

COLLETOTRICHUM GLOESPORIOIDES FITOPATÓGENO ASOCIADO A LA NUTRICIÓN HUMANA

Martha Cecilia Beltrán Cifuentes*
Dora Janeth García Jaramillo**

Resumen

Durante la última década se ha incrementado la demanda interna de frutas, comportamiento éste asociado a diferentes factores como el aumento de los procesos de urbanización, el conocimiento sobre las características y beneficios de estos productos, el desarrollo tecnológico, el mejoramiento de las comunicaciones, el desarrollo de la agroindustria, lo cual posibilita la utilización de las frutas como uno de los componentes principales de diferentes productos (jugos, néctares, pulpas, mermeladas, dulces, encurtidos), asociados a una oferta tecnológica adecuada, lo cual permite una gran diversidad en cuanto a formas de presentación del producto¹.

Las frutas, alimentos fundamentales en la alimentación, están adquiriendo cada vez más importancia como consecuencia de su favorable valor energético, riqueza en vitaminas y minerales, abundante fibra y p.H. 5-7 muy favorable para el crecimiento de numerosas especies microbianas, cualidades que se consideran beneficiosas en una nutrición y dieta saludables, y algunas veces, en los tratamientos de diversas patologías como la obesidad e hiperlipidemias, diabetes, trastornos cardiovasculares, dificultades en el tránsito y diverticulosis intestinales, tumores de colon y recto, hiperuricemias y gota, cataratas, degeneración macular, etc.².

En general los consumidores buscan buena calidad, asociada principalmente al consumo de alimentos inocuos que permitan mantener el buen funcionamiento del organismo. Pero esta calidad se ve afectada por diversos microorganismos

Palabras clave: Frutas, hongos, nutrición humana, Colletotrichum gloesporioides, poscosecha,

* Docente de Bioquímica. Fundación Universitaria del Área Andina. Estudiante Maestría en Biología Molecular y Biotecnología Universidad Tecnológica de Pereira

** Estudiante Maestría en Biología Molecular y Biotecnología Universidad Tecnológica de Pereira

(mohos u hongos, levaduras y bacterias) que causan considerables efectos nocivos a los alimentos, tanto en su desarrollo como en su almacenamiento. La presencia de microorganismos en los alimentos produce resultados que llevan a reducirlos y descomponerlos, alterando las cualidades nutricionales y gustativas, y en algunos casos por causa de la presencia de microorganismos, los alimentos pueden volverse tóxicos al hombre y a los animales¹.

*Entre los patógenos vegetales que pueden mencionarse y causan considerables pérdidas económicas en el cultivo de gran variedad de frutos como la papaya, cítricos, aguacate, café, mango, uva, guanábana, tomate, fresa, está el *Colletotrichum gloesporioides*, un Deuteromycota que puede atacar raíz, tallo, hojas, flores y fruto; causando la enfermedad llamada «infección quiescente» (o infección latente), Antracnosis; infección que se presenta tanto en estadios tempranos del desarrollo del fruto, como en etapas cercanas a la maduración³. Conocer del hongo *C. Gloesporioides*, su morfología, ciclo de vida, mecanismos de interacción hongo patógeno, y los eventos moleculares asociados, resulta de gran importancia tanto para el manejo poscosecha de las frutas afectadas por este hongo, como para el control en la calidad de los alimentos y para el conocimiento de patologías humanas asociadas a *Colletotrichum spp*⁴.*

Abstract

The internal demand for fruit has increased during the last decade, this behavior is associated with different factors such as the expansion of the urban processes, the knowledge about the characteristics and benefits of these products, the technological development, the improvements in communications, the agro-industrial development which has provided the possibility of using fruit as one of the principal components of different products (juices, nectar, pulps, marmalades, desserts, pickles, associated with an adequate technological offer, which allows a great diversity regarding the different presentations of the product¹ fruit, a fundamental food concerning nourishment, is becoming more important day by day, as a consequence of its beneficial nutritious value, richness in minerals and vitamins, abundant fiber and P.H. of 5-7, very favorable to the growth of numerous microbial species, qualities which are considered very beneficial in a nutritious and healthy diet and also to complete, in many cases, treatments of many pathological processes, currently so important as obesity and hyper lipids, diabetes, cardiovascular upsetting, transit difficulties and intestinal diverticulosis, rectum and colon tumors hyper uric and gout, cataracts and macula degenerations, etc².

In general, consumers look for good quality, mainly associated with the consumption of innocuous food that will allow the organism to function well.

But this quality is affected by diverse micro-organisms (molds or fungi, yeasts and bacteria) that cause considerable harmful effects in the food, in its development, as well as in its storage. The presence of micro-organisms in the food gives, as a result, changes that reduce it and spoil it, altering the nutritional qualities and taste, and in some cases, due to the presence of micro-organisms, the food might become toxic to humans and animals¹.

*An important vegetal pathogen that causes considerable economic losses in the crops of a great variety of fruit, such as, papaya, varieties of citrics, avocado, coffee, mango, grape, guanabana (soursoup), tomato, strawberry, is the *colletotrichum gloesporioides* a *deuteromycota* that can attack the root, stem, leaves, flowers, fruit; causing the disease called "quiescent disease" or "latent disease" anthracnose, infections that appear in early stages of the development of the fruit, as well as in the periods near ripening time³. It is of great importance to know about the fungus *c. gloesporioides*, its morphology, life cycle, the inter – action mechanisms fungus pathogen and the associated molecular events, not only for the after crop management of the fruit affected by this fungus, towards control in the quality of the food, but also for knowledge of human pathologies associated with *colletotrichum spp*⁴.*

Fecha de recibo: Julio/06

Fecha aprobación: Agosto/06

Introducción

Consumo de frutas para la salud

Las frutas juegan un papel trascendental en el equilibrio de la dieta humana por sus cualidades nutritivas²:

1. Su alto contenido de agua facilita la eliminación de toxinas del organismo y ayuda a la buena hidratación.
2. Su aporte de fibra interviene en la regulación del intestino y evita o corrige estreñimiento.
3. La fibra es de gran interés dietético y posee efectos beneficiosos tanto en la prevención como en el tratamiento de ciertas enfermedades: exceso de colesterol, diabetes, hipertensión, obesidad, cálculos en la vesícula biliar, hemorroides y venas varicosas, divertículos, cáncer de colon y úlcera.
4. Son fuente casi exclusiva de vitamina C. Los expertos en nutrición recomiendan tomar como mínimo tres porciones de fruta al día, procurando que una de ellas sea rica en vitamina C (cítricos, kiwi, melón, fresas, frutas tropicales...).
5. Contienen antioxidantes que protegen frente a enfermedades relacionadas con la degeneración del sistema nervioso, enfermedades cardiovasculares e incluso el cáncer. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha confirmado en los últimos años los resultados de diversos estudios de investigación que ponen de manifiesto los efectos anticancerígenos de frutas y verduras, particularmente contra el cáncer del tracto gastrointestinal y de pulmón. Según algunos estudios, uno de cada diez pacientes afectado por algún tipo de cáncer, ha mantenido una insufi-

ciente alimentación a base de frutas y verduras.

6. Los cítricos son frutas saludables, e igual a que algunas frutas tropicales son ricas en vitamina C, betacaroteno, vitamina E y otras sustancias con propiedades antioxidantes, las cuales se utilizan para contrarrestar enfermedades cardiovasculares, cataratas, cáncer de mama, ovarios o vejiga.

Fitopatógenos que atentan contra la salud pública

La composición y el bajo p.H. de algunas frutas hacen que éstas sean sensibles a alteraciones originadas por hongos, bacterias, virus y parásitos, sobre todo si la humedad, la temperatura y el tiempo no son los convenientes, llegando a afectar la fruta, tanto en la producción como en su almacenamiento.

De manera específica los hongos son causa de numerosas y frecuentes alteraciones y problemas referidos al aspecto, valor nutricional, características organolépticas y dificultad de conservación de las frutas y hortalizas, así como a los trastornos patológicos, alérgicos y tóxicos en los consumidores. Entre ellos existen diferentes géneros y especies: Tricomycetos (Oomicetos y Zogomicetos), Ascomycetos y Deuteromicetos, colonizadores externos y Basidiomicetos (levaduras) internos, Coelomicetos².

Colletotrichum gloesporioides patógeno de las frutas

C. gloesporioides es un Deuteromycota que pertenece a la clase de los Coelomicetos y al orden Melanconiales³. Fue descrito como *Gloesporium pestis* Masee (Masee, 1908). Luego fue reportado D.

alata en la India^{5,6} y subsecuentemente clasificado como *Colletotrichum gloesporioides*⁷. Es un importante patógeno vegetal que causa considerables pérdidas económicas en el cultivo de una gran variedad de frutos como la papaya, variedades de cítricos, aguacate, café, mango, uva, guanábana, tomate, fresa. Puede atacar raíz, tallo, hojas, flores y fruto; causando la enfermedad llamada «infección quiescente» (o infección latente), Antracnosis. Esta infección se presenta en estadios tempranos del desarrollo del fruto, pero la enfermedad aparece luego en etapas cercanas a la maduración³.

Otros reportes indican que algunas especies de *Colletotrichum* afectan cereales, pastos, legumbres y cultivos perennes⁴, identificándose para los cereales y pastos *C. Graminicola*, en las cucurbitáceas *C. lagenarium*, en frijol *C. Truncatum*; la pudrición del fruto de la berenjena y del tomate es producida por *C. phomoides*, en la caña de azúcar *C. falcatum*, y para el pimiento, espinaca, nabo, coliflor y carbón de la cebolla *C. circinans*³.

Ciclo de vida de las especies de *Colletotrichum*

La temperatura óptima de crecimiento y esporulación de *Colletotrichum gloesporioides* es de 26°C-32°C (23). Son extremadamente sensibles a la humedad relativa, requiriendo condiciones entre 99% y 100%⁷.

El ciclo de vida de las especies de *Colletotrichum* comprende una fase sexual y asexual. En términos generales la sexual proporciona la variabilidad genética, y el estadio asexual es el responsable de la dispersión del hongo⁸. El género *Colletotrichum* abarca numerosas

especies, y el criterio de clasificación está basado en la planta hospedera y sus características⁴.

Relaciones huésped- *Colletotrichum*

Los síntomas producidos por *Colletotrichum* en la planta, son lesiones precisas de 2-20mm de diámetro en estadios tempranos de la infección, en hojas jóvenes en la superficie adaxial y abaxial; algunas lesiones son café oscuras y otras negras; la infección se puede extender en toda la lámina y algunas veces se limita a las venas. Las lesiones grandes pueden necrosar el tejido⁷.

En la interacción parásito hospedero durante la iniciación del estadio temprano, se incluye la germinación de las esporas, la formación del apresorio, penetración y colonización⁹. En *Colletotrichum* la penetración al tejido del hospedero implica la formación de una estructura de infección especializada llamada apresorio¹⁰. El apresorio corresponde a una estructura plana, como un bulbo, que se forma cuando la hifa establece el contacto con la superficie e incrementa su diámetro, aumentando la zona de unión entre los dos organismos, lo cual permite que el patógeno se una con mayor firmeza a la planta³. El apresorio penetra al tejido del hospedero y a la pared celular de la epidermis de manera directa¹⁰.

Algunas especies de *Colletotrichum* hacen penetración indirecta en los tejidos a través de los estomas¹⁰. La importancia del apresorio en el proceso de la infección ha sido ilustrada en muchos estudios con mutantes deficientes en melanina e inhibidores de la biosíntesis de melanina^{11,12}. Las esporas fúngicas usan señales físicas o químicas de la superficie de la planta para desencadenar la germinación y diferencia-

ción del apresorio, el cual es necesario para el proceso de infección del hospedero¹³.

Formación del apresorio en *Colletotrichum gloesporioides*

Un aspecto en la interacción parásito-hospedero durante el estadio temprano de la iniciación de la enfermedad, incluye la formación de esporas, formación de apresorio, penetración y colonización temprana. Muchas especies del género *Colletotrichum* forman el apresorio como respuesta a señales físicas o químicas específicas de la hoja o de la superficie de la fruta¹³; éstas incluyen *Colletotrichum capsici*, *Colletotrichum trifolii*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Colletotrichum truncatum*, *Colletotrichum graminicola*, *Colletotrichum lagenarium*. Esto sugiere que componentes cuticulares son involucrados en el control de la diferenciación del hongo en la superficie¹³.

Diversos estudios revelan que las señales químicas de las superficie son necesarias para la formación del apresorio en muchos hongos¹⁴. La conidia de *C. gloesporioides* es inducida a la germinación y formación del apresorio por señales químicas incluyendo ceras de la superficie¹⁵ y la hormona de la maduración, el etileno¹⁶. Reportes indican que en frutos como el aguacate, la formación de las esporas y del apresorio de *C. gloesporioides*, puede ser desencadenada por las ceras de la superficie del fruto. Se sabe que alcoholes grasos con un número de átomos de carbono de C16 inducen poca actividad del apresorio, los de C18-C22 incrementan la actividad de la formación del apresorio y que los alcoholes grasos con cadena carbonada superior a C24 e inducen altos niveles de actividad. El alcohol de C32 es el de cadena más larga que se ha estudiado¹³.

El apresorio una vez formado produce la infección que permanece quiescente en las células epidérmicas de las células de las frutas, hasta que maduran y se ablandan durante el almacenamiento¹⁷.

Eventos moleculares en la señalización química del hospedero y en la formación del apresorio.

Los eventos moleculares que se desencadenan en la conidia por el contacto no son claros, sin embargo estos pueden ser estímulos que inducen a proteínas como la calmodulina en *Arabidopsis thaliana*¹⁸. El gen de la calmodulina en *Colletotrichum* fue clonado y resultó ser idéntico al de otros hongos^{19, 20}, estos contactos representan una comunicación temprana entre el hongo y el hospedero²¹ y parecen ser necesarios para la señalización química del hospedero y para establecer la germinación y formación del apresorio. La CaM (Calmodulina) y CaMK (Cinasa de la calmodulina), se involucran en la transducción de señales y probablemente desencadena la expresión de un grupo de genes iniciales en la respuesta de la conidia a las señales del hospedero²¹. La medición del transcrito CaM (Calmodulina) muestra que al contacto con la especie vegetal es inducida al máximo nivel después de dos horas del contacto, además este nivel se ve incrementado por el etileno²¹.

Recientemente se han reportado cuatro genes denominados genes chip, mediante clonaje y screening diferencial de librerías construidas por hibridación sustractiva^{22 y 23}. La alteración de uno de estos genes demostró disminución drástica de la virulencia en el hospedero²². Uno de los genes expresados únicamen-

te en *C. gloesporioides* durante la formación del apresorio ha sido denominado cap20. Por medio del clonaje de su cDNA y análisis de RT-PCR se pudo detectar el transcrito del gen de la superficie y el interior de tomates infectados con *Colletotrichum gloesporioides*. Mutantes evaluados con alteraciones en cap20 fueron incapaces de producir la proteína, lo cual originó una disminución drástica en el grado de virulencia por incapacidad de germinación y formación del apresorio¹⁴.

Colletotrichum Gloesporioides patógeno humano

Se han reportado algunas especies de *Colletotrichum* que causan infecciones humanas. Ante las dificultades de conocimiento in Vitro se ha desarrollado un test molecular basado en la identificación por amplificación de un fragmento específico para distinguir un aislado de *Colletotrichum* de otros hongos patógenos comunes⁴. El análisis de secuencia del DNA muestra variabilidad suficiente para separar claramente las 5 especies de *Colletotrichum* que son clínicamente interesantes⁴.

Se ha encontrado que los Coelomicetos pueden causar infecciones humanas en hospederos inmunosuprimidos o cuando la barrera epitelial se ha destruido. Se han reportado 11 géneros de Coelomicetos involucrados en infecciones humanas, de los cuales *Colletotrichum*, *Nattrasia* y *Phoma* son las más logradas.

Otras especies de *Colletotrichum* causantes de infecciones en humanos son: *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum crassipes*, *Colletotrichum dematium*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Colletotrichum graminicol*²⁴⁻²⁵, *Colletotrichum acutalum*²⁶. La infección predominante

es queratitis seguida de inflamación traumática, infecciones subcutáneas y sistémicas en pacientes inmunosuprimidos⁴. Se han reportado 3 casos de facohifomicosis causada por *Colletotrichum* en pacientes con quimioterapia por tumores malignos²⁴.

Estudios recientes han establecido la necesidad de comparar las características morfológicas y las secuencias de frag-

mentos específicos de la región ITS 1 (Internal Transcribed Spacer) de cepas referidas por importancia clínica, para determinar si existe suficiente variabilidad para su identificación a nivel de especie, haciendo uso para ello de las técnicas moleculares como herramientas que permitan una identificación más precisa, que podrán ser empleadas en diagnósticos de enfermedades causadas por hongos⁴.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Cenicafé. *Caracterización de los productos hortifrutícolas colombianos y establecimiento de las normas técnicas de calidad*. Abril de 2004
- 2 Cuellar, M. del C.. *Seguridad alimentaria en el consumo de frutas y hortalizas frescas*. Conferencia Revista Veterinaria de Salud Pública. Febrero de 2003
- 3 Cano J, Guarro J, Gené J. *Molecular and morphological identification of Colletotrichum species of clinical interest*. JCM. 2004 p 2450-2454.
- 4 Yeon -Ki Kim, et al. A Mitogen-Activated Protein Kinase Requirid for induction of cytokinesis and appressorium formation by host signals in the conidia of *Colletotrichum gloesporioides*. The Plant Cell 2000, Vol-12, 1331-1343.
- 5 Prasad N, Singh RD (1960). *Anthracnose disease of Dioscorea alata L*. Curr. Sci. 2:66-67.
- 6 Sing RD, Prasad N, Mathur RL (1996). *On the Taxonomy of the fungus causing anthracnose of Dioscorea alata L*. Indian Phytopathol. 19:65-71.
- 7 Abang M, Winter S, Mignouna H, Green K, Asiedu R. *Molecular taxonomic, epidemiological and population genetic approaches to understanding yam anthracnose disease*. AJB 2003. 2 (12): 486-496.
- 8 Ki Kim Y. et al. *Induction of Ca²⁺ calmodulin signal by Hard-surface contact Primer Colletotrichum gloesporioides conidia to germinate and appressoria*. Journal of Bacteriology. 1998, p. 5144-5150.
- 9 Chung K, Ker. 1999. *Germination and Appressorium in Colletotrichum gloesporioides*. PNAS. 23:126-132.
- 10 Guarro J., et al. *Subcutaneous Hyalohyphomycosis caused by Colletotrichum gloesporioides*. Journal of Clinical Microbiology, 1998, p. 3060-3065.
- 11 Wharton PM (1994). *The rol of fungal interactions in the epidemiology of yam anthracnose*. M.phil. thesis, Univ. of Reading, Reading, UK.
- 12 Kim K, Oh B, Yang J. *Diferential interaction of Colletotrichum gloesporioides isolate with green and red pepper fruits*. Phytoparasitica 1999. 27(2):1-10.
- 13 Buhr T, Dickman M. *Isolation, characterization, and expression of second B-Tubulin-Encoding gene from Colletotrichum gloesporioides f. sp. Aeschynomene*. ASM 1994, p. 4155-4159.
- 14 Yakoby Nir, et al. *Colletotrichum gloesporioides pelB is an important virulence factor*. American Phitopathological Society 2001, 14(8): 988-995.
- 15 Polidia, G. K., L. M. Rogers, and P.E. Kolattukudy. 1993. *Chemical signals from avocado surface wax trigger germination and appressorium formation in Colletotrichum gloesporioides*. Plant Physiol. 103:267-272.
- 16 Flaishman, M.A., and P. E. Kolattukundy. 1994. *Timing of fungal invasion using host's riping hormone as a signal*. PNAS. USA 91:6579-6583.
- 17 Wharton P.S. et al. *The biology of Colletotrichum acutatum*. Anales del Jardín Botánico de Madrid. 61(1):3-22.
- 18 Ennett, R.W., and D.G. Parbery. 1975. *Appressoria*. Annu. Rev. Phytopatho. 13:147-167.

- 19 Dickman, M.B., T.L. Buhr, V. Warwar, G.M. Truesdell, and C. X. Huang. 1995. *Molecular signals during the early stages of alfalfa anthracnose*. Cant. J. Bot.73(Suppl.1): S1169-S1177.
- 20 Mitchell, T.K., and R. A. Dean. 1995. *The cAMP-dependent protein Kinase catalytic subunit for appressorium formation and pathogenicity by the rice blast pathogen Magnaporthe grisea*. Plant Cell 7: 1869-1978.
- 21 Sutton, B. C. 1992. *The genus Glomerella and its anamorph Colletotrichum*, p. 1-26. In J. A. Bailey and M.J. Jeger (ed.), *Colletotrichum biology, pathology and control*. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- 22 Hwang, C.S., M. A. Flaishman, and P.E. Kolattukudy. 1995. *Cloning of a gene expressed during appressorium formation by Colletotrichum gloesporioides and a marked decrease in virulence by disruption of this gene*. Plant Cell 7:183-193.
- 23 Hwang, C.S., and P.E. Kolattukudy. 1995. *Isolation and characterization of genes expressed uniquely during appressorium formation by Colletotrichum gloesporioides conidia induced by the host surface wax*. Mol. Gen. Genet. 247:282-294.
- 24 Castro, L, G.M., C. da Silva Lacaz, J. Guarro, J. Gene, E, M. Heins-Vaeari. R.S. de Freitas Leite. G. L. Hernández Arriagada. M. M. Ozaki Regueria, E. Miki Ito, N.Y. Sakai Valiente, and R. S. Nunes. 2001. *Phaeohyphomycotic*.
- 25 De How, G.S., J. Gené, and M.J. Figueras. 2000. *Atlas of clinical fungi, 2nd ed.* Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
- 26 Manire, C. A., H. L. Rhinehart, D. A. Sutton, E. H. Thompson, M. G. Rinaldi, J. D. Buck, and E. Jacobson. 2002.