35.288>

Resumen

Introducción. Se ha informado que los hongos fitopatógenos representan las principales pérdidas económicas a nivel global en diferentes tipos de cultivos, entre los que se encuentran hortalizas como *Brassica Oleracea* var. *capitata*. **Objetivos.** Identificar los posibles hongos fitopatógenos asociados a *Brassica*, los signos y síntomas que estos pueden causar, su posible mecanismo de transmisión y comparar cualitativamente el crecimiento de estos en diferentes medios de cultivo. **Materiales y métodos.** Se aislaron hojas con y sin síntomas, junto con muestras de suelo. En cuanto a la microscopia se visualizaron las partes reproductivas de los hongos para su clasificación taxonómica. **Resultados.** Se aislaron un total de 17 morfotipos hasta nivel de género, siendo *Botrytis* y *Fusarium* los que se encontraron con mayor presencia en las muestras de hojas asintomáticas y con síntomas. Para las muestras de suelo, el género más frecuente fue *Penicillium*. **Conclusiones.** De los tres medios evaluados, el agar extracto Sabouraud mostró los mejores resultados para el crecimiento de la mayoría de los hongos. Se establecieron mecanismos de transmisión probables para cada uno de los hongos encontrados en asociación a *B. Oleracea* var. *capitata* y se estableció que *Botrytis* sp. es el posible agente patógeno causante de la sintomatología observada en las muestras.

Palabras clave: crucífera, dilución placa, medios de cultivo, fitopatología, micopatógenos, rizosfera.

Abstract

Introduction. Phytopathogenic fungi represent the main economic losses worldwide in different types of crops, including vegetables such as *Brassica Oleracea* var. *capitata*. **Objectives.** Identify the possible phytopathogenic fungi associated with *Brassica*, the signs and symptoms they may cause, their possible transmission mechanism, and to qualitatively compare their growth in different culture media. **Materials and methods.** Leaves with and without symptoms were isolated, together with soil samples to elaborate serial dilutions. As for microscopy, the reproductive parts of the fungi were visualized for taxonomic classification. **Results.** A total of 17 morphotypes were isolated up to genus level, being *Botrytis* and *Fusarium*, the genera found with the highest presence in asymptomatic and symptomatic leaf samples. For soil samples, the most frequent genus was *Penicillium*. **Conclusions.** Of the three media evaluated, Sabouraud's extract agar showed the best results for the growth of most fungi. Probable transmission mechanisms were established for each of the fungi found in association with *B. oleracea* var. *capitata* and *Botrytis* sp. was established as the possible pathogen causing the symptoms observed in the samples.

Keywords: crucifera, silver solution, culture media, phytopathology, mycopathogens, rhizosphere.

Introducción

Las hortalizas son un conjunto de plantas cultivadas generalmente en huertas o regadíos, que se consumen como alimento, ya sea de forma cruda o cocida. El término hortaliza incluye a las verduras y a las legumbres verdes (1). Dentro de estas, se encuentra la familia Brassicaceae que incluye 338 géneros y alrededor de 3709 especies aceptadas. Es un grupo de angiospermas distribuidas alrededor del mundo que comprende especies con especial interés científico como *Arabidopsis thaliana* y, económico como los cultivos del género *Brassica* (*Brassica rapa*, *Brassica napus*, *Brassica oleracea*) (2). Este grupo de plantas se caracteriza por la síntesis y acumulación en sus tejidos de metabolitos secundarios denominados glucosinolatos (GSLs) que se encargan de la defensa frente a patógenos y plagas, pese a ello, este género es altamente susceptible a enfermedades por bacterias, virus y especialmente por hongos (3-5).

En este sentido, los hongos fitopatógenos son responsables de la pérdida de un 70% de los cultivos a nivel global, lo que representa alimento suficiente para hasta 600 millones de personas al año. Se estima que los cinco cultivos alimentarios más importantes en todo el mundo pierden al menos 125 millones de toneladas de productos cada año a causa de enfermedades fúngicas (6)

ocasionadas principalmente por los géneros *Alternaria*, *Leptosphaeria*, *Botrytis*, *Colletotrichum* entre otros. De manera particular, en cuanto las brasicas algunos estudios han determinado que los hongos que más pérdida causan en estos cultivos son, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum* sp y *Alternaria* sp (7,8).

Este tipo de agentes infecciosos son transmitidos a través del suelo, el agua, el aire y por animales como los humanos o los insectos y las enfermedades solo serán detectables mediante los signos, es decir, las manifestaciones externas de las estructuras reproductivas del hongo y los síntomas que hacen referencia a todas aquellas manifestaciones detectables como el color, la forma o la alteración en la función de la planta (9). Dependiendo del hábito del hongo (Biotrofo o Necrótrofo) los síntomas pueden variar. En el caso de los hongos biotrofos sus síntomas pueden ser hipertrofia, hipoplasia o atrofia de la planta completa o de alguno de sus órganos; Mientras que los necrotrofos producen necrosis como manchas foliares, pudriciones o antracnosis (10). Por lo anterior, el objetivo general de este estudio es identificar los posibles hongos fitopatógenos presentes en el cultivo de *Brassica oleracea* var. *Capitata* y de forma específica, describir los signos y síntomas causados en las diferentes estructuras morfológicas, identificar los

posibles mecanismos de transmisión de los hongos fitopatógenos aislados, así como comparar cualitativamente el crecimiento de hongos en diferentes medios de cultivo.

Metodología

Área de Estudio. La investigación se llevó a cabo en la granja la Arandela, ubicada en la zona rural de la ciudad de Armenia del departamento del Quindío, Colombia, entre los 4°34'07" Norte y 75°39' 31" Oeste. Presenta una altitud media de aproximadamente 1563 m.s.n.m, con una temperatura que oscila entre los 18° a 21° y una precipitación anual de 2436 mm (11). La granja la Arandela comprende un área total de 3.980,2 m² dedicados principalmente a la agricultura orgánica de hortalizas como el brócoli, coliflor, lechuga, berenjenas, repollo, entre otras.

Recolección y transporte de muestras. El material vegetal fue recolectado a finales del mes de septiembre y principios de octubre del 2022 bajo dos categorías: Hojas con síntomas visibles y hojas sanas. En total se obtuvieron 4 muestras (2 por cada categoría), adicionalmente se muestreó una planta completa que presentaba sintomatología generalizada, así como 100 g de tierra en el que se encontraba este último. Todo el material vegetal fue guardado en bolsas de polipropileno y transportados al laboratorio del Grupo de Investigación en Ciencias Básicas y Educación (GICBE) de la Universidad de Quindío.

Procesamiento, aislamiento de muestras e inoculación. Las muestras se examinaron a fin de describir los signos y síntomas y a partir de esto elegir los tejidos foliares a tratar. Se cortaron 4 fragmentos de hojas de 10x10 mm tanto para las muestras de tejido que presentaron algún tipo de lesión visible como aquellas libres de síntomas. Se realizó un protocolo de desinfección a los fragmentos cortados siguiendo la metodología propuesta por Muñoz *et al.* (12), modificando los tiempos de tal manera que se sumergieron en etanol al 70% (C₂H₆O) durante 30s; posteriormente se transfirieron a un beaker con hipoclorito de sodio al 1% (NaClO) durante 30s y se lavaron con agua destilada, durante el mismo periodo de tiempo. Se secaron sobre toallas de papel absorbente y se sembraron 4 fragmentos por cada medio de cultivo en Agar papa dextrosa con cloranfenicol. Se incubaron a temperatura ambiente.

Preparación de medios de cultivo. Para el aislamiento de microorganismos presentes en el tejido vegetal y

muestras de suelo, se realizaron cultivos mixtos de Agar Papa Dextrosa (4%), mientras que para el aislamiento de colonias puras se empleó Agar Dextrosa Sabouraud (4%) con cloranfenicol (0.05 %) y para diferenciar el crecimiento en diferentes medios de cultivo se realizó Agar Extracto de Levadura (3%) con cloranfenicol (0,05 %). Las preparaciones se hicieron de acuerdo a las indicaciones de cada fabricante. Cada medio se esterilizó durante de 30 minutos a 121 °C y 15 libras de presión.

Dilución en placa. Para el aislamiento de microorganismos presentes en el suelo, se efectuaron diluciones seriadas hasta 10⁻⁶. Se pesó 1 gramo de suelo y se adicionó a un tubo de ensayo que contenía 9 mL de solución salina (NaCl) y se homogeneizó. Esta solución fue la dilución madre 10⁻¹. Se tomaron 5 tubos de ensayo más y a cada uno de ellos se les agregó 9 mL de NaCl junto con 1 µL de la dilución 10⁻¹ para la dilución 10⁻². Este procedimiento se repitió hasta llegar a la dilución 10⁻⁶. Todas las diluciones se sembraron en cajas de Petri con Agar Papa Dextrosa (4%) utilizando una micropipeta de 10-100 µL.

Obtención de cultivos puros. Una semana después de la siembra inicial, se seleccionaron las colonias mejor aisladas observando el margen, forma y coloración del hongo. A partir del cual se inocularon en nuevos medios de cultivo de Agar Dextrosa Sabouraud con cloranfenicol. Este procedimiento se hizo con todos los hongos y se repitió hasta la obtención de cultivos puros. Asimismo, se llevó un registro fotográfico del crecimiento en periodos de 5 días a cada cultivo.

Identificación macroscópica y microscópica de los hongos. Tras la obtención de cultivos puros, se procedió a observar la morfología del micelio y partes reproductivas como los conidios, conidióforos esporangios o esporas. Para ello se utilizó la técnica de cinta con azul de lactofenol propuesta por Agrios (10). Las placas se montaron en microscopios ópticos NikonTM Eclipse E100 a 40x y 100x. Adicionalmente, se realizaron fotografías de las estructuras utilizando el microscopio óptico Carl ZeissTM Primo Star a 40x y 100x bajo el programa computacional ZEN 2.3 lite a un zoom de 1.0x. Para la identificación taxonómica, tanto macro y microscópica, se siguieron las guías propuestas por Agrios (10, 13-17) a partir de las cuales se compararon características como color y forma.

Comparación de medios de cultivo. Una vez identificados los hongos, se volvieron a re sembrar en 3 medios de cultivos diferentes: Agar dextrosa Sabouraud (4%), Agar Papa Dextrosa (4%) y Agar Extracto de Levadura (3%) todos con cloranfenicol (0,05 %). Se observaron cada 5 días durante 3 semanas para asegurar el crecimiento de todos los hongos, llevando un registro fotográfico comparativo para determinar en qué medio las características macroscópicas eran más conspicuas.

Aspectos bioéticos. Se desarrolló un consentimiento informado para dar a conocer al propietario del predio la investigación que se llevaría a cabo. Bajo su firma se

hizo la recolección y tratado de datos.

Resultados

Se observaron en diferentes laminas foliares signos de crecimiento vegetativo de color grisáceo inmersos en manchas de color negro producida por la pudrición de estas estructuras, adicionalmente se distinguieron cuerpos fructíferos (Figura 1.A). La sintomatología, por su parte, estuvo marcada por clorosis y marchitamiento foliar (Figura 1.B) así como manchas necróticas (Figura 1.B). Cabe resaltar que en tallos y raíces no se percibió ningún tipo de signo (Figura 2).



Figura 1. Signos y síntomas de hojas de *Brassica oleracea* var. Capitata. **A.** Signos de podredumbre húmeda en tejidos carnosos. **B.** Síntomas de marchitamiento y decoloración en el follaje. **C.** Signos de crecimiento vegetativo del hongo acompañado de síntomas de necrosis. **Fuente:** Maria Camila Ocampo Arias.



Figura 2. **A.** Tallo sin presencia de signos y síntomas. **B.** *Brassica oleracea* var. capitata sin signos de microorganismos fitopatógenos. **Fuente:** Maria Camila Ocampo Arias.

En cuanto al aislamiento, se identificaron 9 géneros (*Mucor*, *Penicillium*, *Colletotrichum*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Botrytis*, *Epicocum*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*) distribuidos en 17 morfotipos siendo *Penicillium*, *Botrytis* y *Fusarium* los más frecuentes. (Tabla 1).

Tabla 1. Géneros y morfotipos identificados en hojas y suelo de Brassica oleracea var. capitata.

Géneros	Morfotipos	Porcentaje de frecuencia
<i>Mucor</i>	1	6%
<i>Penicillium</i>	3	18%
<i>Colletotrichum</i>	2	12%
<i>Cladosporium</i>	1	6%
<i>Geotrichum</i>	2	12%
<i>Botrytis</i>	3	18%
<i>Epicocum</i>	1	6%
<i>Fusarium</i>	3	18%
<i>Rhizoctonia</i>	1	6%
Total	17	100%

*Los géneros en negrilla hacen referencia a aquellos tuvieron mayor frecuencia en el estudio

Para los aislamientos del suelo se identificaron 5 morfotipos, entre ellos *Mucor* sp., Que en una dilución en placa 10^{-1} , se caracterizó por presentar micelio esponjoso de color grisáceo oscuro. En su microscopia, se distinguieron esporangios globosos con endosporas dentro y esporangióforo hialino y largo (figura 3.1); Por su parte, *Penicillium* sp. En dilución en placa 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} formó colonias algodonosas con pigmentaciones verdes claras y azuladas. Al ser observadas en el microscopio a 100 x se reconocieron conidióforos penicilados, ramula, métula, conidios y esporas (figura 3.2, 3.4). El morfotipo del género *Colletotrichum* en dilución en placa 10^{-2} presento colonias algodonosas de color blanco, y en la microscopia se diferenciaron esporodoquios y conidios. (figura 3.3). *Cladosporium* sp en la dilución de 10^{-5} formo colonias algodonosas con superficie aterciopelada de color oliva grisáceo. Por su parte, en la microscopia se lograron identificar conidios ovalados con pared delgada y hialina con una tonalidad marrón clara (figura 3.6). Finalmente, en una dilución 10^{-6} para *Geotrichum* sp se distinguieron colonias esponjosas blanquecinas y con textura húmeda que cubrían casi por completo el medio; en su microscopia se observaron arthroconidios e hifas hialinas, rectangulares y delgadas (figura 3.7).

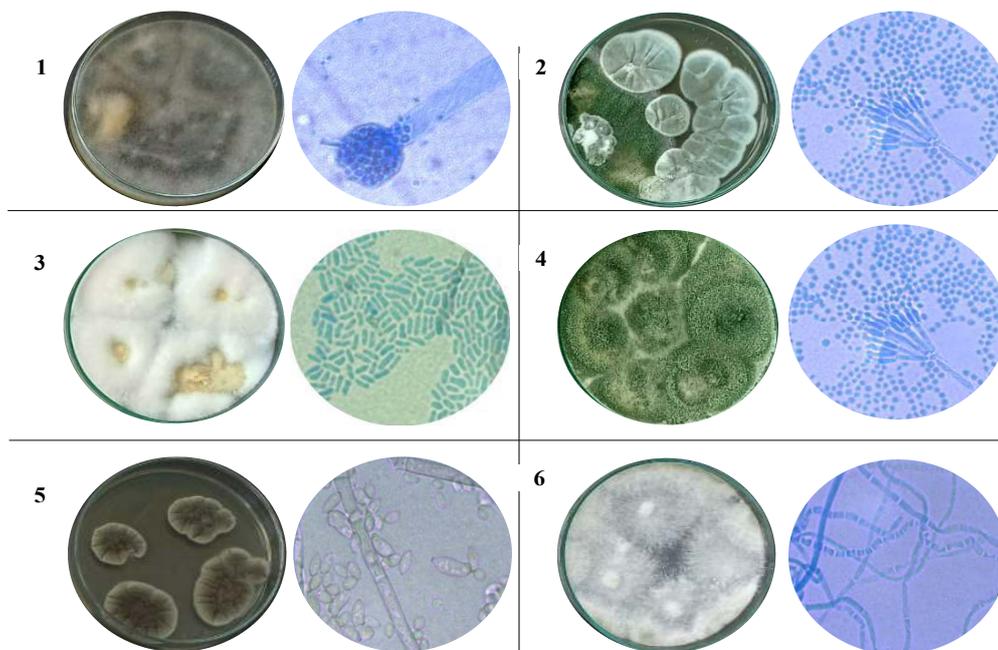


Figura 3. Morfología macro y microscópica de hongos aislados de muestras de suelo. 1. *Mucor* sp. 2-4. *Penicillium* sp. 3. *Colletotrichum* sp. 6. *Cladosporium* sp. 7. *Geotrichum* sp.

Fuente: Maria Camila Ocampo y Natalia Ocampo.

Ahora bien, para los aislamientos a partir de hojas que presentaban síntomas, se lograron identificar 4 morfotipos pertenecientes a diferentes géneros. De ese modo, el primero de ellos fue el género *Botrytis* sp que en sus características macro presentó colonias esponjosas de tonalidades grises a amarillentas y blanquecinas. Por su parte, en la microscopia se distinguieron conidios grandes con pared celular ovoide y hialina (figura 4.1, 4.2). Otro de los géneros que se logró identificar fue el género *Epicoccum* sp que formó colonias algodonosas con tonalidades que van desde amarillos, naranjas, rojos y marrones, y en su microscopia se distinguieron conidióforos delgados y hialinos que al agruparse forman esporodoquios con aspecto globoso (figura 4.3). El género *Fusarium* sp se identificó a partir de la formación de colonias algodonosas de color blanco, en cuya microscopia se observaron macro conidios en forma de media luna y clamidosporas características del género fusarium (figura 4.4). Finalmente, el género *Rhizoctonia* sp al igual que el caso anterior presentó entre sus características macro colonias algodonosas de tonalidades blancas que cubría casi por completo todo el medio, y en su microscopia se diferenciaron hifas de tamaño irregular y esclerocios (figura 4.5).

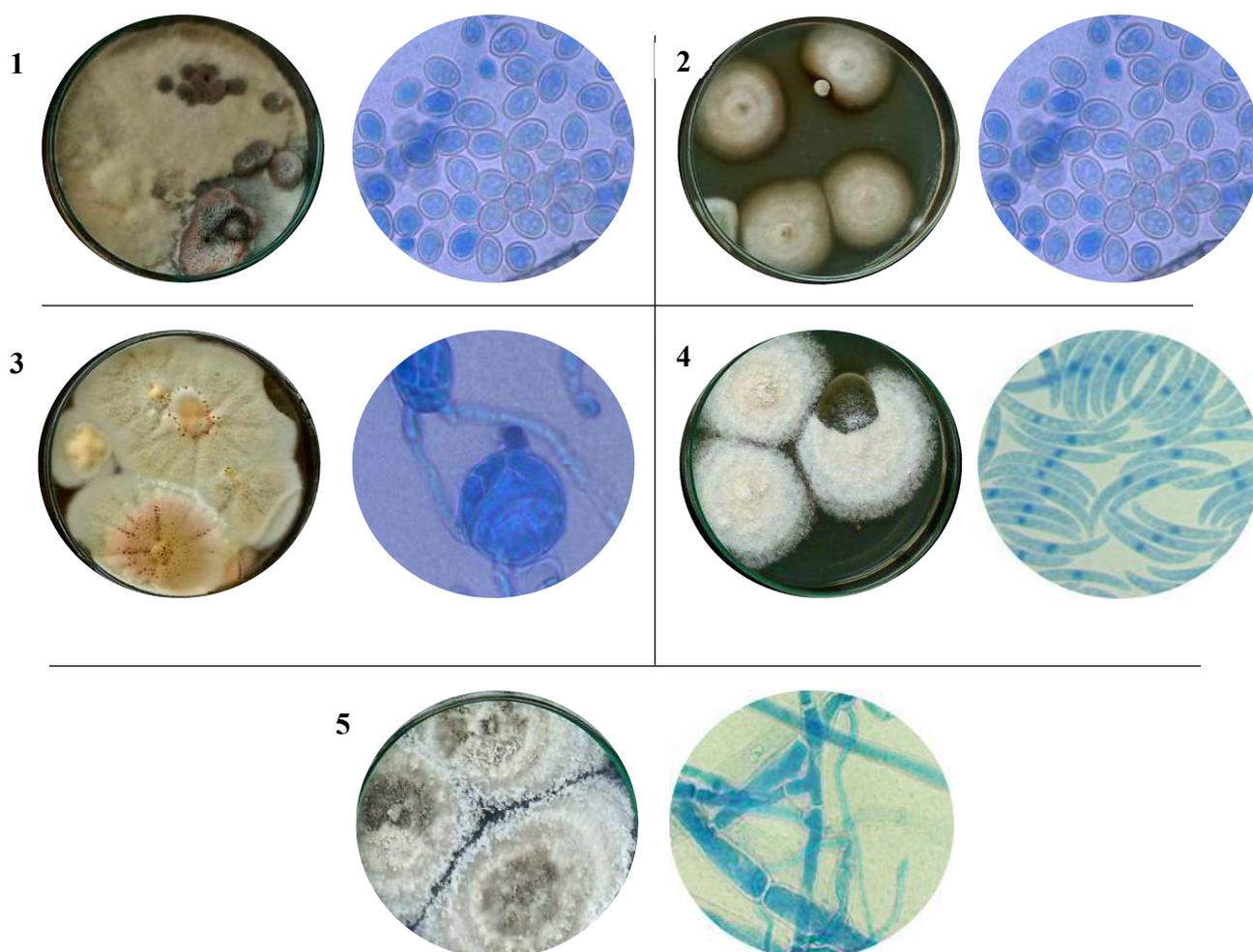


Figura 4. Morfología macro y microscópica de hongos aislados de hojas sintomáticas. 1-2. *Botrytis* sp. 3. *Epicoccum* sp. 4. *Fusarium* sp. 5. *Rhizoctonia* sp.

Fuente: Maria Camila Ocampo y Natalia Ocampo

Para los aislamientos que se realizaron a partir de hojas infectadas, se lograron identificar 3 morfotipos pertenecientes a diferentes géneros. El primero de ellos fue el género *Fusarium*, que se identificó a partir de la formación de colonias algodonosas, en cuya microscopia se observaron macro conidios en forma de media luna y clamidosporas (5.1). *Colletotrichum* por su parte, presento colonias algodonosas de color blanco, y en la microscopia se diferenciaron esporodoquios y conidios. (figura 5.2). Finalmente, *Botrytis* sp en sus características macro presentó colonias esponjosas de tonalidades grises a amarillentas y blanquecinas, y en su microscopia se distinguieron conidios de tamaño grande con pared celular ovoide y hialina (figura 5.3)

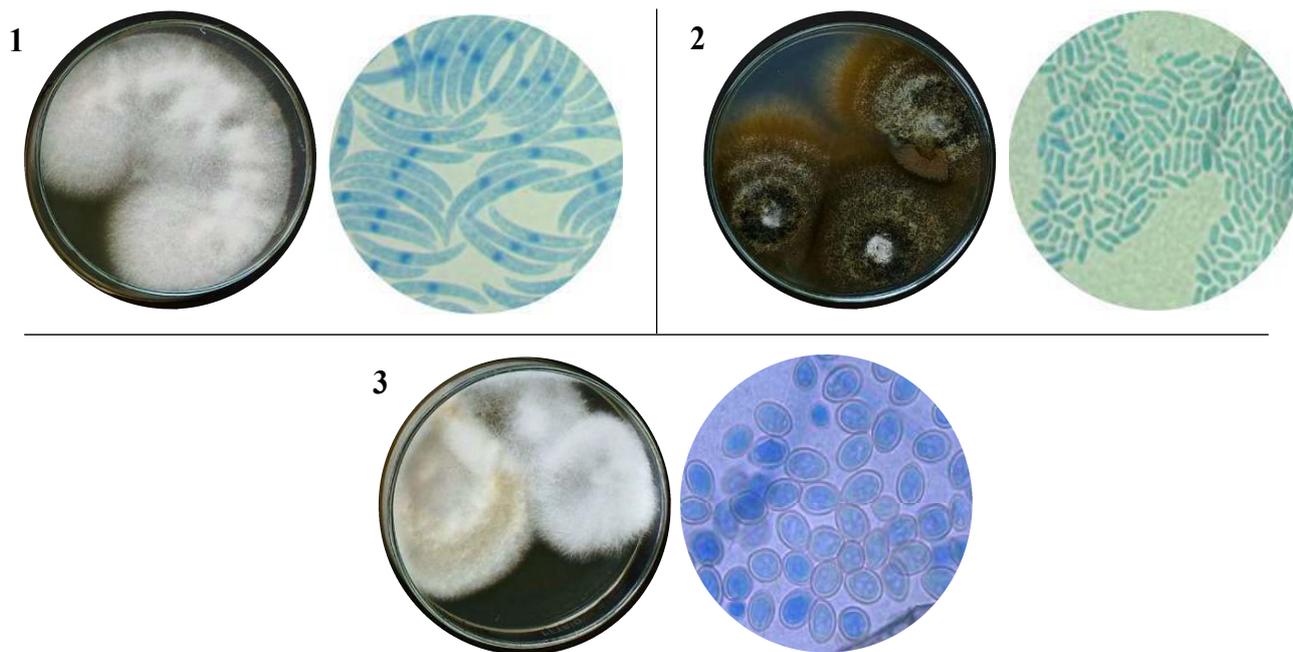


Figura 5. Morfología macro y microscópica de hongos aislados de hojas infectadas. 1. Género *Fusarium* sp. 2. Género *Colletotrichum* sp. 3. Género *Botrytis* sp.

Fuente: Maria Camila Ocampo y Natalia Ocampo

En cuanto a las muestras de hojas sin síntomas, se logró identificar el género *fusarium*, que formó colonias algodonosas, en cuya microscopia se observaron macro conidios y clamidosporas (figura 6.1). También se identificó *Geotrichum* sp, donde se distinguieron colonias esponjosas blanquecinas y con textura húmeda; en su microscopia se observaron artroconidios e hifas hialinas, rectangulares y delgadas (figura 6.2).

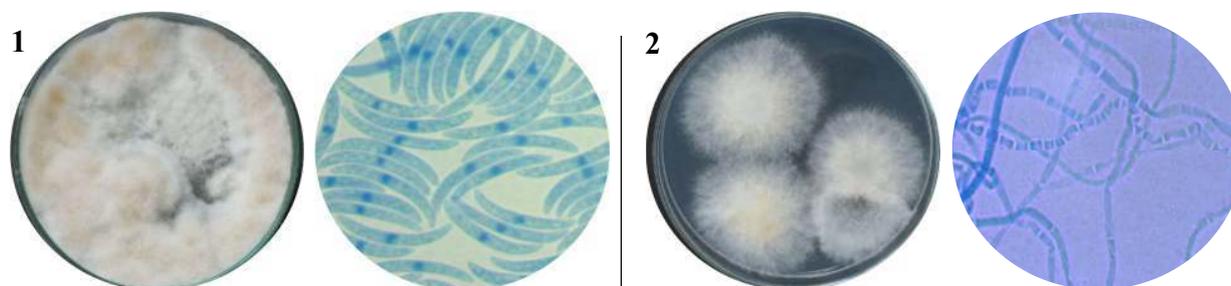


Figura 6. Morfología macro y microscópica de hongos aislados de hojas asintomáticas. 1. Género *Fusarium* sp. 2. Género *Geotrichum* sp.

Fuente: Maria Camila Ocampo y Natalia Ocampo

Por otra parte, para realizar la comparación en cuanto al crecimiento en los diferentes medios de cultivo utilizados (agar extracto de levadura, agar papa dextrosa y agar dextrosa Sabouraud) se pudo evidenciar de forma cualitativa, es decir, en aspectos macro como color y tamaño que el medio que brindó los nutrientes necesarios para un óptimo crecimiento fue el agar extracto Sabouraud.

Discusión

Respecto al aislamiento del suelo, los hongos confor-

man aproximadamente entre el 50% al 80% de la biomasa microbiana del suelo (18) y por tanto muchos de estos hacen parte de la rizosfera de las plantas a través de un mecanismo de secreción de fotosintatos o exudados de las raíces, que en el caso de la familia Brassicaceae, lo hacen por medio de la exudación de raíces. Estos hongos rizóforos también pueden ser endófitos como es el caso de las especies pertenecientes al género *Mucor* y *Penicillium* quienes generan relaciones mutualistas planta-hongo, donde a cambio de nutrientes y refugio, promueven el crecimiento de la planta a través

de una mayor absorción de nutrientes, principalmente del fósforo, o la modulación de fitohormonas, así como mejorar su resistencia al estrés abiótico al aumentar su tolerancia a metales pesados (5). Adicionalmente se ha demostrado que *Penicillium* es un controlador biológico de fitopatógenos al producir compuestos antifúngicos que reducen o suprimen las enfermedades producidas por otros hongos, ejemplo de esto, es el estudio realizado por (19) en que encontraron que *Penicillium* inhibía a *Fusarium* en cultivos de tomate y Repollo. Dado que *Penicillium* y *Mucor* se encuentran distribuidos comúnmente en el suelo y tienen una alta capacidad de dispersión aérea, solo es posible atribuir su mecanismo de transmisión a través de este, no obstante la presencia de *Mucor* en la matriz de estudio se pudo deber a que en la granja abonaban con heces de conejo donde este género también se encuentra.

Ahora en cuanto a *Cladosporium*, aunque es un género que contiene especies patógenas para *Brassica oleracea* solo se ha documentado como un hongo presente en la rizosfera (18), sin una función o relación con la planta. Esto se puede deber a los glucosinolatos producidos por las Brassicas debido a que tienen actividad antimicrobiana frente a varios géneros de hongos, entre los cuales se encuentra *Cladosporium* (20). Su mecanismo de transmisión en todos los casos es el suelo ya que sus conidios tienen la capacidad de dispersarse a largas distancias (21). Caso similar ocurre con *Geotrichum*, no obstante su presencia en *Brassica* se ha reportado postcosecha y no en el suelo (22), pero en este estudio además de aislarlo del suelo, se aisló de las hojas, lo que supone que este hongo es endófito del repollo, dado que no se halló literatura sobre esto, no es posible establecer la relación entre ambos, sin embargo en otras hortalizas como la berenjena *Geotrichum* se desempeña como un agente de biocontrol (23) lo que deja abierta la puerta a estudios sobre ambas especies.

Continuando, *Colletotrichum* es uno de los principales agentes causantes de la antracnosis en distintos cultivos. En *Brassica oleracea*, se ha reportado en diferentes países como India (24), México (25) y en Colombia bajo los informes del ICA (26), pese a esto, no es considerado un hongo específico de esta hortaliza, sino más bien el resultado de un oportunista con un ciclo de vida hemibiotrofo, es decir, puede llegar a través del aire o por salpicaduras de agua de otros cultivos como el tomate, la cebolla o el café (27), a las heridas de una planta ya enferma y desarrollarse directamente como necrótrofo (28), lo que concordaría con el hecho de que

sólo haya sido aislado de las hojas a las que no se les realizó el protocolo de desinfección. En cuanto al suelo, este género se puede encontrar allí como saprobio sobre plantas muertas.

Entre los demás géneros aislados de las hojas, *Botrytis* es un hongo necrótrofo, tiene una amplia gama de hospedadores, entre los cuales también se encuentra *Brassica oleracea* y todas sus variedades (29-30). Sus síntomas son variados dependiendo de la parte de la planta en el que se hospede, pero en hojas se ve inicialmente como manchas cloróticas, necrosis y finalmente la aparición de las estructuras fructíferas que se ven como moho (31). Cabe resaltar que también se aisló a *Botrytis* sp en las hojas desinfectadas, lo que podría significar que se encontraba como endófito, contrario a su estilo de vida necrótrofo. Respecto a esto Van kan y colaboradores (32) hacen una recopilación bibliográfica de casos donde *Botrytis* se ha comportado como un endófito y luego se ha desarrollado como necrótrofo, aunque no hay claridad sobre el proceso detrás de ello se cree que bajo ciertas condiciones ambientales, expresan uno u otro estilo de vida y se transmite por medio del aire en forma de conidios o esclerocios.

Fusarium es uno de los fitopatógenos más comunes y responsables de grandes pérdidas de cultivo en el repollo (3, 33). Se manifiesta con el amarillamiento y marchitamiento de las hojas inferiores y progresivamente en todas las hojas hasta que mueren (33). Generalmente este hongo se transmite por el suelo, entrando a través de las raíces y extendiéndose a las demás partes de la planta. En el estudio aquí llevado a cabo no se encontró en el suelo, posiblemente porque este género se halla en todo el medio ambiente, ya sea en el agua o el viento (34).

Rhizoctonia, particularmente, también está asociada al suelo, generando síntomas de decoloración a tonos marrones en las nervaduras de las hojas, amarillamiento y marchitez de estas, así como la pudrición de raíces y tallos (35). Pese a que no se halló en el suelo, sus basidiósporas tienen la capacidad de dispersarse por el aire (36) lo que explicaría su presencia como en otros estudios de *Brassica oleracea* donde se han aislado especies de este género (26, 37-38). Por último, el género *Epicoccum* se dispersa por el aire y posee especies fitopatógenas, sin embargo, para *Brassica Oleracea* se ha informado como un endófito potencial biocontrolador de *Fusarium* y *Botrytis* (39,40).

Con todo lo anterior, entre los posibles micopatógenos aislados, se hipotetiza que *Botrytis* sp fue el agente causal primario de producir la enfermedad en la planta dada la sintomatología presentada, se sugiere además que este patógeno colonizó las láminas foliares a través de heridas causadas por invertebrados que se alimentan de ellas.

Por otra parte, en relación a los medios de cultivo, la tasa de crecimiento se vio influenciada por las fuentes de carbono y composición nutritiva de cada uno de los medios evaluados. Aunque los agares extracto de levadura y agar papa dextrosa se usan para el aislamiento y crecimiento de hongos, no contienen los nutrientes necesarios a largo plazo, lo que conlleva a una mayor competencia que se traduce en porcentajes bajos de desarrollo micelial y en algunos casos, la limitación de esporulación de algunos géneros. Por ello se recomienda esperar el crecimiento micelial y luego usar medios que permitan el desarrollo productivo del microorganismo en estudio, como ejemplo el agar extracto de Sabouraud, un medio selectivo para el crecimiento de hongos (41). El Sabouraud de los 3 medios resultó ser el mejor, posiblemente por su composición, ya que se ha documentado (42) que el pH óptimo de crecimiento en hongos ambientales es de 5.5 y el de este medio es de 5.6, además su contenido de peptona junto con la glucosa son fuentes importantes de carbono, nitrógeno

y energía necesarios para crecer.

Para concluir, hasta donde se sabe, este trabajo es el primer reporte de hongos endófitos y fitopatógenos asociados a cultivos de *Brassica Oleracea* var. capitata en el municipio de Armenia, así como para el Departamento del Quindío. De los 9 géneros aislados, 4 son posibles fitopatógenos: *Botrytis* sp, *Colletotrichum* sp, *Fusarium* sp y *Rhizoctonia* sp. Quienes se propagaron a la matriz mediante el suelo y el aire. De estos patógenos, se infiere que *Botrytis* sp es posiblemente el agente causante de la enfermedad debido a los síntomas expresados por la planta (manchas foliares y necrosis) que concuerdan con los descritos para *Botrytis*. Por lo cual se recomienda continuar con estudios experimentales y moleculares para establecer la patogenicidad de este hongo y los demás aislados. En cuanto a los medios de cultivo, se recomienda realizar análisis estadísticos con el crecimiento radial de las colonias para determinar cuantitativamente el mejor medio para el crecimiento óptimo de estos organismos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Financiación

Este estudio fue financiado por la Universidad del Quindío y con recursos propios.

Referencias

1. Rozano, V., Quiroz, C., Acosta, J., Pimentel, L., Quiñones, E. (2005). Hortalizas, las llaves de la energía. RDU. 6(9), 2-30. En https://www.revista.unam.mx/vol.6/num9/art88/sep_art88.pdf
2. Vargas-Rincón, C., Sánchez-León, G., Jiménez, P. (2014). La producción de metabolitos secundarios en la familia Brassicaceae. Rev. Fac Cien Básicas, 9(2), 282-305. <https://doi.org/10.18359/rfcb.388>
3. Lv, H., Fang, Z., Yang, L., Zhang, Y., Wang, Q., Liu, Y., et al. (2014). Mapping and analysis of a novel candidate Fusarium wilt resistance gene FOC1 in *Brassica oleracea*. BMC Genomics 15, 1094. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-1094>
4. Gerszberg, A., Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T. (2015). In vitro regeneration of eight cultivars of *Brassica oleracea* var. capitata. In Vitro Cell Dev Biol-Plant 51, 80-87. <https://doi.org/10.1007/s11627-014-9648-7>
5. Poveda, J., Velasco, P., Sacristán, S. (2022). Fungal endophytes of Brassicaceae: Molecular interactions and crop benefits. Front Plant Sci., 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.932288>
6. Davies, C., Wohlgemuth, F., Young, T., Violet, J., Dickinson, M., Sanders, J., et al, (2021). Evolving challenges and strategies for fungal control in the food supply chain. Fungal Biol Rev., 36, 15-26. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.01.003>
7. Koike, S., Gladders, P., Paulus, A. (2007). Vegetable diseases. A colour handbook. London, UK: Manson Publishing. Pp 450.
8. Srivastava, M., Gupta, S., Saxena, A., & Shittu, L. (2011). A review of occurrence of fungal pathogens on significant brassicaceous vegetable crops and their control measures. Asian J Agric Sci., 3(2): 70-79. <https://maxwellsci.com/print/ajas/v3-70-79.pdf>
9. Castaño Zapata, J. (2015). Principios básicos de hongos fitopatógenos. Manizales-Caldas: ed.. Universidad de Caldas. Pp 83-99. Disponible en <http://www.ebooks7-24.com.crai.referencistas.com/?il=16631>
10. Agrios, G. N. A. (2005). Plant diseases causes by fungi. En Plant Pathology (5.a ed., pp. 385-614): ed. Elsevier Disponible en <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02037-6>
11. Rodríguez, C. T. (1999). Biodiversidad del relicto “Cedro Rosado” de la Universidad del Quindío. Biología y Educación. 9:17-18.
12. Muñoz, V., Cisterna, V., France, A. (2020) Aislamiento de microorganismos fitopatógenos. Chillan: Boletín INIA. 77-91. Consultado octubre 26, 2022, en: <https://hdl.handle.net/20.500.14001/67165>
13. Monzón, A. Rodríguez Tudela, J. L. (2000). Infecciones causadas por el género fusarium. Control Calidad SEIMC. <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/fusarium.pdf>
14. Piontelli, E. (2012). El complejo Pseudallescheria/Scedosporium y taxas afines en la rutina del laboratorio micológico clínico. Boletín Micológico, 27(2). <https://doi.org/10.22370/bol-micol.2012.27.2.885>
15. Cepero, M., Restrepo, S., Franco-Molano, A., Cardenas, M., Vargas, N. (2012). Biología de Hongos. Bogotá. Universidad de los Andes: Ed. Ediciones Uniandes.
16. Cruz-Lachica, I. (2017). Identification of mucoralean fungi causing soft rot in papaya (*Carica papaya* L.) fruit in Mexico. Rev Mex fitopatol, 35, 3. En <https://www.smf.org.mx/rmf/ojs/index.php/RMF/article/view/75>
17. Boonmee, S., Wanasinghe, N., Calabon, S., Huanraluek, N., Chandrasiri, U., Jones, G., et al. (2021). Fungal diversity notes 1387-1511: taxonomic and phylogenetic contributions on genera and species of fungal taxa. Fungal Divers, 111(1), 1-335. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00489-3>

18. Khan, M. A., & Khan, A. M. (2021). Diversity and distribution of soil fungi isolated from the cabbage (*Brassica Oleracea* var. *Capitata*) rhizosphere. *Plant Arch*, 21(1). <https://doi.org/10.51470/plantarchives.2021.v21.no1.033>
19. Alam, S., Sakamoto, K., & Inubushi, K. (2011). Biocontrol efficiency of *Fusarium* wilt diseases by a root-colonizing fungus *Penicillium* sp. *J Soil Sci Plant Nutr.*, 57:2, 204-212, <https://doi.org/10.1080/00380768.2011.564996>
20. Sisti, M., Amagliani, G., & Brandi, G. (2003). Antifungal activity of *Brassica oleracea* var. *botrytis* fresh aqueous juice. *Fitoterapia*. 74,453–458. doi:10.1016/s0367-326x(03)00108-4
21. Bensch, K., Groenewald, J., Z., Meijer, M., Dijksterhuis, J., Jurjević, Ž., Andersen, B., et al. (2018). *Cladosporium* species in indoor environments. *Stud Mycol.* 89, 177–301. En doi: 10.1016/j.simyco.2018.03.002
22. Archana, J., P, Nasare., M, Bhowl. (2014) Fungal Diversity in Vegetables, *Int. J. Life Sci. Res.* Issue 2, 25-26. Disponible en, https://www.researchgate.net/publication/279033262_Fungal_Diversity_in_Vegetables
23. Mookherjee, A., Bera, P., Mitra, A., Maiti, M. K. (2018). Characterization and Synergistic Effect of Antifungal Volatile Organic Compounds Emitted by the *Geotrichum candidum* PF005, an Endophytic Fungus from the Eggplant. *Microb Ecol.* 75, 647–661. En <https://doi.org/10.1007/s00248-017-1065-0>
24. Saini, T., Kumar, D. & Gupta, S. (2022). First report of cauliflower anthracnose caused by *Colletotrichum gigasporum* in India. *New Dis. Rep.* 46, 12121. En <https://doi.org/10.1002/ndr2.12121>
25. Pacheco-Cano, R., Salcedo-Hernández, R., López-Meza, J., Bideshi, D., Barboza-Corona, J. (2018). Antimicrobial activity of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cultivar Avenger against pathogenic bacteria, phytopathogenic filamentous fungi and yeast. *J Appl Microbiol*, 124: 126-135. <https://doi.org/10.1111/jam.13629>
26. Moya, H. J. (2012). Manejo fitosanitario del cultivo de hortalizas. Bogotá-Cundinamarca: ed. Instituto Colombiano Agropecuario. Disponible en <https://www.ica.gov.co/getattachment/bb883b42-80da-4ae5-851f-4db05edf581b/Manejo-fitosanitario-del-cultivo-de-hortalizas.aspx>
27. Bolívar-Anillo, H., Abdellah, E., da Silva, G., Izquierdo-Bueno, I., Moraga, J. y dos Santos, G. (2021); Endophytic Fungal Community Associated with Colombian Plants. En Rosa, L. (2021). Rosa, L. H. (Ed.). (2021). Neotropical Endophytic Fungi. Belo Horizonte-Minas Gerais: ed.Springer. Pp 93-108. Disponible en https://doi.org/10.1007/978-3-030-53506-3_5
28. Jayawardena, R., Bhunjun, C., Hyde, K., Gentekaki, E., Eleni, Itthayakorn, P.(2021). *Colletotrichum*: lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. *Mycosphere* 12(1),519–669. Doi 10.5943/mycosphere/12/1/7
29. Rupp, S., Weber, W., Rieger, D., Detzel, P., Hahn, M. (2017). Spread of *Botrytis cinerea* Strains with Multiple Fungicide Resistance in German Horticulture. *Front Microbiol.*, 7, 2075. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02075>
30. Li, H., Chen, Y., Zhang, Z., Li, B., Qin, G., Tian, S. (2018). Pathogenic mechanisms and control strategies of *Botrytis cinerea* causing post-harvest decay in fruits and vegetables. *Food Qual Saf.*, 2, 111–119.<https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy016>
31. Williamson, B., Tudzynski, B., Van kan, J. (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease *Mol. Plant Pathol.*, 8(5), 561-580. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>
32. Van Kan, L., Shaw, M. (2014). *Botrytis* species: relentless necrotrophic thugs or endophytes gone rogue? *Mol Plant Pathol.*, 15(9), 957-961. <https://doi.org/10.1111/mpp.12148>
33. Arie, T. (2019). *Fusarium* diseases of cultivated plants, control, diagnosis, and molecular and genetic studies. *J Pestic Sci.*, 44(4), 275–281. <https://doi.org/10.1584/jpestics.J19-03>

34. Moretti, L., Busso-Lopes, A., Tararam, A., Moraes, R., Muraosa, Y., Mikami, Y., et al. (2018). Airborne transmission of invasive fusariosis in patients with hematologic malignancies. *PloS one*, 13(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196426>
35. Wallon, T., Sauvageau, A., Van der Heyden, H. (2020). Detection and Quantification of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia solani* AG1-IB Causing the Bottom Rot of Lettuce in Tissues and Soils by Multiplex qPCR. *Plants*, 10(1), 57. <https://doi.org/10.3390/plants10010057>
36. Senapati, M., Tiwari, A., Sharma, N., Chandra, P., Bashyal, M., Ellur, K., et al. (2022). *Rhizoctonia solani* Kühn Pathophysiology: Status and Prospects of Sheath Blight Disease Management in Rice. *Front Plant Sci.*, 13 (881116). <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.881116>
37. Budge, E., Shaw, W., Lambourne, C., Jennings, P., Clayburn, R., Boonham, N. et al. (2009). Characterization and origin of infection of *Rhizoctonia solani* associated with *Brassica oleracea* crops in the UK. *Plant Pathol*, 58,1059-1070. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02138.x>
38. Benli, İ., Türkkán, M., Özer, G., Erper, I. (2021). First report of *Rhizoctonia solani* AG 1-IB causing root and stem rot of kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) in Turkey. *J Plant Pathol* 103, 663. <https://doi.org/10.1007/s42161-021-00750-3>
39. Park, Y., Oyaizu, H., Okada, G., Takahashi, M. (2002). Screening of fungal antagonists against yellows of cabbage caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*. *Mycoscience*, 43(6), 447–451. <https://doi.org/10.1007/s102670200064>
40. Sarkar, D., Rakshit, A. (2021). Bio-priming in combination with mineral fertilizer improves nutritional quality and yield of red cabbage under Middle Gangetic Plains, India. *Sci Horti.*, 283 (110075). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110075>
41. Orozco, M., Manzo, G., Guzmán, S., Farías, Javier., Timmer, L. (2004). Crecimiento y Cambios Morfológicos de *Colletotrichum acutatum* Simmonds, Agente Causal de la Antracnosis del Limón Mexicano (*Citrus aurantifolia* Christm. Swingle) Incubado en diferentes medios. *Rev- mex. fitopatol.* 22(3), 423-428.
42. Gulmez, O., Baris, O. (2022). Fungal Growth and Pathology. *Intech Open*. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.103109>