

Organisms associated with damage to post-harvest potato tubers

Organismos asociados a daños en tubérculos de papa en postcosecha

Clemente de Jesús García-Ávila, Gilda Abigail Valenzuela-Tirado, José Guadalupe Florencio-Anastasio, Isabel Ruiz-Galván, Magnolia Moreno-Velázquez, Bárbara Hernández-Macías, José Abel López-Buenfil, Daniel Bravo-Pérez, José Manuel Pineda-Ríos, Andrés Quezada-Salinas*, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Unidad Integral de Diagnóstico, Servicios y Constatación, Carretera Federal México-Pachuca Km 37.5, CP. 55740, Tecámac, Estado de México; Graciela Ávila-Quezada Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia y Ecología, CP. 31000, Chihuahua, México. *Autor para correspondencia: andresqs@colpos.mx.

Recibido: 09 de Enero, 2018.

Aceptado: 16 de Abril, 2018.

García-Ávila CJ, Valenzuela-Tirado GA, Florencio-Anastasio JG, Ruiz-Galván I, Moreno-Velázquez M, Hernández-Macías B, López-Buenfil JA, Bravo-Pérez D, Pineda-Ríos JM, Quezada-Salinas A, Ávila-Quezada G. 2018. Organisms associated with damage to post-harvest potato tubers. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36(2): 308-320.

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1801-1

Primera publicación DOI: 02 de Mayo, 2018.

First DOI publication: May 02, 2018.

Resumen. La papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los cultivos de mayor consumo humano a nivel mundial. El cultivo es amenazado desde sus inicios por distintos organismos; algunos de ellos ocasionan daños superficiales en los tubérculos, que reducen la calidad y apariencia lo que provoca el rechazo por el consumidor. De un total de 34 muestras de tubérculos de papa destinados para consumo humano, obtenidas mediante muestreo

Abstract. The potato (*Solanum tuberosum* L.) is one of the crops with the highest human consumption worldwide. The crop is threatened from its beginnings by different organisms; some of them cause superficial damage to the tubers, which reduce the quality and appearance and causes rejection by the consumer. Out of a total of 34 potato tuber samples destined for human consumption, obtained through directed visual sampling, at the Central de Abastos de Ecatepec, microorganisms associated with some physical damage or superficial alteration were identified; in addition, of atypical spots on the surface of tubers. Of the total samples, in the 50% were identified bacterial damages caused by *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas fluorescens* and *Streptomyces* sp. In the 41% were identified fungi and protozoa like *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. verticillioides*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Clonostachys* sp., *Geotrichum* sp., and *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*. 9% of the remaining samples, no organism related to the damage was identified.

visual dirigido, en la Central de Abastos de Ecatepec, se identificaron a los microorganismos asociados a algún daño físico o alteración superficial; además, de manchas atípicas en la superficie de tubérculos. Del total de las muestras en el 50% se identificaron a las bacterias *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas fluorescens* y *Streptomyces* sp. En el 41% se identificaron a hongos y protozoarios como *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. verticillioides*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Clonostachys* sp., *Geotrichum* sp., y *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*. Del 9% de las muestras restantes no se identificó ningún organismo relacionado al daño.

Palabras clave: *Solanum tuberosum*, microorganismos, hongos, bacterias.

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los cultivos más utilizados para el consumo humano a nivel mundial. De este tubérculo se producen 381 millones de toneladas anualmente en el mundo (FAO, 2014). En México ocupa el quinto lugar en importancia alimenticia, superado por el maíz, trigo, frijol y arroz. Del total de la producción nacional, el 56% se destina para consumo en fresco, 29% para la industria y el 15% como semilla (Mora-Aguilar, 2014). A nivel mundial, se han reportado alrededor de 70 enfermedades y desordenes fisiológicos que afectan a este cultivo y causan severos daños especialmente en los tubérculos (Herrera y Scott, 1993; Stevenson, 2001). Entre los síntomas de las enfermedades que afectan tubérculos se identifican agallas, manchas y pudriciones (Fiers *et al.*, 2012), principalmente; estos pueden ser ocasionados por hongos, bacterias, nematodos y virus. Asimismo, existen otros factores que además de la apariencia física, demeritan la calidad de los tubérculos provocando el rechazo por el consumidor; sin embar-

Key words: *Solanum tuberosum*, microorganisms, fungi, bacteria.

The potato (*Solanum tuberosum* L.) is one of the crops with the highest human consumption worldwide. Every year, 381 million tons of this crop are produced worldwide (FAO, 2014). In Mexico, it is number five in terms of food importance, after maize, wheat, beans and rice. Out of the total of the country's production, 56% is used for consuming fresh, 29% for industrial use, and 15%, as a seed (Mora-Aguilar, 2014). Worldwide, roughly 70 diseases and physiological disorders have been reported to affect this crop and cause severe damages, particularly in tubers (Herrera and Scott, 1993; Stevenson, 2001). Some of the main symptoms of the diseases that affect tubers are root nodules, spots, and rotting (Fiers *et al.*, 2012), which may be caused by fungi, bacteria, nematodes and viruses. There are also other factors that, aside from the physical appearance, can downgrade the quality of the tubers, leading to rejection from consumers; however, Fiers *et al.* (2010) mentioned that surface spots only affect the epidermis of the tubers, and do not alter their taste or nutritional properties (Jemison *et al.*, 2008; Vázquez-Carrillo *et al.*, 2013). Some of these surface alterations that affect the peridermis of the tubers are a result of the presence of pathogens such as *Colletotrichum coccodes*, *Helminthosporium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Spongospora* f. sp. *subterranea* and *Streptomyces* spp., as well as, in many cases, a means of entry for opportunist microorganisms that lead to the rotting of tubers. Fungi species such as *Fusarium* sp. frequently damage relevant damages to tubers on fields and in storage worldwide; in the latter, it may affect up to 60% of the production (Boyd, 1972). Other conditions may also appear that lead to poor quality and appearance. They may

go, Fiers *et al.*, (2010) mencionó que las manchas superficiales afectan solamente la epidermis de los tubérculos, sin alterar su sabor y propiedades nutricionales (Jemison *et al.*, 2008; Vázquez-Carrillo *et al.*, 2013). Algunas de estas alteraciones superficiales que afectan la peridermis de los tubérculos son el resultado de la presencia de patógenos como *Colletotrichum coccodes*, *Helminthosporium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Spongospora* f. sp *subterranea* y *Streptomyces* spp.; además, de ser en muchos casos vía de entrada para otros microorganismos oportunistas que conducen a la pudrición de tubérculos. Especies de hongos como *Fusarium* sp., con frecuencia causan daños relevantes a nivel mundial en tubérculos que se encuentran en campo y almacenamiento, en esta última puede llegar a afectar hasta el 60% de la producción (Boyd, 1972). También se pueden presentar otras condiciones que provocan la mala calidad y apariencia, estas pueden ser debidas a daños mecánicos, por insectos, factores abióticos como la humedad y temperatura, el uso de productos químicos, deficiencias nutritivas, y otros daños que se desconocen sus causas, conocidos como manchas atípicas (Friedmans, 1960; Stevenson *et al.*, 2001; Fiers, 2010; Naerstad *et al.*, 2012). Por otra parte, las bacterias y hongos que ocasionan pudriciones o daños más severos en la peridermis de tubérculos, producen una amplia gama de enzimas como pectinasas, celulasas, xilanasas y proteasas, responsables de la maceración del tejido y muerte celular (Olivieri *et al.*, 2004). Los síntomas incluyen ya sea pudriciones secas o blandas, decoloración del tubérculo y pudrición anular, y son debidas a diversos hongos como *Fusarium* spp., *Verticillium* spp.; bacterias, como *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*, *Ralstonia solanacearum*, entre otras (de Haan *et al.*, 2008; Czajkowski *et al.*, 2011; Fiers *et al.*, 2012; Gashgari and Gherbawy, 2013). Debido a

be due to mechanical damages, insects, abiotic factors such as humidity and temperature, the use of chemical products, nutritional deficiencies, and other damages of unknown causes, known as atypical spots (Friedmans, 1960; Stevenson *et al.*, 2001; Fiers, 2010; Naerstad *et al.*, 2012). On the other hand, the bacteria and fungi that cause rotting or more severe damage to the peridermis of tubers produce a wide range of enzymes such as pectinases, cellulases, xylanases and proteases, responsible for the maceration of tissues and cell death (Olivieri *et al.*, 2004). Symptoms include dry or soft rotting, discoloring of the tuber and annular rotting, and they are caused by fungi such as *Fusarium* spp., *Verticillium* spp.; bacteria such as *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*, *Ralstonia solanacearum*, and others (de Haan *et al.*, 2008; Czajkowski *et al.*, 2011; Fiers *et al.*, 2012; Gashgari and Gherbawy, 2013). Due to the above, the aim of this study was to identify the microorganisms related to the symptoms and damages potato tubers in postharvest, produced for human consumption which can be found in commercial places, such as the Central de Abastos of Ecatepec.

Sampling. Potato tubers destined for human consumption were collected in August, 2017, from the Central de Abastos de Ecatepec, State of Mexico. For this, samples were taken, aimed at those that displayed some physical damage or superficial alteration, as well as atypical spots. Each tuber was wrapped in a paper towel and placed inside polyethylene bags. They were then transported to the Mycology and Bacteriology Lab of the National Plant Health Reference Center. They were classified according to the symptoms and/or typical damages caused by the presence of fungi, bacteria or insects, such as necrosis, dry rotting,

lo anterior, el objetivo de este estudio fue identificar a los microorganismos asociados a síntomas y daños en postcosecha de tubérculos de papa destinados para consumo humano que se pueden encontrar en sitios comerciales, como la Central de Abastos de Ecatepec.

Muestreo. Se recolectaron tubérculos de papa en agosto de 2017 destinados para consumo humano en la central de abastos de Ecatepec, Estado de México, para esto se realizó un muestreo dirigido a aquellos que presentaban algún daño físico o alternación superficial, además de manchas atípicas, cada tubérculo se envolvió en papel absorbente y depositados en bolsas de polietileno, inmediatamente fueron transportadas al laboratorio de Micología y Bacteriología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, se clasificaron de acuerdo a los síntomas y/o daños típicos por la presencia de hongos, bacterias o insectos, como necrosis, pudriciones, pudriciones secas, manchas, lesiones corchosas, costras negras, obteniendo un total de 34 muestras, las cuales fueron procesadas el mismo día para su diagnóstico.

Aislamiento de hongos. De cada muestra sospechosa para hongos y bacterias se tomaron fotografías de los síntomas o daños. Posteriormente, de manchas en tubérculos y de la transición de tejido sano-enfermo se tomaron secciones de 1 cm², se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 1% durante 1 minuto, se lavaron con tres cambios de agua destilada estéril por tres minutos cada uno y secaron en papel absorbente estéril, posteriormente se colocaron sobre medio PDA (agar-papa-dextrosa) contenido en cajas Petri de 90 x 15 mm. Por otra parte, para propiciar el desarrollo de microorganismos sobre el tubérculo, se realizaron cámaras húmedas de cada tubérculo y síntoma sembrado en PDA, se tomaron dos muestras de cada tubérculo

spots, corklike lesions, black scabs, obtaining a total of 34 samples, which were processed on the same day for their diagnosis.

Isolation of fungi. Photographs were taken of symptoms or damages from each sample suspected of having fungi and bacteria. Later, 1 cm² sections were taken from the stains in tubers and the transition from healthy to diseased tissue. They were disinfected with 4% sodium hypochlorite for 1 minute, washed three times with distilled water for 3 minutes each, and dried using sterilized paper towels. They were then placed in a PDA (potato-dextrose-agar) medium in 90 x 15 mm Petri-dishes. On the other hand, in order to promote the growth of microorganisms on the tuber, humidity chambers were performed for each tuber and symptom planted in PDA, two samples were taken from each tuber, and they were disinfested following the method described above. In both cases, incubation was performed at a temperature of 22±2 °C and a photoperiod of 12 hours. After five days, from the dishes that presented fungal culture, we performed monospore culture growth in new dishes with PDA. The identification was carried out using taxonomical codes and morphometric characteristics (Sneh *et al.*, 1991; Barnett and Hunter, 2006; Leslie and Summerell, 2006; Seifert and Gams, 2011).

In the case of tubers with symptoms of pustules and root nodules suspected to have been caused by *Spongospora subterranea*, the present structures were observed under the microscope, histological cuts were made, and permanent preparations were made for the identification of *S. subterranea* using taxonomic codes. To confirm the presence of *Spongospora subterranea* f sp. *subterranea* a PCR test was carried out using specific Sos1 (5'-CCTGGGTGC-GATTGTCTGTT-3') and Sps2 (5'-CACGCCAATGGTTAGA-GACG-3') primers reported by Bell *et al.* (1999).

y se desinfectaron siguiendo la metodología antes mencionada. En ambos casos la incubación se realizó a una temperatura de 22 ± 2 °C y fotoperíodo de 12 horas. Después de cinco días, de las cajas que presentaron desarrollo de colonias fúngicas, se realizaron cultivos monospóricos en nuevas cajas con PDA. La identificación se realizó mediante claves taxonómicas, y características morfométricas (Sneh *et al.*, 1991; Barnett y Hunter, 2006; Leslie y Summerell, 2006; Seifert y Gams, 2011).

En el caso de tubérculos con síntomas de pústulas y agallas sospechosas a las causadas por *Spongospora subterranea*, se observaron las estructuras presentes bajo el microscopio, se realizaron cortes histológicos y se elaboraron preparaciones permanentes para la identificación de *S. subterranea* mediante claves taxonómicas. Para confirmar la presencia de *Spongospora subterranea* f sp. *subterranea* se realizó una prueba de PCR utilizando iniciadores específicos Sos1 (5'-CCTGGGTGC-GATTGTCTGTT-3') y Sps2 (5'-CACGCCAAT-GGTTAGA-GACG-3') reportados por Bell *et al.* (1999).

Aislamiento de bacterias. Para realizar la identificación de bacterias se utilizaron tubérculos ya sea con presencia de pudrición o necrosis. Bajo la misma metodología descrita para el aislamiento de hongos se obtuvo las cepas bacterianas en medio B de King; de cada una se realizaron pruebas bioquímicas, mediante técnicas serológicas y enzimáticas (ELISA) (Schaad *et al.*, 2001); además, de pruebas de patogenicidad en tubérculos de papa (Goszczyńska *et al.*, 2000).

Del total de las muestras analizadas el 50% resultó positivo a bacterias, el 41% a hongos y del 9% no se identificó ningún organismo relacionado al daño. En lo que respecta a hongos, se identificó a: *Fusarium* sp. (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. ver-*

Isolation of bacteria. In order to identify bacteria, tubers were used with signs of either rotting or necrosis. Using the same methodology described by the isolation of fungus, we obtained the bacterial strains in King's B agar; biochemical tests were run on each one, using serological and enzyme techniques (ELISA) (Schaad *et al.*, 2001), as well as pathogenicity tests in potato tubers (Goszczyńska *et al.*, 2000).

Out of the total samples analyzed, 50% tested positive for bacteria, 41% for fungi, and 9% tested negative for any organism related to the damage. In regard to fungi, we identified: *Fusarium* sp. (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. verticillioide*s), *Rhizoctonia solani*, *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Clonostachys* sp., *Geotrichum* sp., and the protozoa *Spongospora subterranea* f sp. *subterranea* (Figures 1 and 2). The species *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, have been related previously to the colonization of the surfaces of tubers (Fiers *et al.*, 2010; Naerstad *et al.*, 2012; Gherbawy and Gashgari, 2013; Zimudzi *et al.*, 2017).

On the other hand, in the tubers that displayed symptoms of necrosis or rotting, we identified *Enterobacter aerogenes* and *Pseudomonas fluorescens* (Figure 3). Likewise, the bacteria *Streptomyces* sp., was found in 11.7% of the tubers and only defined at the genus level. This bacteria is very commonly reported in potato tubers, and produces severe symptoms such as irregular, brown corklike lesions, or lesions in polyhedral shapes that can connect and give the tuber a poor appearance and quality (Fiers, 2010; Fiers *et al.*, 2010).

Potato tubers can display different surface damages that downgrade their commercial value. Some are caused by pathogens or insects, or by abiotic factors or another series of alterations of unknown causes, that is, physiological disorders.

ticillioides), *Rhizoctonia solani*, *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Clonostachys* sp., *Geotrichum* sp., y al protozooario *Spongospora subterranea* f sp. *subterranea* (Figura 1 y 2). Las especies del *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, han sido asociadas anteriormente a colonizar la superficie de los tubérculos (Fiers *et al.*, 2010; Naerstad *et al.*, 2012; Gherbawy y Gashgari, 2013; Zimudzi *et al.*, 2017).

Por otra parte, de los tubérculos que presentaron síntomas de necrosis o pudrición, se identificó a *Enterobacter aerogenes* y *Pseudomonas fluorescens* (Figura 3). Así también, en el 11.7% de los

Fiers *et al.* (2010), reported *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Clonostachys* spp. as the most common genera that colonize the surface of potato tubers in storage conditions. Likewise, Gherbawy and Gashgari (2013), identified *Fusarium*, *Penicillium*, *Ilyonectria*, *Alternaria*, and *Rhizoctonia*, in a study, as the most common genera isolated in different types of symptoms in potato tuber spots. On the other hand, Naerstad *et al.* (2012) pointed out that the pathogens that most commonly produce spots in tubers, and reduce yield and quality, are *Rhizoctonia solani*, *Spongospora subterranea*

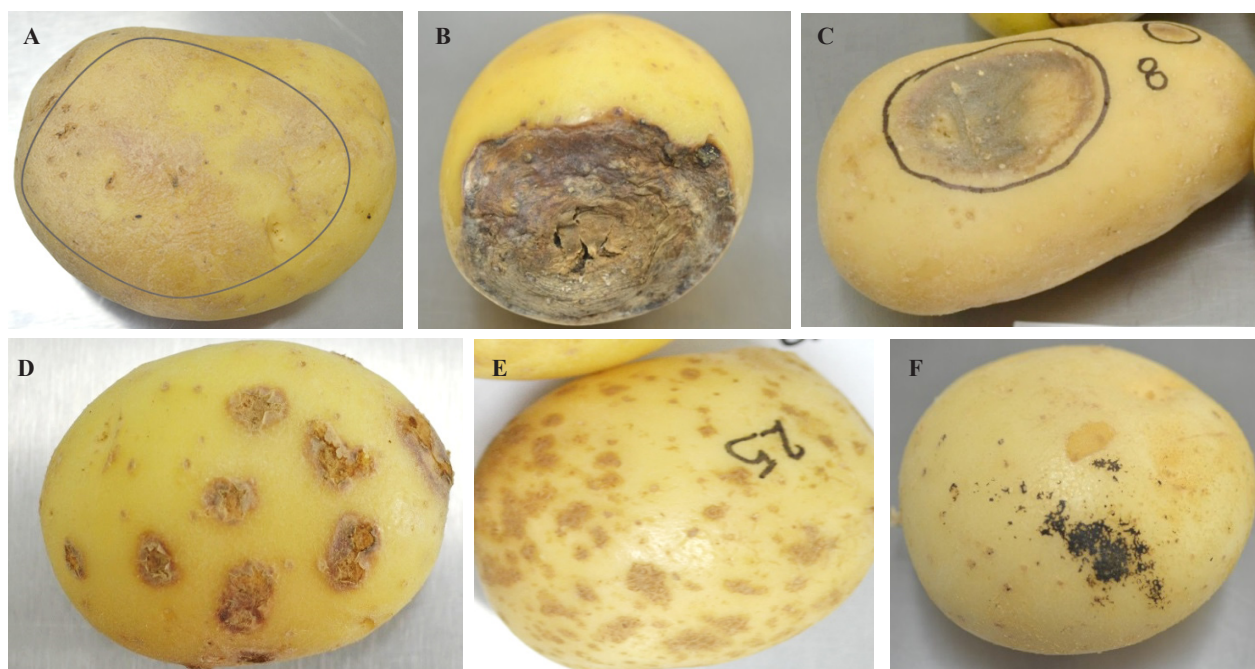


Figura 1. A) Tubérculos de papa con manchas oscuras superficiales, relacionadas a *Clonostachys* sp. y *Colletotrichum* sp. B) Pudriciones secas, donde se identificaron los hongos *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Alternaria* sp., y *Geotrichum* sp. C) Hundimiento del corazón del tubérculo. D) Pústulas o costras circulares sobre la superficie del tubérculo características debidas a *Spongospora subterranea*. E) Manchas o lesiones corchosas en forma de figuras poliédricas, daños característicos de *Streptomyces* sp. F) Costras negras, duras similar a la tierra, que son esclerocios que forma *Rhizoctonia solani* sobre la peridermis del tubérculo.

Figure 1. A) Potato tubers with dark surface spots related to *Clonostachys* sp. and *Colletotrichum* sp. B) Dry rotting, where the fungi *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Alternaria* sp., and *Geotrichum* sp. were identified. C) Sinking of the heart of the tuber. D) Pustules or circular scabs on the surface of the tuber, characteristics caused by *Spongospora subterranea*. E) Spots or corklike lesions in polyhedral shapes, damages characteristically caused by *Streptomyces* sp. F) Hard, black scabs, similar to soil, that are sclerotia formed by *Rhizoctonia solani* on the periderm of the tuber.

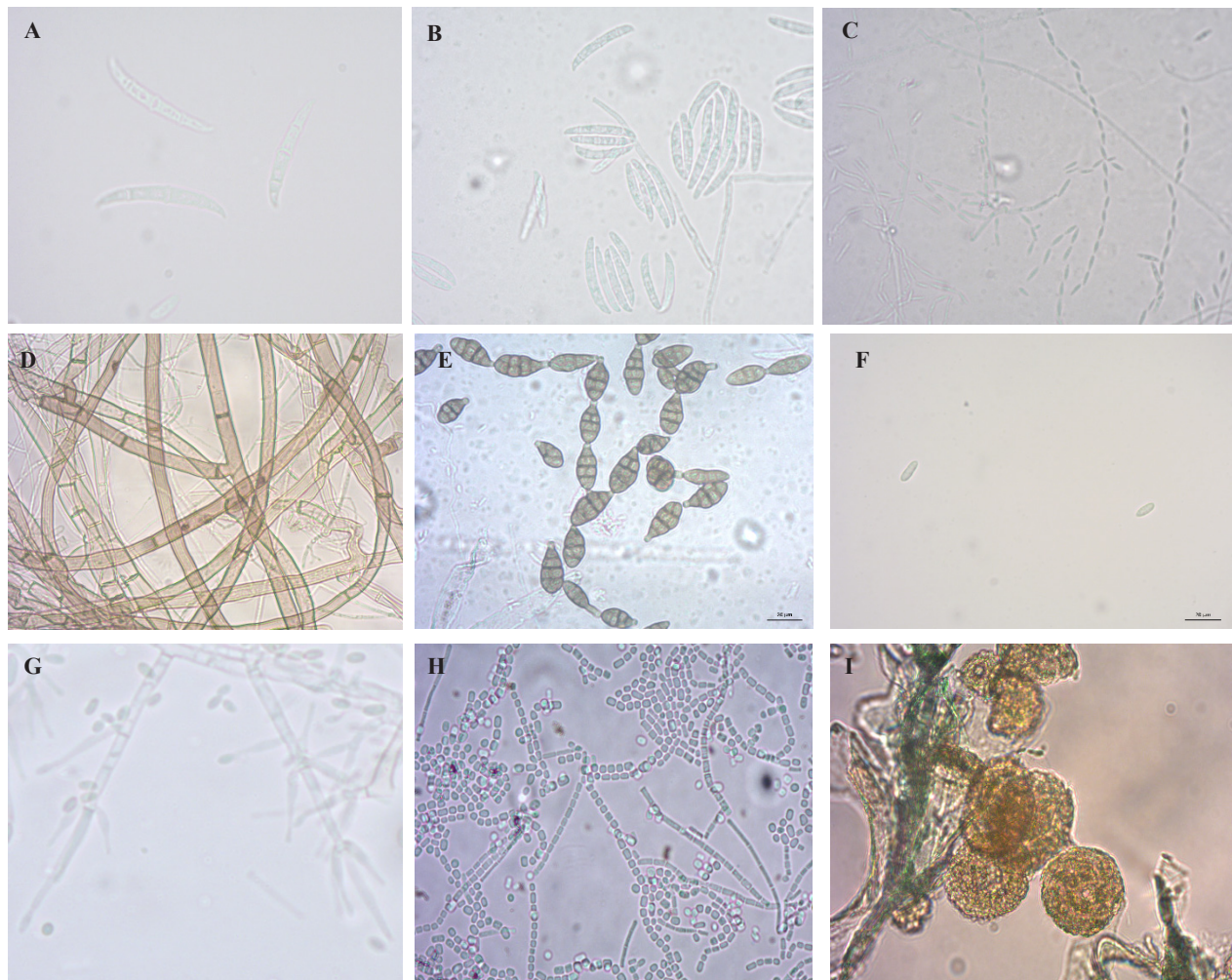


Figura 2. Microorganismos (hongos y protozoa) aislados de tubérculos de papa. A) Macroconidios de *Fusarium oxysporum*. B) Macroconidios de *Fusarium solani*. C) Conidios en cadena de *Fusarium verticillioides*. D) Hifas de *Rhizoctonia solani*. E) Conidios de *Alternaria* sp. F) Conidios de *Colletotrichum* sp. G) Fíalides y conidios de *Clonostachys* sp. H) Artroconidios de *Geotrichum* sp. I) Esporosorios de *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*
Figure 2. Microorganisms (fungi and protozoa) isolated from potato tubers. A) *Fusarium oxysporum* macroconidia. B) *Fusarium solani* macroconidia. C) *Fusarium verticillioides* chain conidia. D) *Rhizoctonia solani* hyphae. E) *Alternaria* sp., conidia. F) *Colletotrichum* sp., conidia. G) *Clonostachys* sp., phialides and conidia. H) *Geotrichum* sp., arthroconidia I) *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* sporosori.

tubérculos se identificó a la bacteria *Streptomyces* sp., la cual, solo se determinó a nivel de género. Esta bacteria es muy común reportada en tubérculos de papa, que ocasionando severos síntomas como lesiones corchosas irregulares de color marrón, o lesiones en forma poliédrica que pueden llegar a unirse y proporcionan una mala apariencia y calidad (Fiers, 2010; Fiers *et al.*, 2010).

f. sp. *subterranea*, *Helminthosporium solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium* sp. and *Streptomyces* sp. Regarding *Fusarium* sp., the results obtained in this investigation coincide with reports from earlier studies, since it was identified as being one of the genera most frequently isolated from the peridermis of potato tubers (Chelkowski, 1989; Fiers *et al.*, 2010; Gherbawy and Gashgari,

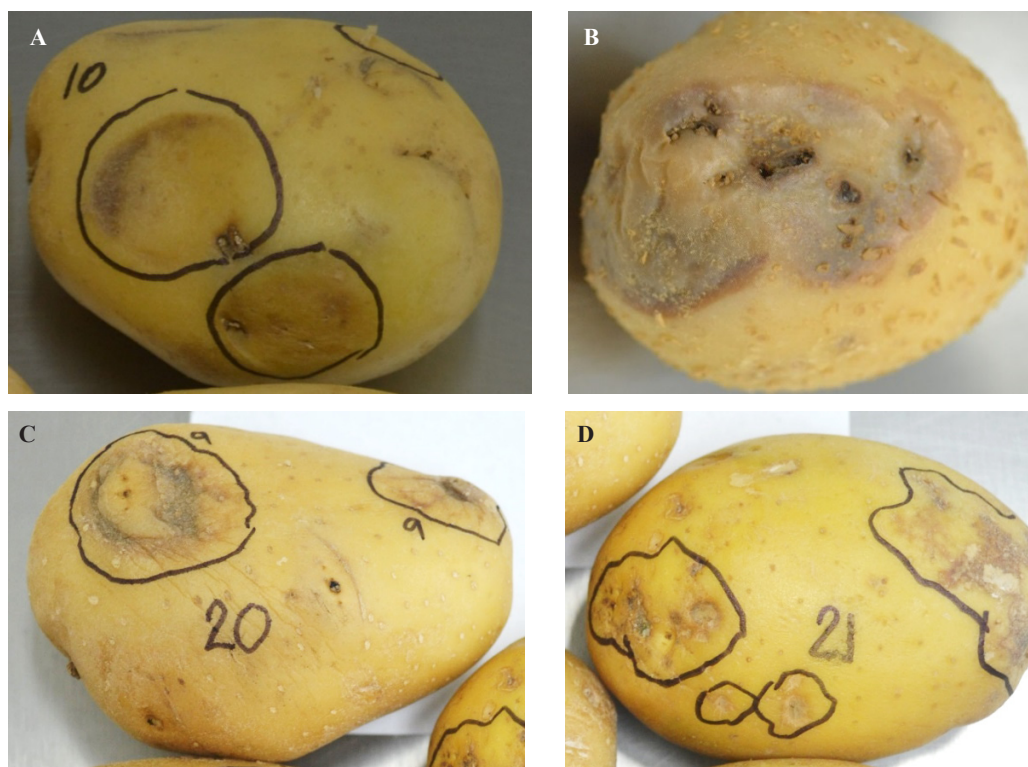


Figura 3. Tubérculos de papa con síntomas de necrosis en la peridermis del tubérculo, en todos los casos se aislo e identificó a las bacterias *Enterobacter aerogenes* y *Pseudomonas fluorescens*.

Figure 3. Potato tubers with symptoms of necrosis in the peridermis of the tuber; in all cases, the bacteria *Enterobacter aerogenes* and *Pseudomonas fluorescens* were identified.

En tubérculos de papa se pueden presentar diferentes daños superficiales que demeritan su valor comercial. Algunos son causados por patógenos o por insectos, o por factores abióticos y otra serie de alteraciones que se desconocen sus causas, es decir, desórdenes fisiológicos. Fiers *et al.* (2010), reportó a *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Clonostachys* spp., como los géneros más comunes que colonizan la superficie de tubérculos de papa en condiciones de almacenamiento. De igual forma, Gherbawy y Gashgari (2013), en un estudio realizado identificaron a *Fusarium*, *Penicillium*, *Ilyonectria*, *Alternaria*, y *Rhizoctonia*, como los géneros más comunes aislados en diferentes tipos de síntomas de manchas

2013; Zimundzi *et al.*, 2017) and the species *F. oxysporum* has been isolated from most of the cultivars studied (Manici and Cerato, 1994; Zimundzi *et al.*, 2017). Apart from *Fusarium* spp., other fungi were found to colonize the same spots of the tubers, such as *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Clonostachys* sp., *Rhizoctonia solani*, and *Geotrichum* sp. The latter has not been reported to colonize or cause damages to the crop or potato tubers, but is found throughout the soil, although only one specie is important as a pathogenic agent: *Geotrichum candidum*, a specie that has been reported as the causaling agent of bitter rotting in post-harvest citrus fruits (Brown 1988; López-García *et al.*, 2003; Talibi *et al.*, 2012), as

en tubérculos de papa. Por su parte, Naerstad *et al.* (2012), señalaron que los patógenos más comunes que ocasiona manchas en tubérculos, reducen el rendimiento y calidad son: *Rhizoctonia solani*, *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*, *Helminthosporium solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium* sp. y *Streptomyces* sp. En cuanto a *Fusarium* sp., los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con los reportados en estudios previos ya que este se identificó como uno de los géneros más frecuentemente aislado en la peridermis de tubérculos de papa (Chelkowski, 1989; Fiers *et al.*, 2010; Gherbawy y Gashgari, 2013; Zimundzi *et al.*, 2017) y la especie *F. oxysporum* se ha aislado de la mayoría de los cultivares estudiados (Manici y Cerato, 1994; Zimundzi *et al.*, 2017). Además, de *Fusarium* spp, se identificó a otros hongos colonizando las mismas manchas de los tubérculos, como *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Clonostachys* sp., *Rhizoctonia solani*, y *Geotrichum* sp., este último no se ha reportado colonizando u ocasionando daños en el cultivo o tubérculos de papa, se encuentra cosmopolitamente en el suelo, pero solo una especie es importante como agente patogénico, *Geotrichum candidum*, especie que se ha reportado como el agente causal de la pudrición amarga de los cítricos en postcosecha (Brown 1988; López-García *et al.*, 2003; Talibi *et al.*, 2012); además, de pudriciones blandas en postcosecha en fresa (Fraire-Cordero *et al.*, 2003) y otros cultivos; por lo que se recomienda realizar estudios subsecuentes para poder determinar su condición patogénica. En el caso de tubérculos de papa, no se ha asociado como agente patogénico, y podría considerarse como contaminante en la superficie de los tubérculos de papa en postcosecha o como supresor de los microorganismos patogénicos en este estudio.

Los diferentes géneros y especies de hongos que se han identificado colonizando la superficie de la peridermis de tubérculos de papa; además de

well as soft rottings in post-harvest strawberry (Fraire-Cordero *et al.*, 2003) and other crops, and therefore, further studies are recommended in order to determine their pathogenic condition. In the case of potato tubers, it has not been related as a pathogenic agent, and could be considered as a pollutant on the surface of the potato tubers in post-harvest or as a suppressor of the pathogenic microorganisms in this study.

The different genera and species of fungi that have been identified as colonizing the surface of the periderm of potato tubers, not only have a pathogenic behavior on the crop, but some genera may have an antagonistic behavior with pathogenic organisms, which have been evaluated to determine their potential as biocontrol agents. The fungus *Clonostachys* spp., known for its antifungal capability and mycoparasitic action against pathogens, produces a wide range of volatile organic compounds. Studies show that *Clonostachys* sp. presents antibiosis and an effective colonization of the lesions caused by mechanical damages, avoiding the entry of pathogenic agents (Gan *et al.*, 2007; Assefa, 2013), and limiting the growth of other organisms in the potato tuber (Gan *et al.*, 2007). On the other hand, the species *Gliocladium roseum* (anamorph: *Clonostachys rosea*) has been reported as a pathogen in potato and a causing agent of dry rotting (Theron, 1991).

Danyluk *et al.* (2013), pointed out that the microbiota that dominates in freshly-harvested orchards is composed of bacteria *Enterobacter*, *Bacillus* spp., *Pantoea* spp., *Cyanobacterium*, *Erwinia* spp., *Pectobacterium* and *Pseudomonas*, resulting from contact with the soil, air and water. In the areas damaged by necrosis or rotting in some of the tubers collected in this investigation, bacteria were identified and we found a marked delimitation that stopped the rot from advancing, which may suggest that the antagonistic bacteria identified

tener un comportamiento patogénico en el cultivo, existen algunos géneros que pueden tener un comportamiento antagónico con organismos patógenos, los cuales se han evaluado para determinar su potencial como agentes de biocontrol. El hongo *Clonostachys* spp., conocido por su capacidad antifúngica, y acción micoparasítica contra patógenos, produce una amplia variedad de compuestos orgánicos volátiles. Estudios demuestran que *Clonostachys* sp., presenta antibiosis y una efectiva colonización de las heridas ocasionadas por daños mecánicos, protegiendo de la entrada de agentes patogénicos (Gan *et al.*, 2007; Assefa, 2013), y limitando el crecimiento de otros organismos en el tubérculo de papa (Gan *et al.*, 2007). Por otro lado, la especie *Gliocladium roseum* (anamorfo: *Clonostachys rosea*) se ha reportado como patógeno en cultivos de papa y agente causal de pudriciones secas (Theron, 1991).

Danyluk *et al.* (2013), señalaron que la microbiota dominante sobre hortalizas recién cosechadas está constituida por bacterias *Enterobacter*, *Bacillus* spp., *Pantoea* spp., *Cyanobacterium*, *Erwinia* spp., *Pectobacterium* y *Pseudomonas*, provenientes del contacto con el suelo, agua y aire. En las áreas dañadas por necrosis o pudrición en algunos de los tubérculos colectados en este trabajo, se identificaron bacterias, se observó una delimitación marcada que detuvo el avance de la pudrición, lo que puede sugerir que las bacterias antagonistas identificadas *Enterobacter aerogenes* y *Pseudomonas fluorescens* impidieron el crecimiento necrotrófico de algún agente patogénico que estuviera colonizando el tubérculo. El-Ghaouth *et al.* (1998) mencionaron que estos organismos no causan algún daño al estar en contacto con el tejido vegetal. Cabe señalar que se han reportado a distintas especies de *Enterobacter* spp., y *Pseudomonas fluorescens* como agentes de biocontrol debido a que pueden suprimir enfermedades como la pudrición seca en tubérculos de

as *Enterobacter aerogenes* and *Pseudomonas fluorescens* stopped the necrotrophic growth of a pathogenic agent that may have been colonizing the tuber. El-Ghaouth *et al.* (1998) mentioned that these organisms cause no damage when in contact with plant tissues. It is worth pointing out that different species of *Enterobacter* spp. and *Pseudomonas fluorescens* have been reported as biocontrol agents, since they can cure diseases such as dry rotting in potato tubers, caused by *Fusarium* spp., by producing different antifungal metabolites (Schisler, 1994), and can also reduce the severity of the disease by up to 25% (Chelkowski, 1989; Schisler *et al.*, 1995; Schisler *et al.*, 2000). *Pseudomonas fluorescens* was also reported as a biocontrol agent for bacteria such as *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, since it produces the antimicrobial component 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), which inhibits the growth of this bacteria in *in vitro* conditions (Cronin *et al.*, 1997).

In 9% of the samples analyzed, no clear relation was established between a microorganism and the damages or symptoms in the tuber; symptoms were identified as brown cavings in the center of the tuber. The main causes of the physiological disorders are a response of the plant to stress, including inadequate cultural practices during planting, including the choice of susceptible cultivars, handling and storage, extreme temperatures, soil pH, humidity levels, and inadequate levels of nutrients (Fiers, 2010; Mikitzel, 2014). Zotarelli *et al.* (2013), mention that the leaching of nutrients such as nitrate lead to nutritional stress in the plant, leading to physiological alterations, such as the brown center, hollow heart, necrosis due to internal heat, cracking, and others.

The aim of this study was to identify the organisms related to damage in potato tubers. In conclusion, we found a diversity of pathogenic microorganisms colonizing one same tuber, as well

papa, ocasionada por *Fusarium* spp., al producir diferentes metabolitos antifúngicos (Schisler, 1994); además, puede reducir la severidad de la enfermedad hasta un 25% (Chelkowski, 1989; Schisler *et al.*, 1995; Schisler *et al.*, 2000). *Pseudomonas fluorescens* también se reportó como agente de biocontrol de bacterias como *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* al producir el componente antimicrobiano 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) que inhibe el crecimiento de esta bacteria en condiciones in vitro (Cronin *et al.*, 1997).

En el 9% de las muestras analizadas, no se estableció una relación clara entre un microorganismo con los daños o síntomas en el tubérculo, los síntomas se identificaron como hundimientos en el centro del tubérculo de color marrón. Las principales causas de los desórdenes fisiológicos son una respuesta de la planta a estrés, estos incluyen prácticas culturales inadecuadas durante el cultivo, incluida la elección de los cultivares susceptibles, la manipulación o almacenamiento, temperaturas extremas, el pH del suelo, niveles de humedad y niveles de nutrientes inadecuados (Fiers, 2010; Mitzel, 2014). Zotarelli *et al.* (2013), mencionaron que debido a la lixiviación de nutrientes como el nitrato conduce a un estrés nutricional de la planta, lo que da lugar a alteraciones fisiológicas, como son el centro marrón, corazón hueco, necrosis por el calor interno, agrietamiento, entre otros.

El objetivo de este estudio fue identificar los organismos asociados a daños en tubérculos de papa. En conclusión, se encontró una diversidad de microorganismos patógenos colonizando un mismo tubérculo; además de distintas bacterias conocidas por ser antagónicas de microorganismos patógenos. En este estudio el hongo *Alternaria* sp., se aisló con mayor frecuencia en los tubérculos colectados. Se encontraron asociados de manera consistente ya sea síntomas de necrosis o pudriciones, o ambos a las bacterias antagónicas *Enterobacter aerogenes* y

as different bacteria known for being antagonistic of pathogenic microorganisms. In this study, the fungus *Alternaria* sp. was isolated more frequently in the tubers collected. Symptoms of either necrosis or rotting, or both, were found to be consistently associated to the antagonistic bacteria *Enterobacter aerogenes* and *Pseudomonas fluorescens*, limiting the advancement of the necrosis in the potato tuber tissue. However, further research is required to understand the interaction of these organisms on the surface of potato tubers.

~~~~~ End of the English version ~~~~~

*Pseudomonas fluorescens*, limitando el avance de la necrosis en el tejido del tubérculo de papa; sin embargo, se requiere más investigación para conocer la interacción de estos organismos en la superficie de los tubérculos de papa.

## LITERATURA CITADA

- Assefa JT. 2013. Postharvest Biological control of *Fusarium* dry-rot diseases in potato tubers using *Clonostachys rosea* strain IK726. Disponible en línea: [https://stud.epsilon.slu.se/5248/12/assefa-jima\\_t\\_130130.pdf](https://stud.epsilon.slu.se/5248/12/assefa-jima_t_130130.pdf) (consulta, octubre 2017).
- Barnett HL and Hunter BB. 2006. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, 4th. (Ed.), APS Press. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 218p.
- Bell KS, Roberts J, Verrall S, Cullen DW, Williams NA, Harrison JG and Claxton JR. 1999. Detection and quantification of *Spongopora subterranea* f. sp. *subterranea* in soils and on tubers using specific PCR primers. European Journal of Plant Pathology 105:905-915. <https://doi.org/10.1023/A:1008782309333>
- Boyd AEW. 1972. Potato storage diseases. Review of Plant Pathology 51:297-321. Disponible en línea: <https://www.cabi.org/isc/FullTextPDF/2006/20063049509.pdf>
- Brown GE. 1988. Efficacy of guazatine and iminoctadine for control of postharvest decays of oranges. Plant Disease 72:906-908. Disponible en línea: [https://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1988Articles/PlantDisease72n10\\_906.PDF](https://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1988Articles/PlantDisease72n10_906.PDF)
- Chelkowski J. 1989. Toxinogenic of *Fusarium* species causing dry rot of potato tubers. Pp 435-440. In: Chelkowski J. (ed.). *Fusarium: Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity*. Elsevier Publishing Company, New York, USA. 492 p. <https://doi.org/10.1002/food.19900340624>

- Cronin D, Moënné-Loccoz Y, Fenton A, Dunne C, Dowling DN and O'gara F. 1997. Ecological interaction of a biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain producing 2, 4-diacetylphloroglucinol with the soft rot potato pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. FEMS Microbiology Ecology 23:95-106. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1997.tb00394.x>
- Czajkowski R, Perombelon MC, van Veen JA and van der Wolf JM. 2011. Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: a review. Plant pathology 60:999-1013. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02470.x>
- Danyluk MD, Fatica MK, Brar PK, McEgan R, Valadez AM, Schneider KR and Trinetta V. 2013. Fruits and Vegetables. Chapter 50. In: Salfinger Y and Tortorello ML. (Eds.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 5th edition. American Public Health Association (APHA Press). Washington, D.C. USA. 515,533,561pp. <https://doi.org/10.2105/MBEF.0222.055>
- El-Ghaouth A, Wilson CL and Wisniewski M. 1998. Ultrastructural and cytochemical aspects of the biological control of *Botrytis cinerea* by *Candida saitoana* in apple fruit. Phytopathology 88:282-291. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.4.282>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2014. FAOSTAT. Food and agriculture data. Disponible en línea: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> (consulta, octubre 2017).
- Fiers M. 2010. Origins of the blemishes of potato tubers: from the soil microbiology to the pedoclimatic environment. Food and Nutrition. Université de Bourgogne, France. 261p. Disponible en línea: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00572491/document> (consulta, octubre 2017).
- Fiers M, Chatot C, Edel-Hermann V, Le Hingrat Y, Konate AY, Gautheron N and Steinberg C. 2010. Diversity of microorganisms associated with atypical superficial blemishes of potato tubers and pathogenicity assessment. European Journal of Plant Pathology 128:353-371. <https://doi.org/10.1007/s10658-010-9657-2>
- Fiers M, Edel-Hermann V, Chatot C, Le Hingrat Y, Alabouvette C and Steinberg C. 2012. Potato soil-borne diseases. A review. Agronomy for Sustainable Development 32:93-132. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0035-z>
- Friedmans BA. 1960. Market diseases of fresh fruits and vegetables. Economic Botany 14:145-156. <https://doi.org/10.1007/BF02860016>
- Fraire-Cordero MDL, Yáñez-Morales MDJ, Nieto-Angel D y Vázquez-Gálvez G. 2003. Hongos patógenos en fruto de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) en postcosecha. Revista Mexicana de Fitopatología 21:285-291. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/html/612/61221307>
- Gan Z, Yang J, Tao N, Liang L, Mi Q, Li J and Zhang KQ. 2007. Cloning of the gene *Lecanicillium psalliotae* chitinase Lpch1 and identification of its potential role in the biocontrol of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Applied Microbiology and Biotechnology 76:1309-1317. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1111-9>
- Gashgari RM and Gherbawy YA. 2013. Pathogenicity of some *Fusarium* species associated with superficial blemishes of potato tubers. Polish Journal of Microbiology 62:59-66.
- Gherbawy YA and Gashgari RM. 2013. Mycobiota associated with superficial blemishes of potato tubers. Food Biotechnology 27:137-151. <https://doi.org/10.1080/08905436.2013.781947>
- Goszczynska T, Serfontein JJ and Serfontein S. 2000. Introduction to practical phyto bacteriology; a manual for phyto bacteriology by SAFRINET, SDC Switzerland. 83p. Disponible en línea: [https://www.researchgate.net/publication/237021880\\_Introduction\\_to\\_Practical\\_Phyto bacteriology\\_A\\_manual\\_for\\_phyto bacteriology](https://www.researchgate.net/publication/237021880_Introduction_to_Practical_Phyto bacteriology_A_manual_for_phyto bacteriology)
- de Haan EG, Dekker-Nooren TC, van den Bovenkamp GW, Speksnijder AG, van der Zouwen PS and van der Wolf JM. 2008. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* can cause potato blackleg in temperate climates. European Journal of Plant Pathology 122:561. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9325-y>
- Herrera JE and Scott GJ. 1993. Factores limitantes a la producción y usos de la papa: resultados de la encuesta a los programas nacionales de América Latina. Revista Latinoamericana de la papa 5:122-134. Disponible en línea: <http://www.papaslatinas.org/ojs/index.php/rev-alap/article/viewFile/63/65>
- Jemison Jr JM, Sexton P and Camire ME. 2008. Factors influencing consumer preference of fresh potato varieties in Maine. American Journal of Potato Research 85:140-149. <https://doi.org/10.1007/s12230-008-9017-3>
- Leslie JF and Summerell BA. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing Professional, Iowa, USA. 388p. Disponible en línea: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470278376.fmatter/pdf> (consulta, octubre 2017).
- López-García B, Veyrat A, Pérez-Payá E, González-Candelas L and Marcos JF. 2003. Comparison of the activity of antifungal hexapeptides and the fungicides thiabendazole and imazalil against postharvest fungal pathogens. International Journal of Food Microbiology 89:163-170. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00118-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00118-1)
- Manici LM and Cerato C. 1994. Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *tuberosi* isolates from tubers and potato plants. Potato Research 37:129-134. <https://doi.org/10.1007/BF02358713>
- Mikitzel L. 2014. Tuber physiological disorders. Chapter 14. Pp: 237. In: Navarre R, Pavék MJ. (eds.). The Potato: Botany, Production and uses. CABI, USA. 382p. <http://doi.org/10.1079/9781780642802.0000>
- Mora-Aguilar R. 2014. Consumo y mercado de la papa en México. XXVI Congreso bienal de la Asociación Latinoamericana de la Papa (ALAP). Disponible en línea: <https://consumoymercadodepapa.wordpress.com/2014/11/28/consumo-y-mercado-de-la-papa-en-mxico/> (consulta, abril 2018).
- Naerstad R, Dees MW, Le VH, Holgado R and Hermansen A. 2012. Occurrence of skin blemish diseases (scab and scurf) in Norwegian potato production. Potato Research 55:225-239. <http://doi.org/10.1007/s11540-012-9221-x>
- Olivieri FP, Maldonado S, Tonon CV and Casalongue CA. 2004. Hydrolytic activities of *Fusarium solani* and *Fusarium solani* f. sp. *eumartii* Associated with the Infection Process of Potato Tubers. Journal of Phytopathology 152:337-344. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2004.00851.x>

- Schisler DA. 1994. Selection and performance of bacterial strains for biologically controlling Fusarium dry rot of potatoes incited by *Gibberella pulicaris*. Plant Disease 78:251-255. <https://doi.org/10.1094/PD-78-0251>
- Schisler DA, Kurtzman CP, Bothast RJ and Slininger PJ. 1995. Evaluation of yeasts for biological control of Fusarium dry rot of potatoes. American Journal of Potato Research, 72:339-353. <https://doi.org/10.1007/BF02849331>
- Schisler DA, Slininger PJ, Kleinkopf G, Bothast RJ and Ostrowski RC. 2000. Biological control of Fusarium dry rot of potato tubers under commercial storage conditions. American Journal of Potato Research 77:29-40. <https://doi.org/10.1007/BF02853659>
- Schaad NW, Jones JB and Chum W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rd Ed. APS Press, St. Paul, MN, USA 398p.
- Seifert KA and Gams W. 2011. The genera of Hyphomycetes-2011 update. Persoonia 27:119-129. <http://dx.doi.org/10.3767/003158511X617435>
- Sneh B, Burpee L and Ogoshi A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. 3rd print. APS press. St Paul, Minnesota, USA. 133p.
- Stevenson WR, Loria R, Franc GD and Weingartner DP. 2001. Compendium of potato diseases. Second Edition. The American Phytopathological Society Press. St. Paul, MN, USA. 144p. <http://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2002.06934.x>
- Theron DJ. 1991. Dry rot of potatoes caused by *Gliocladium roseum*. Plant Pathology 40:302-305. <http://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1991.tb02380.x>
- Talibi I, Askarne L, Boubaker H, Boudyac, EH, Msanda F, Saadi B, Ait Ben and Aoumar A. 2012. Antifungal activity of Moroccan medicinal plants against citrus sour rot agent *Geotrichum candidum*. Letters in Applied Microbiology 55:155-161. <http://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2012.03273.x>
- Vázquez-Carrillo MG, Rubio-Cobarruvias OA, Salinas-Moreno y Santiago-Ramos D. 2013. Usos alternativos de la papa en el Estado de México Disponible en línea: [https://www.researchgate.net/profile/David\\_Santiago-Ramos/publication/260437185\\_Usos\\_alternativos\\_de\\_la\\_papa\\_en\\_el\\_Estado\\_de\\_Mexico/links/004635315013a361e4000000/Usos-alternativos-de-la-papa-en-el-Estado-de-Mexico.pdf](https://www.researchgate.net/profile/David_Santiago-Ramos/publication/260437185_Usos_alternativos_de_la_papa_en_el_Estado_de_Mexico/links/004635315013a361e4000000/Usos-alternativos-de-la-papa-en-el-Estado-de-Mexico.pdf) (consulta, octubre 2017).
- Zimudzi J, Coutinho TA and Van der Waals JE. 2017. Pathogenicity of Fungi Isolated from Atypical Skin Blemishes on Potatoes in South Africa and Zimbabwe. Potato Research 60:119-144. <https://doi.org/10.1007/s11540-017-9345-0>
- Zotarelli L, Reyes-Cabrera JE, Worthington CM, Hutchinson C, Byrd S, Gergela D y Rowland DL. 2013. Trastornos fisiológicos de la papa-Necrosis por calor interno. Departamento del Ciencias para la Horticultura, Servicio de Extensión Cooperativa de la Florida, Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas, Universidad de la Florida. (UF/IFAS). 4p. Disponible en línea: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/HS/HS122100.pdf> (consulta, octubre 2017).