

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



**T E S I S**

***“Cladosporium spp., antagónico a Cercospora coffeicola Berk. & Cke., Drechslera turcica Pass. y Phragmidium mucronatum (Per.) Schlecht”***

Para optar el Título Profesional de:

**INGENIERO AGRÓNOMO**

Presentado por la Bachiller:

**FLOR YACMINI FERNÁNDEZ YRIGOÍN**

Asesor:

**Dr. MANUEL SALOMÓN RONCAL ORDÓÑEZ**

**CAJAMARCA – PERÚ**

**2019**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

Norte de la Universidad Peruana

Fundada por Ley 14015 del 13 de febrero de 1962

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**Secretaría Académica**



### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, a los **veinte y siete** días del mes de **diciembre** del Año dos mil diecinueve, se reunieron en el ambiente **2C- 211** de la Facultad de Ciencias Agrarias, los integrantes del Jurado designados por el Consejo de Facultad de Ciencias Agrarias, según Resolución de Consejo de Facultad N° 503-2019-FCA-UNC, fecha 17 de octubre del 2019, con el objeto de Evaluar la sustentación de la Tesis titulada: “*Cladosporium* spp., POTENCIAL ANTAGÓNICO A FITOPATÓGENOS FOLIARES”, para optar el Título Profesional de **INGENIERO AGRÓNOMO**, de la Bachiller: **FLOR YACMINI FERNÁNDEZ YRIGOÍN**.

A las nueve horas y cero minutos y de acuerdo a lo estipulado en el Reglamento respectivo, el Presidente del Jurado dio por iniciado el acto. Después de la exposición del trabajo de Tesis, la formulación de preguntas y de la deliberación del Jurado, el Presidente anunció la **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD** con el calificativo de **QUINCE (15)**; no sin antes recomendar el cambio del título de Tesis por: “*Cladosporium* spp., **antagónico a *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke., *Drechslera turcica* Pass. y *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht**”, aprobada según Resolución de Consejo de Facultad N° 003-2020-FCA-UNC, Fecha 15 de enero del 2020.

Por lo tanto, el graduando queda expedita para que se le expida el **Título Profesional** correspondiente.

A las once horas y veinte minutos, el Presidente del Jurado dio por concluido el acto.

Cajamarca, 27 de diciembre de 2019.

M. Cs. **Jhon Víctor López Orbegoso**  
PRESIDENTE

Ing. **Alonso Vela Ahumada**  
SECRETARIO

Ing. M. Sc. **Víctor Eudelfio Torrel Pajares**  
VOCAL

Dr. **Manuel Salomón Roncal Ordóñez**  
ASESOR

## **DEDICATORIA**

*A mis padres: Ysabel y Gilberto, por su amor, sacrificio y esfuerzo, y ser partícipes en mi formación como profesional. Por haberme motivado constantemente para cumplir mis metas y los más importante por creer en mí.*

*A Nancy, Deysi, Katherine, Thiago y Sebastián, por ser parte de mis logros, regalarme alegrías, eh inspirarme cada día para superarme.*

*A mi esposo Tito Jacob, por quedarte en mi vida y ser parte de ella, hasta que Dios lo permita, por tu amor y apoyo incondicional.*

**FERNÁNDEZ YRIGOÍN, FY**

## **AGRADECIMIENTO**

*Gracias a Dios, por guiarme cada día de mi vida por el camino correcto y permitirme continuar con firmeza mis proyectos.*

*Al Dr. Manuel Salomón Roncal Ordóñez, por ser un gran maestro y amigo, por brindarme sus enseñanzas e incansable dedicación, en el desarrollo de este trabajo de investigación.*

**FERNÁNDEZ YRIGOÍN, FY**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

	<b>Página</b>
Dedicatoria .....	ii
Agradecimiento .....	iii
Índice de contenidos .....	iv
Índice de tablas .....	vii
Índice de figuras .....	viii
Resúmen .....	xi
Abstract .....	xii
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
Objetivo.....	2
<b>CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1. Generalidades de control biológico.....	3
2.2. Referencias de microorganismos fungosos antagónicos.....	4
2.3. Mecanismos de acción de los microorganismos antagonistas.....	6
2.4. Características morfológicas y taxonomía de <i>Cladosporium</i> sp.....	8
2.5. Comportamiento de <i>Cladosporium</i> sp.....	10
2.6. Aspectos generales de microorganismos fitopatógenos.....	10
2.6.1. <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke .....	10
2.6.2. <i>Drechslera turcica</i> Pass.....	11
2.6.3. <i>Phragmidium mucronatum</i> (Pers.) Schlecht .....	12
<b>CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
3.1. Ubicación del trabajo de investigación.....	14
3.2. Materiales .....	15
3.3. Metodología .....	16

	<b>Página</b>
3.3.1. Trabajo en campo .....	16
3.3.2. Trabajo en laboratorio.....	16
3.3.3. Ensayo preliminar de antagonismo de 35 cepas de <i>Cladosporium</i> spp., a <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke y <i>Drechslera turcica</i> Pass. en condiciones“ <i>in vitro</i> ” .....	20
3.3.4. Ensayo preliminar de antagonismo de 35 cepas de <i>Cladosporium</i> spp., a <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht en condiciones “ <i>en vivo</i> ” .....	21
3.3.5. Ensayos de antagonismo de cuatro cepas (C2, C11, C17 y C24) de <i>Cladosporium</i> spp., a <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke en condiciones “ <i>in vitro</i> ” ...	22
3.3.6. Ensayos de antagonismo de cuatro cepas (C2, C11, C26 y C34) de <i>Cladosporium</i> spp., a <i>Drechslera turcica</i> Pass. en condiciones “ <i>in vitro</i> ” .....	23
3.3.7. Ensayos de antagonismo de cuatro cepas (C9, C24, C26 y C31) de <i>Cladosporium</i> spp., a <i>Phragmidium mucronatum</i> (Pers.) Schlecht. en condiciones “ <i>en vivo</i> ” .....	24
3.3.8. Ensayo de parasitismo de <i>Cladosporium</i> spp., en uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht., en una gota de agua .....	25
3.3.9. Análisis estadístico .....	25
 <b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	 26
4.1. Aislamientos de cepas de <i>Cladosporium</i> spp., antagónicos a fitopatógenos fungosos foliares .....	26
4.2. Acción inhibitoria de 35 cepas de <i>Cladosporium</i> spp., frente a <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke y <i>Drechslera turcica</i> Pass. en condiciones “ <i>in vitro</i> ” .....	27
4.3. Uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht, parasitadas por 35 cepas de <i>Cladosporium</i> spp. ....	31
4.4. Acción inhibitoria de las cepas C2, C11, C17 y C24, de <i>Cladosporium</i> spp., a <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke en condiciones “ <i>in vitro</i> ” .....	34

	<b>Página</b>
4.5. Acción inhibitoria de las cepas C2, C11, C26 y C34 de <i>Cladosporium</i> spp., a <i>Drechslera turcica</i> Pass. en condiciones “ <i>in vitro</i> ” .....	37
4.6. Acción de parasitismo de las cepas C9, C24, C26 y C31 de <i>Cladosporium</i> spp., en uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht., en condiciones “ <i>en vivo</i> ”... ..	40
4.7. Efecto de las cepas C9, C24, C26, C31, de <i>Cladosporium</i> spp., en uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht. ....	43
 <b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	 45
 <b>CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	 46
 <b>CAPÍTULO VII. ANEXOS</b> .....	 53

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>Tabla 1.</b> Localización geográfica del lugar de colección de muestras .....	14
<b>Tabla 2.</b> Tratamientos de antagonismo de las cepas C2, C11, C17 y C24 de <i>Cladosporium</i> spp., frente a <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke .....	23
<b>Tabla 3.</b> Tratamientos de antagonismo de las cepas (C2, C11, C26 y C34) de <i>Cladosporium</i> spp., frente a <i>Drechslera turcica</i> Pass. ....	23
<b>Tabla 4.</b> Tratamientos de antagonismo de las cepas C9, C24, C26 y C31 de <i>Cladosporium</i> spp., frente a <i>Phragmidium mucronatum</i> (Pers.) Schlecht. ....	24
<b>Tabla 5.</b> Aislamientos de <i>Cladosporium</i> spp., en manchas foliares de diferentes hospederos .....	26
<b>Tabla 6.</b> Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PCI) del micelio de <i>Cercospora coffeicola</i> (Berk. & Cke) y <i>Drechslera turcica</i> Pass. Frente a <i>Cladosporium</i> spp., en cultivos duales. ....	28
<b>Tabla 7.</b> Pústulas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht, en <i>Rosa canina</i> afectadas por cepas de <i>Cladosporium</i> spp. ....	32
<b>Tabla 8.</b> Análisis de varianza (ANOVA) para el efecto de inhibición del crecimiento del micelio de <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke, frente a <i>Cladosporium</i> spp. ....	34
<b>Tabla 9.</b> Prueba de rango múltiple de Duncan al 5 % de probabilidad para el efecto de cuatro cepas de <i>Cladosporium</i> spp., contra <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke .....	35
<b>Tabla 10.</b> Análisis de varianza (ANOVA) para el efecto de inhibición de crecimiento radial del micelio de <i>Drechslera turcica</i> Pass. frente a <i>Cladosporium</i> spp. ....	37
<b>Tabla 11.</b> Prueba de rango múltiple de Duncan al 5 % de probabilidad para el efecto de las cepas de <i>Cladosporium</i> spp., contra <i>Drechslera turcica</i> Pass. ....	38
<b>Tabla 12.</b> Análisis de varianza (ANOVA) para el efecto de parasitismo de las cepas de <i>Cladosporium</i> spp., en <i>Phragmidium mucronatum</i> . (Per.) Schlecht. ....	40
<b>Tabla 13.</b> Prueba de rango múltiple de Duncan al 5 % de probabilidad, para el parasitismo de las cepas de <i>Cladosporium</i> spp., en las pústulas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht. ....	41
<b>Tabla 14.</b> Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de micelio (PIC) de <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke, frente a las cepas antagónicas (C2, C11, C17 y C24) de <i>Cladosporium</i> spp. ...	54
<b>Tabla 15.</b> Porcentaje de Inhibición de crecimiento radial de micelio (PIC) de <i>Drechslera turcica</i> Pass frente a las cepas antagónicas (C2, C11, C26 y C34) de <i>Cladosporium</i> spp. ....	55
<b>Tabla 16.</b> Porcentaje pústulas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht afectadas por las cepas antagónicas C9, C24, C26 y C31 de <i>Cladosporium</i> spp. ....	56



## ÍNDICE DE FIGURAS

### Página

<b>Fig.1.</b> Esquema de <i>Cladosporium</i> ., donde se observa: Conidióforo ( <b>C</b> ), Ramoconidios ( <b>RC</b> ), Ramoconidios secundarios ( <b>RCS</b> ), Conidios intercalares ( <b>CI</b> ), y pequeños conidios terminales ( <b>CT</b> ) (Schubert et al. 2007). .....	9
<b>Fig.2.</b> Síntomas en hojas ( <b>A</b> ), y bayas ( <b>B</b> ) de <i>coffea arabica</i> ; inducidos por <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke. (Scot 2008) .....	11
<b>Fig.3.</b> Mancha foliar fusiforme en maíz ( <i>Zea mays</i> L.), inducida por <i>Drechslera turcica</i> Pass. ....	12
<b>Fig.4.</b> Síntomas en hojas <i>Rosa canina</i> L., inducidos por <i>Phragmidium mucronatum</i> (Pers.) Schlecht .....	13
<b>Fig.5.</b> Cámaras húmedas para obtener signo fungoso. ....	17
<b>Fig.6.</b> Signo fungoso sobre una mancha foliar en cafeto ( <i>Coffea arabica</i> ). .....	17
<b>Fig.7.</b> Estructuras somáticas que caracterizan a <i>Cladosporium</i> spp: hifas septadas ( <b>a</b> ), conidióforo( <b>b</b> ); ramoconidios ( <b>c</b> ); conidios terminales multiformes ( <b>d</b> ).....	18
<b>Fig.8.</b> Micelio de <i>Cladosporium</i> spp., después de la siembra del inóculo, obtenido en cámara húmeda.....	19
<b>Fig.9.</b> Micelio puro de <i>Cladosporium</i> spp., siembra monospórica. ....	19
<b>Fig.10.</b> Conservacion de 35 cepas de <i>Cladosporium</i> spp., en medio PDA en plano inclinado. ....	19
<b>Fig.11.</b> Esquema del método de cultivos duales en la placa de Petri, donde: ( <b>A</b> ) = Antagonista y ( <b>B</b> )=.Patógeno .....	21
<b>Fig.12.</b> Uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht, parasitadas por <i>Cladosporium</i> spp. ....	22
<b>Fig.13.</b> Uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht, libre del antagonista <i>Cladosporium</i> spp.....	22
<b>Fig.14.</b> Distribución de tratamientos de antagonismo; cepas (C9, C24, C26 y C31) de <i>Cladosporium</i> spp., frente a <i>Phragmidium mucronatum</i> (Pers.) Schlecht.....	24
<b>Fig.15.</b> Placas de Petri con porta objeto, con uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> y conidios de <i>Cladosporium</i> spp. ....	25
<b>Fig.16.</b> Vista al microscopio de Uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> ( <b>A</b> ), y conidios de <i>Cladosporium</i> spp., ( <b>B</b> ). ....	25
<b>Fig.17.</b> Micelio de <i>Cladosporium</i> sp., cepa C2, de color verde petróleo en medio PDA, 29	
<b>Fig.18.</b> Hifa, conidióforos con ramificación terminal, y conidios ovoides alargado en cadena (C2). .....	29

<b>Fig.19.</b> Micelio de <i>Cladosporium</i> sp., cepa.C11, de color verde petróleo oscuro en medio PDA. ....	29
<b>Fig.20.</b> Hifa, conidióforos con ramificación terminal, conidios ovoides en cadena (C11).....	29
<b>Fig.21.</b> Micelio de <i>Cladosporium</i> sp., cepa C17, de color verde oscuro a negro en medio PDA. ....	30
<b>Fig.22.</b> Hifa, conidióforos largos con ramificación terminal, conidios cilíndricos y ovoides en cadena (C17). ....	30
<b>Fig.23.</b> Micelio de <i>Cladosporium</i> sp., cepa C24, de color verde oscuro, en medio PDA. ....	30
<b>Fig.24.</b> Hifa, conidióforos largos con ramificación terminal, conidios cilíndricos en cadena. (C24). ....	30
<b>Fig.25.</b> Micelio de <i>Cladosporium</i> sp., cepa C26, de color verde petróleo negro en medio PDA. ....	31
<b>Fig.26.</b> Hifa, conidióforos cortos con poca ramificación terminal, conidios ovoides y esféricos en cadena (C26). ....	31
<b>Fig.27.</b> Micelio de <i>Cladosporium</i> sp., cepa C34, de color verde petróleo en medio PDA. ....	31
<b>Fig.28.</b> Hifa, conidióforos con ramificación terminal, conidios ovoide cilíndricos uni y bicelulares, en cadena (C34). ....	31
<b>Fig.29.</b> Micelio de <i>Cladosporium</i> sp., cepa C9, de color verde claro en medio PDA. ..	33
<b>Fig.30.</b> Hifa, conidióforos largos, con ramificación terminal, conidios ovoides circulares en cadena. (C9). ....	33
<b>Fig.31.</b> Micelio de <i>Cladosporium</i> sp., cepa C31, de color verde en medio PDA. ....	33
<b>Fig.32.</b> Hifa, conidióforos, ramificación terminal, conidios ovoides en cadena (C31). ..	33
<b>Fig.33.</b> Inhibición de crecimiento radial, del micelio de <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke frente a cuatro cepas de <i>Cladosporium</i> spp. ....	35
<b>Fig.34.</b> Inhibición del crecimiento micelial de <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke frente a <i>Cladosporium</i> spp., en función de los días evaluados. ....	36
<b>Fig.35.</b> Efecto del antagonista <i>Cladosporium</i> spp. (C2, C11, C17 y C24) en el fitopatógeno <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke (Cc), en cultivos duales. ....	36
<b>Fig.36.</b> Inhibición de crecimiento radial del micelio de <i>Drechslera turcica</i> Pass. frente a cuatro cepas de <i>Cladosporium</i> spp. ....	38
<b>Fig.37.</b> Inhibición del crecimiento micelial de <i>Drechslera turcica</i> Pass. frente a <i>Cladosporium</i> spp., función de los días evaluados. ....	39

<b>Fig.38.</b> Efecto del antagonista <i>Cladosporium</i> spp. (C2, C11, C26 y C34) en el fitopatógeno <i>Drechslera turcica</i> Pass. (Dt), en cultivos duales. ....	39
<b>Fig.39.</b> Pústulas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht. afectadas por cepas de <i>Cladosporium</i> spp. ....	41
<b>Fig.40.</b> Pústulas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht, afectadas por las cepas de <i>Cladosporium</i> spp., función de los días.....	42
<b>Fig.41.</b> Parénquima foliar de rosa con uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht, libre de <i>Cladosporium</i> spp.....	42
<b>Fig.42.</b> Micelio gris oscuro del antagonista <i>Cladosporium</i> spp., sobre uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht.....	42
<b>Fig.43.</b> Vista al microscopio la formación del haustorio <b>(A)</b> de <i>Cladosporium</i> C9., iniciando el parasitismo en Uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht.....	43
<b>Fig.44.</b> Pérdida del contenido celular de uredosporas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht <b>(B)</b> por efecto de <i>Cladosporium</i> C9 <b>(C)</b> .....	43
<b>Fig.45.</b> Hifa de <i>Cladosporium</i> C9 <b>(D)</b> , contenido celular de la uredospora <b>(E)</b> .....	43
<b>Fig.46.</b> Vista al microscopio de la estructura somática del antagonista <i>Cladosporium</i> C9, después de 48 horas. <b>(F)</b> .....	44
<b>Fig. 47.</b> Cultivo dual a los seis días de evaluación, <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke <b>(Cc)</b> frente a las cepas antagónicas C2, C11, C17, C24 de <i>Cladosporium</i> spp.....	57
<b>Fig.48.</b> Cultivo dual a los seis días de evaluación, <i>Drechslera turcica</i> Pass. <b>(Dt)</b> frente a las cepas antagónicas C2, C11, C26, C34 de <i>Cladosporium</i> spp. ....	58
<b>Fig.49.</b> Estructura somática: <i>Cercospora coffeicola</i> Berk. & Cke <b>(A)</b> ; <i>Drechslera turcica</i> Pass. <b>(B)</b> .....	58
<b>Fig.50.</b> Pústulas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht <b>(Pm)</b> , afectadas por las cepas antagónicas C9, C24, C26 y C31 de <i>Cladosporium</i> spp (micelio gris oscuro), a los seis días de evaluación. ....	59
<b>Fig.51.</b> Pústulas de <i>Phragmidium mucronatum</i> (Per.) Schlecht. fase Uredo, sin antagonista. ....	60
<b>Fig.52.</b> Observación de muestras al estereoscopio <b>(A)</b> , Instalación de experimento de antagonismo <b>(B)</b> .....	60

<sup>1</sup>Flor Yacmini Fernández Yrigóin 2019. *Cladosporium* spp., antagónico a *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke, *Drechslera turcica* Pass. y *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht". Tesis Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cajamarca – Perú.

---

## RESÚMEN

El presente trabajo de investigación, tuvo como objetivo, analizar los aislamientos de las cepas de *Cladosporium* spp.; antagónicos a tres fitopatógenos; *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke, *Drechslera turcica* Pass. y *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht". Se aislaron 35 cepas de *Cladosporium* spp., confrontándose cada uno ellos en condiciones "in vitro"; seleccionándose las cepas C2, C11, C17, C24, para *C. coffeicola* y C2, C11, C26, C34, para *D. turcica*, y en folíolos de rosa afectados con *P. mucronatum*, se seleccionó C9, C24, C26 y C31. Destacando C11, C24 para *C. coffeicola*, con 60.76% y 57.41% de inhibición respectivamente y para *D. turcica*, C11 (46.66 %), C34 (46.03 %), C2 (45.48), C26 (42.89 %). Las cepas que mostraron mayor efectividad de parasitismo sobre uredosporas de *P. mucronatum* fueron C24 (98 %), C26 (95 %) y C31 (94.5 %).

**Palabras clave:** *Cladosporium*, antagonismo, *Cercospora coffeicola*, *Drechslera turcica*, *Phragmidium mucronatum*.

---

<sup>1</sup> Bachiller en Agronomía de la Facultad de Ciencias Agrarias.

<sup>1</sup> Flor Yacmini Fernández Yrigoín 2019. “*Cladosporium* spp., Antagonistic to *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke., *Drechslera Turcica* Pass. and *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht”. Agronomist Engineer thesis. Faculty of Agricultural Sciences. National University of Cajamarca – Peru.

---

## ABSTRACT

The objective of this research work was to analyze the isolates of *Cladosporium* spp. antagonistic to three phytopathogens; *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke, *Drechslera Turcica* Pass. and *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht. 35 strains of *Cladosporium* spp. Were isolated, each confronting them under "in vitro" conditions; selecting strains C2, C11, C17, C24, for *C. coffeicola* and C2, C11, C26, C34, for *D. turcica*, and in rose leaflets affected with *P. mucronatum*, C9, C24, C26 and C31 were selected. Highlighting C11, C24 for *C. coffeicola*, with 60.76% and 57.41% inhibition respectively and for *D. turcica*, C11 (46.66%), C34 (46.03%), C2 (45.48), C26 (42.89%). The strains that showed greater effectiveness of hyperparasitism on *P. mucronatum* uredospores were C24 (98%), C26 (95%) and C31 (94.5%).

**Keywords:** *Cladosporium*, antagonism, *Cercospora coffeicola*, *Drechslera turcica*, *Phragmidium mucronatum*.

---

<sup>1</sup> Bachelor in Agronomy from the Faculty of Agricultural Sciences.

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

El uso de agroquímicos en la agricultura, está causando alteraciones ambientales irreversibles. A medida que progresa la modernización agrícola, los principios ecológicos son continuamente ignorados; en consecuencia, los ecosistemas modernos son inestable (Altieri y Nicholls 2007).

Desde la invención del “caldo bordelés” (1887) (Cano *et al.* 2004), el control de fitoenfermedades, se basó en la utilización de productos químicos; sin embargo, a lo largo del tiempo se demostró que el uso indiscriminado de éstos, ha perjudicado la salud del hombre y los animales, además de alterar la vida de micro y macroorganismos de los ecosistemas (de Bauer 2002). El daño inmediato lo contrae el operador de los pesticidas, seguido por los consumidores y la contaminación del medio ambiente; es conveniente hacer notar, que el uso de estos productos, ha permitido la adquisición de resistencia de diferentes especies de fitopatógenos (Santos *et al.* 2010). Estos son claros signos, que el control de plagas y enfermedades, utilizando pesticidas, ha llegado a su límite. Siendo necesario aplicar estrategias basadas en los principios ecológicos, haciendo uso de paquetes de “Manejo integrado”; de ésta manera, aprovechar al máximo, los beneficios de la biodiversidad en la agricultura.

Existen diversos métodos de control biológico de enfermedades de las plantas. Uno de ellos es el empleo de microorganismos antagonistas, debido, a que su acción, facilita la disminución del inóculo, o la reducción de la patogenicidad (Mont 2002); por otro lado, los mecanismos de acción de los antagonistas, se realiza a través de antibiosis, competencia por espacio o nutrientes,

interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo y lisis enzimática) e inducción de resistencia (Fernández-Larrea 2001).

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente realizamos la presente investigación, destacando a *Cladosporium* spp., como potencial alternativo a tres fitopatógenos fungosos en hojas de Cafeto (*Coffea arabica* L.), maíz (*Zea mays* L.) y rosa (*Rosa canina* L.).

### **Objetivo**

Analizar los aislamientos de las cepas de *Cladosporium* spp., antagónicas a tres fitopatógenos; *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke., *Drechslera turcica* Pass. y *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht”

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. Generalidades de control biológico

Cada especie de organismo conforman un sistema complejo de vida, luchando constantemente por su existencia; ocurriendo entre ellos relaciones ecológicas de diferente tipo; la población de antagonistas ocasiona la muerte a patógenos; principio ecológico conocido como control biológico (Mont 2002), existe una interacción entre patógenos potenciales y sus antagonistas, contribuyendo que en la mayoría de los casos no se desarrolle una enfermedad (Fernández-Larrea 2001).

La definición de “**control biológico**” todavía es controversial; para Baker (1989) y Cook (1989), corresponde a la reducción de la densidad del inóculo del patógeno; limitándose la patogénesis, de éstos en el hospedero.

Ezziyyani *et al.* (2006), reporta a diferentes especies de los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Trichoderma*, *Streptomyces*, como los que los microorganismos más utilizados en el control biológico.

Agrios (2005), sostiene que existen diferentes prácticas de control biológico y algunos métodos culturales ayudan a mejorar la resistencia del hospedero, debido a que favorecen el crecimiento y desarrollo de microorganismos antagónicos al patógeno.



El control biológico en Perú, dentro del marco del manejo integrado de los cultivos, tiene más de 100 años, tomando mayor impulso a partir del año 1995 con el incremento de las exportaciones de productos hortícolas. Destacando al uso de microorganismos antagonistas como alternativa de control más efectivo e inócuo que los fungicidas agrícolas comerciales (Bettioli *et al.* 2014).

## **2.2. Referencias de microorganismos fúngicos antagonistas**

Se ha demostrado que las levaduras y hongos filamentosos, son organismos antagonistas eficaces para fitopatógenos fúngicos. Destacando a *Cladosporium herbarum* y *Penicillium* sp., en la disminución de la patogénesis de *Botrytis cinerea* en flores (Agrios 2005); este patógeno, muestra susceptibilidad a algunas especies de *Cladosporium*, saprófito que se encuentra como habitante natural de las partes aéreas de las plantas de mora (*Rubus* sp.) (Calvo-Araya *et al.* 2012).

La mayoría de especies del género *Cladosporium*, son considerados saprófitos; 34 de estas especies, están asociadas a otros hongos, de éstos, sólo algunos son considerados antagonistas o hiperparásitos, utilizados como controladores biológicos. Se tiene conocimiento que los antagonistas sintetizan alrededor de 130 compuestos diferentes; con propiedades antivirales y antifúngicas (Torres-Sánchez 2015).

La diseminación del inóculo en un suelo agrícola, de *Cladosporium* sp., *Epicoccum* sp., y *Trichoderma* sp., cuando germinan y desarrollan en la materia orgánica en proceso de descomposición, inhiben el ataque de fitopatógenos; es el caso de los inductores de canchales en árboles frutales (*Nectria galligena* y *Cytospora* sp.). Aplicaciones de *Trichoderma* spp., en la parte aérea de frutales, reduce la pudrición de frutos por *Botrytis cinerea*, durante la cosecha y en el almacén (Agrios 2005).

En condiciones “*in vitro*” e invernadero, *Cladosporium* sp., demostró hiperparasitismo en *Puccinia horiana* Henn., causante de la roya blanca del crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev); el antagonista, en condiciones

de laboratorio, en cinco días, colonizó de 79 a 84 % de pústulas de *P. horiana* y en invernadero, la efectividad fue de 84 %. (García-Velasco *et al.* 2005). Estudios similares realizados por Assante *et al.* (2004) y Morica *et al.* (2001) reportaron, a *Cladosporium tenuissimum* Cke como hiperparásito de *Cronatium flaccidum* en pino (*Pinus* sp.) y *Uromyces appendiculatus* en frijol (*Phaseolus vulgaris*).

Se tiene reportes que *C. tenuissimum*, inhibe la germinación del inóculo y crecimiento de micelio de diferentes fitopatógenos, lo cual se debe a la acción de los metabolitos, antibióticos, enzimas y toxinas, destacando entre estas, cladosporol1 (C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>), quien actúa inhibiendo la síntesis de glucana (Assante *et al.* 2002, 2004).

Rojas-Martínez *et al.* (2015) manifiestan que *C. pseudocladosporoides* y *C. cladosporioides* sintetizan diferentes metabolitos secundarios; siendo éstos, los responsables de afectar el crecimiento de *Phytophthora acerina* y *P. ramorum*.

Experimentalmente se ha demostrado la existencia de hongos antagonistas a hongos fitopatógenos de la parte aérea de las plantas; destacando entre estos a *Chaetomium* sp., inhibiendo la producción de ascosporas de *Venturia inaequalis* (Agrios 2005) y conidios del anamorfo *Spilocaea pomi* (Roncal 2004), este tipo de antagonismo se ha observado en hojas desprendidas y las que están en desarrollo. *Tuberculina maxima* actúa como parásito de la roya ampulante del pino blanco (*Pinus pseudostrubus.*), *Cronartium ribicola*; *Darluca fihim* y *Verticillium lecanii* parasitan algunas royas; *Ampelomyces quisqualis* hiperparasitan el micelio de las cenicillas (Agrios 2005).

En Cajamarca diferentes especies del género *Oidium* como *Oidium ligularis* MSRO en granadilla (*Passiflora ligularis*); *O. betaceae* MSRO en berenjena (*Ciphomandra betaceae*); *O. spinosa* en tara (*Tara spinosa*); *O. hookeriana* MSRO en mutuy (*Senna cajamarca* H.S) y *O. mollissima* MSRO en poroporo (*Passiflora tripartita* (Juss.) Poir.) (Roncal y Roncal 2015), son hiperparasitados por *Ampelomyces* spp. (Roncal 2011).

*Tilletiopsis* sp., parasita a *Sphaerotheca fuliginea* hongo de la cenicilla del pepino (*Solanum maricatum*) y *Sphaerotheca fuliginea*, *Gonatobotrys simplex* y el Ascomycete *Nectria inventa*, parasitan a dos especies del género *Alternaria* (Agrios 2005).

Algunas enfermedades foliares, se han reducido en más de un 50% al rociar a las hojas con suspensiones de esporas de hongos comunes del filoplano, como *Alternaria* sp., *Cochliobolus* sp., *Septoria* sp., *Colletotrichum* sp. y *Phoma* sp., o bien con esporas de los hiperparásitos *Ampelomyces quisqualis* sobre *Sphaerotheca fuliginea*; inóculo de *Darluca filum* contra *Puccinia recondita* causante de la roya morena de cereales y conidios de *Verticillum lecanii* para controlar la roya del clavel (Agrios 2005) causado por *Uromyces caryophyllinus* (Medina 2003). Ninguno de los hiperparásitos descritos en este contenido se ha utilizado en forma masiva (Agrios 2005).

*Darluca* sp., en Cajamarca se ha encontrado como hiperparásito en uredosporas de: *Melampsora humboltiana* patógeno de la roya de sauce llorón; *Uromyces caryophyllinus* causante de la roya del clavel y *Uromyces* sp., patógeno de la roya del geranio (Quiróz y Roncal 2010).

### **2.3. Mecanismos de acción de los microorganismos antagonistas**

Los microorganismos antagónicos tienen diferentes formas de acción, y la combinación de éstos, es una característica importante para ser seleccionado como controladores biológicos, si el antagonista posee varias formas de acción, se reduce el riesgo de ocasionar resistencia en fitopatógenos potenciales (Mondino y Vero 2006).

Los mecanismos de acción, por ahora determinados, corresponden a:

#### **2.3.1. Antibiosis**

El antagonista causa la detención o destrucción del patógeno a través sustancias tóxicas (Cañedo y Ames 2004). Este proceso corresponde a la interacción entre

el antagónico y el patógeno; el primero libera metabolitos enzimas hidrolíticas, metabolitos secundarios volátiles y pequeñas moléculas tóxicas, responsables de ejercer daño a uno o varios fitopatógenos; además de los antibióticos y otros productos tóxicos volátiles como el cianuro de hidrógeno; éstos afectan el crecimiento celular de los microorganismos dañinos (Michel 2001 y Pérez 2004). *Trichoderma* spp., tiene la capacidad de producir diferentes metabolitos antibióticos; entre estos la Trichodermina, gliotoxina y viridina (Infante *et al.* 2009).

### **2.3.2. Competencia**

La competencia surge cuando al menos dos organismos requieren para su funcionamiento el mismo alimento. El consumo que realiza uno de ellos, reduce la cantidad nutrientes disponibles para el otro, afectando de esta manera su proliferación (Robles 2012). Se han determinado diferentes tipos de competencia.

**a) Competencia por nutrientes**, en la naturaleza se ha determinado, que los microorganismos compiten fundamentalmente por carbono (C), nitrógeno (N) y hierro (Fe), si éstos están en exceso, no hay competencia (Fernández-Larrea 2001). La competencia por carbono y hierro ocurre en el suelo, ambos elementos permiten la germinación de esporas; la deficiencia de uno de ellos, limita dicha germinación; fenómeno denominado “fungistasis” (Bengochea *et al.* 2014). *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum*, son ejemplo clásico de microorganismos dependientes de nutrientes (Fernández-Larrea 2001).

**b) Competencia por espacio**, la competencia por espacio, oxígeno y luz, también ha sido evaluada, considerando a las levaduras como eficaces colonizadoras de la superficie de las plantas, y se destaca la producción de materiales extracelulares (polisacáridos) que restringen el espacio para la colonización por otros microorganismos (Fernández-Larrea 2001).

### 2.3.3. Internación directa con el patógeno

Se da a través del micoparasitismo (**a**), entre antagonista y patógenos; el patógeno sirve de alimento al antagonista; éste, degrada a los componentes de las paredes celulares del patógeno a través de la síntesis de exoenzimas hidrolíticas para facilitar la degradación, principio también conocido como lisis enzimática (**b**), las enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente están conformadas por quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del patógeno u hospedante y para facilitar la penetración de las hifas del antagonista (Durán y Mosquera 2007).

Especies del género *Sphaerellopsis* (*Darluca*) viven en pústulas de Uredinales. Por ejemplo, *S. filum* puede parasitar uredosporas y teliosporas de royas de diferente especie. *Trichoderma viride*, hiperparasita a *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp, entre otros (Mont 2002).

### 2.3.4. Inducción de resistencia

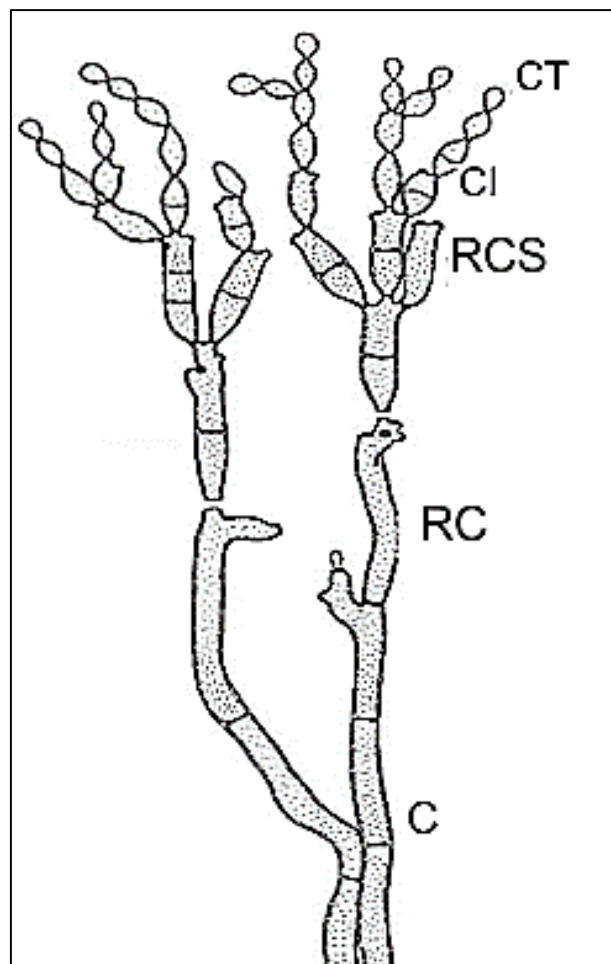
Las plantas por naturaleza, producen diferentes moléculas, no necesariamente dañinas a patógenos, pero si con propiedades de defensa ante el ataque de cualquier fitopatógeno (Sticher *et al.* 1997). Este mecanismo ha sido comprobado en *Trichoderma harzianum* Rifai; quienes producen enzimas inductoras de resistencia sistémica, contra *Botrytis cinerea* Pers Fr. en fresas (*Fragaria vesca*) (Martínez *et al.* 1999).

## 2.4. Características morfológicas y taxonomía de *Cladosporium* sp.

### 2.4.1. Morfología

En el hospedero y en medio de cultivo PDA, presenta **micelio**, constituido por hifas septadas que en conjunto se dejan ver de colores gris, gris claro, gris oscuro, dependiendo del tipo de aislamiento (Roncal 1993); el micelio desarrolla en la superficie y en el tejido interno y externo del hospedero. Las **hifas**, son consistentes, con abundante ramificación, presentan septos pronunciados, las paredes celulares conforman un tejido liso, ocasionalmente rugosa y subhialina,

o ligeramente pigmentado, que en algunas especies es de color marrón oscuro. Las células que conforman las hifas, a menudo se hinchan, formando agregaciones densas (Bensch *et al.* 2012). El **conidióforo**, es el resultado de la ramificación de la hifa somática, se caracteriza por ser solitario y multicelular, con ramificaciones en el tercio superior (Roncal 1993); las ramificaciones del primer y segundo orden, se caracterizan por ser bicelulares y tricelulares principalmente y tienen la particularidad de germinar por lo que se les denomina **ramoconidios**; de estas ramificaciones, en el extremo superior dan origen a los verdaderos **conidios**, los que al madurar y caer dejan cicatrices; forman conidios catenulados, uni y bicelulares, de forma variable; subglobosas, ovoides, elipsoide, fusiforme, limoniforme, hasta subcilíndrica o cilíndrica (Bensch *et al.* 2012).



**Fig.1.**Esquema de *Cladosporium.*, donde se observa: Conidióforo (**C**), Ramoconidios (**RC**), Ramoconidios secundarios (**RCS**), Conidios intercalares (**CI**), y pequeños conidios terminales (**CT**) (Schubert *et al.* 2007).

## **2.4.2. Taxonomía**

Clase forma Deuteromycetes, orden forma Moniliales, familia forma Dematiaceae, género forma *Cladosporium* (Roncal 1993).

## **2.5. Comportamiento de *Cladosporium* sp**

Las especies del género *Cladosporium*, tiene distribución cosmopolita, se encuentra en todo tipo de plantas, hongos y desechos orgánicos, a menudo se aíslan del suelo, alimentos, pinturas, textiles y materia orgánica en proceso de descomposición, también, se encuentran como invasores secundarios en lesiones de hojas, causadas por hongos fitopatógenos (Ellis, citado por Bensch *et al.* 2012).

Existen especies patógenas, *C. macrocarpum*, *C. herbrum* y *C. fulvum.*, estos, producen daño en espigas y tallos de trigo y cebada (Roncal 2004), otras tienen comportamiento de hiperparásito, principalmente sobre esporas de diferentes especies de royas (Assante *et al.* 2004).

Reportes recientes, indican que las esporas de las diferentes especies de *Cladosporium*, afectan al sistema respiratorio, ocasionando alergias en humanos (Rodríguez *et al.* 2008).

## **2.6. Aspectos generales de microorganismos fitopatógenos**

### **2.6.1. *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke**

Fitopatógeno causante de la enfermedad conocida como mancha de hierro en café; los síntomas en hojas y frutos se observa como manchas circulares; también pueden ser de forma irregular, color pardo claro a marrón rojizo, rodeadas de un halo color amarillo que se pierde difusamente sobre el tejido verde; las manchas pueden medir de 1 y 3 mm hasta 1cm de diámetro (Rengifo-Guzmán *et al.* 2002).

Éste hongo presenta micelio septado, conidióforos oscuros, rectos, flexuosos, fasciculados, sinuosos y dentados, los conidios son individuales, hialinos, pluriseptados, lisos de forma alargada y tamaño variable (Rengifo-Guzmán *et al.* 2002).

La dispersión de patógenos es por esporas (conidias) que son transportadas por el viento, lluvia y contacto humano, se produce el mayor riesgo de infección cuando el rango de temperatura es 20–28 ° C y humedad relativa mayor al 70%, continuando con una mala nutrición, estrés general y sombra insuficiente (Scot 2008)

Taxonómicamente pertenece a la Clase forma Deuteromycetes, orden forma Moniliales, familia forma Dematiaceae, género forma *Cercospora* (Roncal 2004).



**Fig.2.**Síntomas en hojas (A), y bayas (B) de *coffea arabica*; inducidos por *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke. (Scot 2008)

### **2.6.2. *Drechslera turcica* Pass.**

Éste patógeno origina manchas foliares fusiformes en maíz (*Zea mays* L.). Los síntomas primero se dejan ver como manchas pequeñas, ligeramente ovaladas y acuosas (CIMMYT 2004); luego se necrosan tornando una coloración pajiza y la forma fusiforme, rodado con un halo marrón claro a rojo, las manchas



aumentan de tamaño de 3 a 15 cm de longitud, excepcionalmente pueden llegar a medir 30cm (Roncal 2004).

Presenta conidióforos marrones, en su mayoría simples, que producen conidias individuales en el ápice a través de pequeños poros, que continúan de manera simultánea desde un punto debajo del ápice y luego forman una segunda espora en el nuevo ápice; conidias (porosporas) oscuras, multicelulares (fragmosporosas), cilíndricas, que germinan todas las células (Barnett y Hunter 1972). Las conidias miden de 130 a 105  $\mu\text{m}$  de largo por 18 - 20  $\mu\text{m}$  de ancho; el número de los septos varía de tres a ocho.; la base de la conidia presenta un hilio notorio (Roncal 2004).

Taxonómicamente pertenece a la Clase forma Deuteromycetes, orden forma Moniliales, familia forma Dematiaceae, género forma *Drechslera* (Roncal 2004).



**Fig.3.** Mancha foliar fusiforme en maíz (*Zea mays* L.), inducida por *Drechslera turcica* Pass.

### **2.6.3. *Phragmidium mucronatum* (Pers.) Schlecht**

Fitopatógono causante de la de roya en rosal (*Rosa canina* L.); ésta enfermedad es de amplia distribución geográfica, se manifiesta en plantas que crecen en zonas con humedad relativa mayor a 70%. Los síntomas se presentan como áreas cloróticas en el haz de las hojas, las cuales están relacionadas con las uredosporas del patógeno en el envés; posteriormente se observan pústulas de color amarillo intenso (fase uredo) a oscuro (fase telia) (Shattock y Rahbar bhatti 1983).

Es una roya autoica y macrocíclica, las aeciosporas son globosas y elipsoides, con la pared hialina equinulada y gruesa; miden 18-21  $\mu\text{m}$ , las uredosporas son elipsoides, equinuladas e hialinas que miden 14-20 x 12-18  $\mu\text{m}$ , las teliosporas son cilíndricas, con septos y mucronadas en el ápice; son de color pardo claro y miden 65-120 x 30-45  $\mu\text{m}$  (Melgarejo *et al.* 2010)

Taxonómicamente pertenece a la Clase Basidiomycetes, orden Pucciniales, familia Phragmidiaceae, género *Phragmidium* (Index Fungorum 2020)



**Fig.4.** Síntomas en hojas *Rosa canina* L., inducidos por *Phragmidium mucronatum* (Pers.) Schlecht

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación del trabajo de investigación

La investigación se desarrolló en campo y laboratorio.

En campo se recolectaron hojas de diferentes cultivos con manchas foliares, en diferentes sectores de la provincia de Cajamarca y Chota, cuyas coordenadas geográficas y altitudes son:

**Tabla 1.** Localización geográfica del lugar de colección de muestras

Lugar de colección de muestras	Altitud (msnm)	Coordenadas geográficas	
		Sur (S)	Oeste (W)
Cajamarca	2680	7°10'01"	78°29'36"
Chota	2407	6°38'43"	78°38'41"

En laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, se encuentra ubicado a 2680 msnm, en las coordenadas 7°10'06" de latitud sur y 78°29'42" Longitud oeste, a 3 Km de la carretera Cajamarca - Baños del Inca. Lugar donde se realizó la identificación de microorganismos y pruebas de antagonismo.

## **3.2. Materiales**

### **3.2.1. Material biológico**

Cepas del antagonista *Cladosporium* spp., y de los fitopatógenos *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke, *Drechslera turcica* Pass. y *Phragmidium mucronatum* (Pers.) Schlecht; extraídos de hojas con síntomas de manchas foliares y pústulas, de los siguientes cultivos:

Cafeto (*Coffea arabica* L.), lúcumo (*Pouteria lucuma* (Ruiz & Pav.), Kuntze), palto (*Persea americana* Mill.), níspero (*Eriobotrya japónica* (Thunb.), Lindl.), berenjena (*Cyphomandra betacea* (Cav), Sendt) tomatillo (*Physalis peruviana* L.), frambuesa (*Rubus idaeus* L.), maíz (*Zea mays* L.), avena (*Avena sativa* L.), frejol (*Phaseolus vulgaris* L.), arveja (*Pisum sativum* L.), haba (*Vicia faba* L.), chago (*Mirabilis expansa* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), betarraga (*Beta vulgaris* L.), acelga (*Beta vulgaris* L. var. cicla), repollo (*Brassica oleracea* L. var. capitata) y rosa (*Rosa canina* L.).

### **3.2.2. Materiales y equipos de laboratorio**

#### **a. Material de vidrio**

Láminas porta y cubre objetos, placas de Petri, matraz Erlenmeyer y tubos de ensayo de diferente capacidad.

#### **b. Equipos de esterilización y asepsia**

Autoclave, estufa, incubadora, cámara de flujo laminar, mecheros, pulverizador manual.

#### **c. Equipo óptico**

Lupa, estereoscopio, microscopio compuesto y cámara fotográfica.

#### **d. Desinfectantes**

Alcohol al 70%, hipoclorito de sodio al 2 %.

### **e. Medios de cultivo**

Papa, Dextrosa, Agar (PDA)

### **f. Otros materiales**

Rejilla de metal, espátula, balanza electrónica, pinzas, bisturí, jeringa hipodérmica N° 25, agujas MRO (modificación del asa de siembra), bata de protección, algodón, cinta masking, tapers de plástico, sorbetes de polietileno, papel aluminio, papel filtro.

### **3.2.3. Material de escritorio**

Libreta de apuntes, lapiceros, plumón indeleble, papel bond A4 de 80g, tijera, regla, fólder, computadora portátil.

## **3.3. Metodología**

### **3.3.1. Trabajo en campo**

Se recolectaron hojas de diferentes cultivos, con presencia de manchas foliares y pústulas; éstas se dispusieron en depósitos asépticos de plástico de 250 mL; para ser transportados al laboratorio de Fitopatología, y realizar los aislamientos de *Cladosporium* spp.

### **3.3.2. Trabajo en laboratorio**

#### **a. Preparación de cámaras húmedas**

Se utilizó depósitos de plástico de 50 mL, en cuyo fondo se colocó papel filtro húmedo con agua destilada estéril, que al ser tapado herméticamente genera condiciones de humedad relativa superior al 70 %; permitiendo el desarrollo del micelio de los microorganismos fungosos.

### **b. Obtención del signo fungoso**

Las hojas seleccionadas, se lavaron con agua destilada estéril, dejándose secar al ambiente en un depósito de cristal; posteriormente se seccionaron, obteniendo muestras de 3 cm<sup>2</sup> aproximadamente, con 50% de área muerta y 50% de área aparentemente sana; éstas se colocaron en la incubadora a 22 °C, de 12 a 24 horas, tiempo a partir del cual se realizaron las observaciones microscópicas, que determinaron la presencia de *Cladosporium* spp.



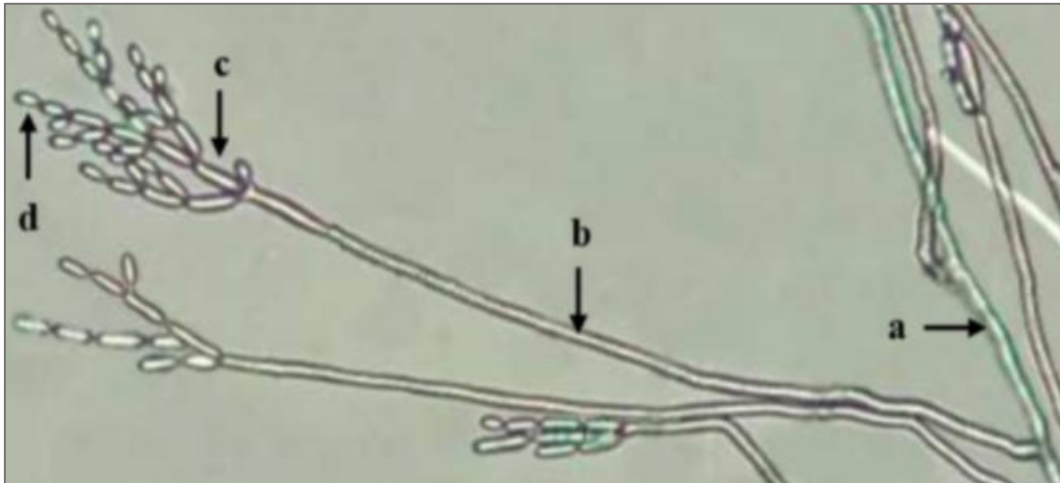
**Fig.5.**Cámaras húmedas para obtener signo fungoso.



**Fig.6.**Signo fungoso sobre una mancha foliar en cafeto (*Coffea arabica*).

### **c. Verificación de *Cladosporium* spp., vía morfológica**

Del signo obtenido en cámara húmeda se extrajeron porciones de micelio para ser observados a través del microscopio, verificándose presencia de conidióforos solitarios y multicelulares, con ramificación en el tercio superior, conidios catenulados bicelulares amorfos y unicelulares ovoides a circulares; estructuras que caracterizan a *Cladosporium* spp.



**Fig.7.** Estructuras somáticas que caracterizan a *Cladosporium* spp: hifas septadas (a), conidióforo (b); ramoconidios (c); conidios terminales multiformes (d).

#### **d. Aislamiento, purificación y conservación de *Cladosporium* spp.**

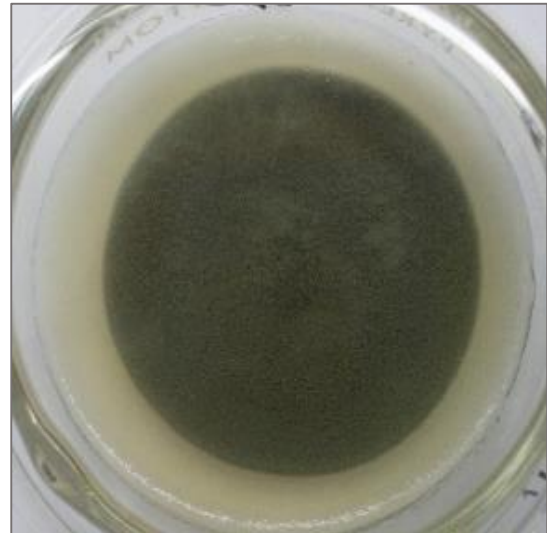
Se realizó bajo condiciones asépticas; utilizando el estereoscopio, se visualizó el signo de *Cladosporium* spp., que prosperó en las cámaras húmedas respectivas; haciendo uso de la aguja MRO, la esfera del ápice de la aguja hace contacto con la zona esporífera del moho, con la finalidad de adherir inóculo (conidios), para ser sembrado en PDA.

La siembra se realizó en cinco espacios de cada placa de Petri; se incubó a 22 °C, realizándose las observaciones a 24, 48 y 72 horas, tiempo que permite extraer inóculo libre de contaminantes comunes.

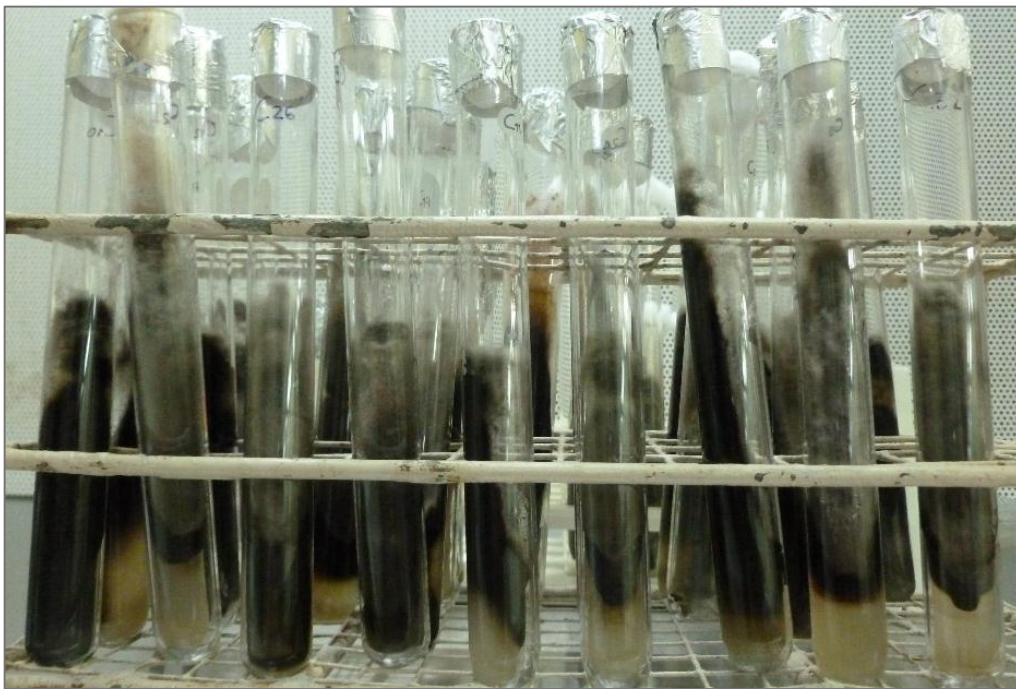
Las cepas de *Cladosporium* spp., aisladas y purificadas, se conservaron en PDA, en tubos de ensayo en plano inclinado; para este proceso se realizó lo siguiente: se esterilizó 35 tubos de ensayo de 16 x 150 mm durante una hora, posteriormente en la cámara de flujo laminar, se vertió seis mL de PDA en los tubos de ensayo, se selló con algodón y papel aluminio, dejando enfriar para solidificar el medio. De las cepas previamente purificadas, se extrajo micelio con el asa de siembra y fue depositado en la parte central del medio PDA en plano inclinado.



**Fig.8.**Micelio de *Cladosporium* spp., después de la siembra del inóculo, obtenido en cámara húmeda.



**Fig.9.**Micelio puro de *Cladosporium* spp., siembra monospórica.



**Fig.10.**Conservación de 35 cepas de *Cladosporium* spp., en medio PDA en plano inclinado.



### 3.3.3. Ensayo preliminar de antagonismo de 35 cepas de *Cladosporium* spp., a *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke y *Drechslera turcica* Pass. en condiciones “*in vitro*”

Para determinar el efecto antagónico de las cepas de *Cladosporium* spp., a *Cercospora coffeicola* (mancha foliar en cafeto) y *Drechslera turcica* (mancha foliar en maíz), se utilizó el método de “**cultivos duales**”; que consiste en enfrentar al microorganismo antagónico y al patógeno (Fig. 8).

En placas de Petri de (55 x 14 mm) con medio PDA, en forma individual se sembraron cada una de las cepas de *Cladosporium* spp., frente a los fitopatógenos foliares, *C. coffeicola* y *D. turcica*. La siembra del antagónico y el fitopatógeno se realizó a un centímetro de distancia de las partes laterales de la placa. Luego se colocaron en una cámara de cristal aséptica, a temperatura que oscila entre 18 y 22 °C, durante 216 horas (9 días).

Pasado 72 horas (3 días) después de la siembra, se inició las evaluaciones del efecto antagónico, para separar aquellas cepas que mostraron mayor porcentaje de inhibición del crecimiento radial del micelio, aplicando la fórmula utilizada por Skidmore y Dickinson (1976):

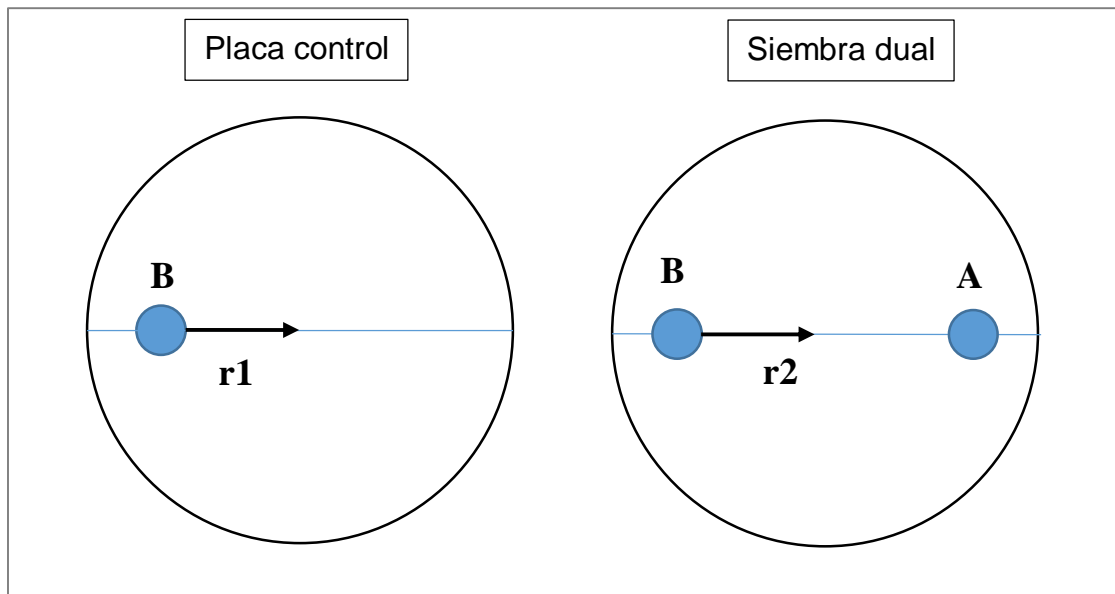
$$\text{PIC} = [(r1 - r2 / r1) \times 100]$$

Leyenda:

**PIC**= porcentaje de inhibición de crecimiento radial.

**r1** = Crecimiento radial del testigo (fitopatógeno sin antagonista).

**r2** = Crecimiento radial del patógeno, en orientación directa al crecimiento del antagonista (cultivo dual).



**Fig.11.**Esquema del método de cultivos duales en la placa de Petri, donde: **(A)** = Antagonista y **(B)**=.Patógeno

### **3.3.4. Ensayo preliminar de antagonismo de 35 cepas de *Cladosporium* spp., a *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht en condiciones “en vivo”**

Para determinar las cepas de *Cladosporium* spp., con propiedades de parasitismo a *Phragmidium mucronatum* (roya en rosal), se separaron hojas, con el signo roya y con ayuda del estereoscopio se seleccionaron folíolos que tenían de 40 a 60 puntos de infección con 50 pústulas notorias, que corresponde a la fase Uredo.

Los 35 folíolos seleccionados se lavaron con agua corriente y se enjuagaron con agua destilada estéril y se dejó secar al ambiente. Los folíolos así tratados se colocaron en cámaras húmedas de 50 mL de capacidad, sobre discos papel filtro húmedo, para dar condiciones que prospere el antagonista.

De cada cepa de *Cladosporium* spp.; se preparó una suspensión de conidios y se asperjaron sobre los folíolos de rosa con roya, las muestras se taparon herméticamente y se colocaron en la cámara de cristal aséptica a temperatura variable entre 18 y 22 °C.

Las evaluaciones se realizaron, cada 24 horas después de la inoculación, contabilizando el número de pústulas con presencia del antagonista, durante 144 horas (seis días).



**Fig.12.** Uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht, parasitadas por *Cladosporium* spp.



**Fig.13.** Uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht, libre del antagonista *Cladosporium* spp.

### **3.3.5. Ensayos de antagonismo de cuatro cepas (C2, C11, C17 y C24) de *Cladosporium* spp., a *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke en condiciones “in vitro”**

Para este ensayo se utilizó las cepas C2, C11, C17 y C24 frente a *Cercospora coffeicola*, estos, se enfrentaron a través de método de “**cultivos duales**”. Evaluando el porcentaje de inhibición de crecimiento radial por un periodo de 216 horas (9 días).

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro tratamientos más un testigo y cuatro repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió en una placa de Petri (tabla 2)

**Tabla 2.** Tratamientos de antagonismo de las cepas C2, C11, C17 y C24 de *Cladosporium* spp., frente a *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke

Tratamiento	Clave	Descripción
T0	Testigo	<i>Cercospora coffeicola</i> , sin antagonista
T1	C2. Cc	<i>Cladosporium</i> C2 más <i>Cercospora coffeicola</i>
T2	C11. Cc	<i>Cladosporium</i> C11 más <i>Cercospora coffeicola</i>
T3	C17. Cc	<i>Cladosporium</i> C17 más <i>Cercospora coffeicola</i>
T4	C24. Cc	<i>Cladosporium</i> C24 más <i>Cercospora coffeicola</i>

### 3.3.6. Ensayos de antagonismo de cuatro cepas (C2, C11, C26 y C34) de *Cladosporium* spp., a *Drechslera turcica* Pass. en condiciones “*in vitro*”

Se utilizó los aislamientos C2, C11, C26 y C34 frente a *Drechslera turcica*, éstos, se enfrentaron a través de método de “cultivos duales”. Evaluando el porcentaje de inhibición de crecimiento radial por un periodo de 216 horas (9 días).

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro tratamientos más un testigo y cuatro repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió en una placa de Petri (tabla 3).

**Tabla 3.** Tratamientos de antagonismo de las cepas (C2, C11, C26 y C34) de *Cladosporium* spp., frente a *Drechslera turcica* Pass.

Tratamiento	Clave	Descripción
T0	Testigo	<i>Drechslera turcica</i> sin antagonista
T1	C2. Dt	<i>Cladosporium</i> C2 más <i>Drechslera turcica</i>
T2	C11. Dt	<i>Cladosporium</i> C11 más <i>Drechslera turcica</i>
T3	C26. Dt	<i>Cladosporium</i> C26 más <i>Drechslera turcica</i>
T4	C34. Dt	<i>Cladosporium</i> C34 más <i>Drechslera turcica</i>

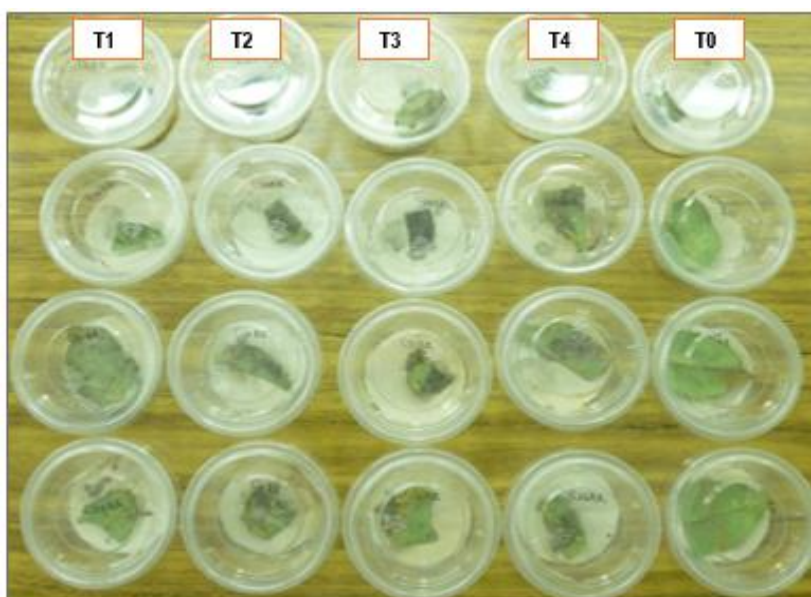
### 3.3.7. Ensayos de antagonismo de cuatro cepas (C9, C24, C26 y C31) de *Cladosporium* spp., a *Phragmidium mucronatum* (Pers.) Schlecht. en condiciones “en vivo”

En este ensayo se utilizaron foliolos de rosa con pústulas de *Phragmidium mucronatum*, inoculados con las cepas C9, C24, C26 y C31 de *Cladosporium* spp., las evaluaciones se realizaron contabilizando el número de pústulas afectadas por *Cladosporium* spp., durante 144 horas (seis días).

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro tratamientos más un testigo y cuatro repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió en una cámara húmeda con un foliolo de rosa con 50 pústulas (tabla 4 y fig. 11).

**Tabla.4.** Tratamientos de antagonismo de las cepas C9, C24, C26 y C31 de *Cladosporium* spp., frente a *Phragmidium mucronatum* (Pers.) Schlecht.

Tratamiento	Clave	Descripción
T0	Testigo	<i>Phragmidium mucronatum</i> , sin antagonista.
T1	C9. Pm	<i>Phragmidium mucronatum</i> , inoculadas con <i>Cladosporium</i> C9
T2	C24. Pm	<i>Phragmidium mucronatum</i> , inoculadas con <i>Cladosporium</i> C24
T3	C26. Pm	<i>Phragmidium mucronatum</i> , inoculadas con <i>Cladosporium</i> C26
T4	C31. Pm	<i>Phragmidium mucronatum</i> , inoculadas con <i>Cladosporium</i> C31



**Fig.14.** Distribución de tratamientos de antagonismo; cepas (C9, C24, C26 y C31) de *Cladosporium* spp., frente a *Phragmidium mucronatum* (Pers.) Schlecht.

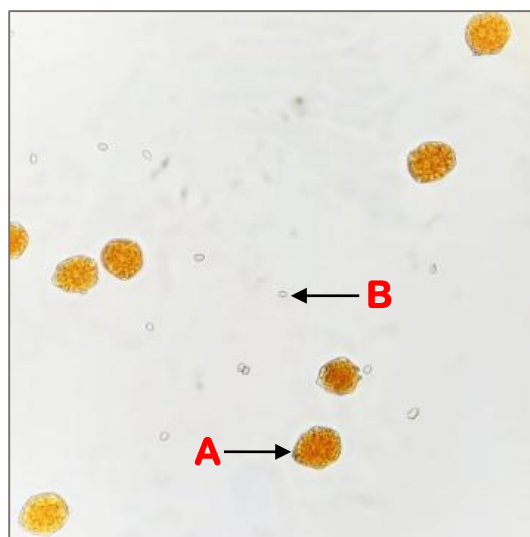
### 3.3.8. Ensayo de parasitismo de *Cladosporium* spp., en uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht., en una gota de agua

Para realizar este ensayo, se preparó asépticamente cuatro placas de Petri, porta y cubre objetos, agua destilada estéril, sorbetes nuevos de polietileno y jeringas con aguja hipodérmica N° 25.

En cada porta objetos se colocó una gota de agua, sobre la cual se dispusieron uredosporas de *P. mucronatum*, sobre ésta, con ayuda de la aguja MRO, se dejaron conidios de *Cladosporium* spp., luego se cubrió con la cubre objetos; la muestra preparada se colocó sobre el triángulo de polietileno en la placa de Petri, que contenía agua destilada estéril; éstas, se colocaron en la cámara de cristal aséptica a temperatura entre 18 y 22 °C, observándose a 24, 48 y 72 horas.



**Fig. 15.**Placas de Petri con porta objeto, con uredosporas de *Phragmidium mucronatum* y conidios de *Cladosporium* spp.



**Fig.16.**Vista al microscopio de Uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (A), y conidios de *Cladosporium* spp., (B).

### 3.3.9. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos del porcentaje de inhibición de crecimiento radial y porcentaje de pústulas parasitadas, por *Cladosporium* spp., se utilizaron para realizar el análisis de varianza (ANOVA); cuando éste indicó, diferencias significativas entre tratamientos, se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan al 5%, utilizando el paquete estadístico (InfoStat/L 2018)

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 4.1. Aislamientos de cepas de *Cladosporium* spp., antagonicos a fitopatógenos fungosos foliares

Se aislaron 35 cepas de *Cladosporium* spp, de manchas foliares de diferentes cultivos, considerando el reporte de Blakeman y Fokkema (1982), quienes mencionan, que este género es un habitante común en las partes aéreas de las plantas y algunas especies tienen comportamiento antagonista.

**Tabla 5.** Aislamientos de *Cladosporium* spp., en manchas foliares de diferentes hospederos

Aislamiento	Hospedero
<i>Cladosporium</i> sp. C1	Mancha foliar en palto ( <i>Persea americana</i> Mill.)
<i>Cladosporium</i> sp. C2	Mancha foliar en arveja ( <i>Pisum sativum</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C3	Mancha foliar en frejol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C4	Mancha foliar en frejol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C5	Mancha foliar en repollo ( <i>Brassica oleracea</i> var. capitata L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C6	Mancha foliar en repollo ( <i>Brassica oleracea</i> var. capitata L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C7	Mancha foliar en repollo ( <i>Brassica oleracea</i> var. capitata L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C8	Mancha foliar en acelga ( <i>Beta vulgaris</i> var. cicla L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C9	Mancha foliar en acelga ( <i>Beta vulgaris</i> var. cicla L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C10	Mancha foliar en quinua ( <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.)
<i>Cladosporium</i> sp. C11	Mancha foliar en betarraga ( <i>Beta vulgaris</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C12	Mancha foliar en haba ( <i>Vicia faba</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C13	Mancha foliar en haba ( <i>Vicia faba</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C14	Mancha foliar en avena ( <i>Avena sativa</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C15	Mancha foliar en lúcumo ( <i>Pouteria lucuma</i> (Ruiz & Pav.), Kuntze)
<i>Cladosporium</i> sp. C16	Mancha foliar en lúcumo ( <i>Pouteria lucuma</i> (Ruiz & Pav.), Kuntze)
<i>Cladosporium</i> sp. C17	Mancha foliar en níspero ( <i>Eriobotrya japónica</i> (Thunb.), Lindl.)
<i>Cladosporium</i> sp. C18	Mancha foliar en níspero ( <i>Eriobotrya japónica</i> (Thunb.), Lindl.)
<i>Cladosporium</i> sp. C19	Mancha foliar en acelga ( <i>Beta vulgaris</i> var. cicla)
<i>Cladosporium</i> sp. C20	Mancha foliar en papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)

Aislamiento	Hospedero
<i>Cladosporium</i> sp. C21	Mancha foliar en taya ( <i>Tara spinosa</i> Mol.)
<i>Cladosporium</i> sp. C22	Mancha foliar en taya ( <i>Tara spinosa</i> Mol.)
<i>Cladosporium</i> sp. C23	Mancha foliar en avena ( <i>Avena sativa</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C24	Mancha foliar en cafeto ( <i>Coffea arabica</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C25	Mancha foliar en frambuesa ( <i>Rubus idaeus</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C26	Mancha foliar en berenjena ( <i>Cyphomandra betacea</i> (Cav), Sendt)
<i>Cladosporium</i> sp. C27	Mancha foliar en berenjena ( <i>Cyphomandra betacea</i> (Cav), Sendt)
<i>Cladosporium</i> sp. C28	Mancha foliar en chago ( <i>Mirabilis expansa</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C29	Mancha foliar en chago ( <i>Mirabilis expansa</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C30	Mancha foliar en chago ( <i>Mirabilis expansa</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C31	Pústula de roya ( <i>Phragmidium mucronatum</i> ), en rosa ( <i>Rosa canina</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C32	Mancha foliar en tomatillo ( <i>Physalis peruviana</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C33	Mancha foliar en tomatillo ( <i>Physalis peruviana</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C34	Mancha foliar en maíz ( <i>Zea mays</i> L.)
<i>Cladosporium</i> sp. C35	Mancha foliar en haba ( <i>Vicia faba</i> L.)

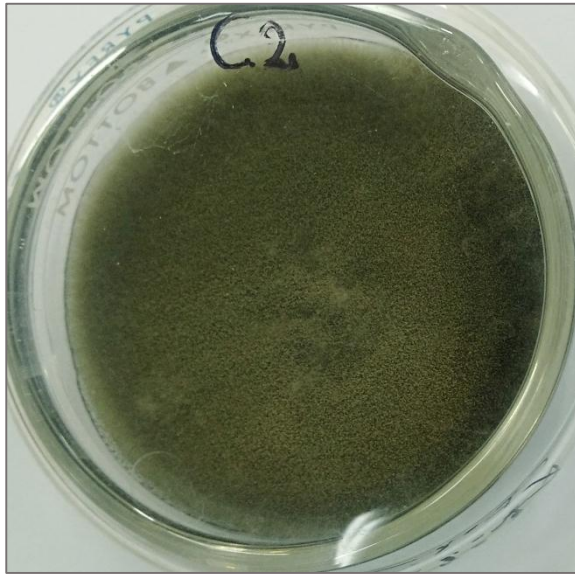
#### **4.2. Acción inhibitoria de 35 cepas de *Cladosporium* spp., frente a *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke y *Drechslera turcica* Pass. en condiciones “*in vitro*”**

En la tabla 6, se sintetiza el porcentaje de inhibición del crecimiento radial, del micelio de *Cercospora coffeicola* y *Drechslera turcica*, ocasionado por los metabolitos de algunas cepas de *Cladosporium* spp.; de los cuales seleccionamos a C2, C11, C17 y C24 como promisorios antagónicos, ante el crecimiento y desarrollo de *C. coffeicola* y los aislamientos C2, C11, C26 y C34 contra *D. turcica*. Las cepas antagonistas seleccionadas, presentaron características morfológicas diferentes; evidenciándose en las figuras (18, 20, 22, 24, 26 y 28) respectivamente.

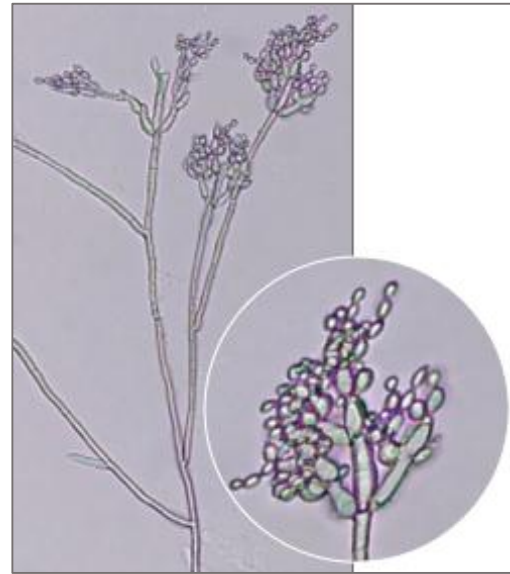


**Tabla 6.** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PCI) del micelio de *Cercospora coffeicola* (Berk. & Cke) y *Drechslera turcica* Pass. Frente a *Cladosporium* spp., en cultivos duales.

N°	Cepas	Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de micelio (PIC) de <i>Cercospora coffeicola</i> frente a <i>Cladosporium</i> spp.			Cepas	Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de micelio (PIC) de <i>Drechslera turcica</i> frente a <i>Cladosporium</i> spp.		
		(r1)	(r2)	PIC		(r1)	(r2)	PIC
1	C11	2.40	1.10	54.17	C11	3.5	2	42.86
2	C24	2.40	1.15	52.08	C34	3.3	1.9	42.42
3	C2	2.40	1.20	50.00	C2	3.1	1.8	41.94
4	C17	2.60	1.60	38.46	C26	3	1.8	40.00
5	C6	2.00	1.30	35.00	C23	2.9	1.8	37.93
6	C3	2.50	1.70	32.00	C31	2.9	1.8	37.93
7	C9	2.00	1.40	30.00	C35	2.9	1.8	37.93
8	C28	2.00	1.40	30.00	C8	3	1.9	36.67
9	C15	2.10	1.50	28.57	C12	3	1.9	36.67
10	C4	2.20	1.60	27.27	C25	3	1.9	36.67
11	C18	2.60	1.90	26.92	C13	2.5	1.6	36.00
12	C20	1.90	1.40	26.32	C21	2.8	1.8	35.71
13	C32	1.90	1.40	26.32	C22	2.1	1.4	33.33
14	C33	1.60	1.20	25.00	C3	2.3	1.6	30.43
15	C1	2.00	1.50	25.00	C27	3	2.1	30.00
16	C14	2.00	1.50	25.00	C6	2.5	1.8	28.00
17	C25	2.00	1.50	25.00	C33	2.9	2.1	27.59
18	C29	2.00	1.50	25.00	C10	2.6	1.9	26.92
19	C22	2.10	1.60	23.81	C7	2.5	1.9	24.00
20	C5	1.70	1.30	23.53	C9	2.5	1.9	24.00
21	C23	1.70	1.30	23.53	C5	2.2	1.7	22.73
22	C26	1.70	1.30	23.53	C4	2.1	1.7	19.05
23	C10	1.80	1.40	22.22	C24	2.2	1.8	18.18
24	C21	1.80	1.40	22.22	C19	1.7	1.4	17.65
25	C35	1.80	1.40	22.22	C16	1.9	1.6	15.79
26	C13	1.90	1.50	21.05	C28	1.9	1.6	15.79
27	C30	1.90	1.50	21.05	C1	2	1.7	15.00
28	C31	1.90	1.50	21.05	C30	1.6	1.4	12.50
29	C12	2.00	1.60	20.00	C29	1.7	1.5	11.76
30	C8	1.60	1.30	18.75	C17	1.9	1.7	10.53
31	C27	1.60	1.30	18.75	C32	2.1	1.9	9.52
32	C7	1.70	1.40	17.65	C18	1.7	1.6	5.88
33	C19	1.70	1.40	17.65	C14	1.6	1.6	0.00
34	C16	1.60	1.40	12.50	C20	1.6	1.6	0.00
35	C34	1.60	1.40	12.50	C15	1.6	1.7	-6.25



**Fig.17.** Micelio de *Cladosporium* sp., cepa C2, de color verde petróleo en medio PDA,



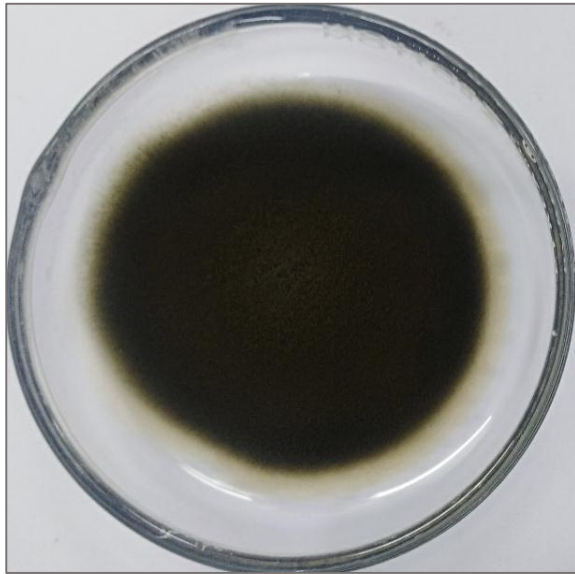
**Fig.18.** Hifa, conidióforos con ramificación terminal, y conidios ovoides alargados en cadena (C2).



**Fig.19.** Micelio de *Cladosporium* sp., cepa.C11, de color verde petróleo oscuro en medio PDA.



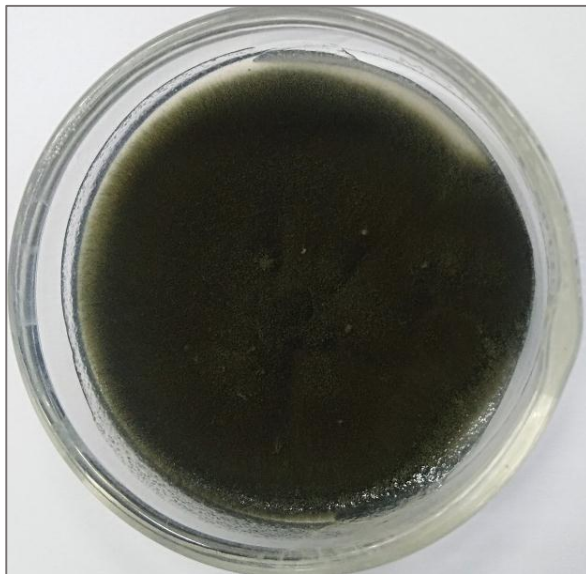
**Fig.20.** Hifa, conidióforos con ramificación terminal, conidios ovoides en cadena (C11).



**Fig.21.**Micelio de *Cladosporium* sp., cepa C17, de color verde oscuro a negro en medio PDA.



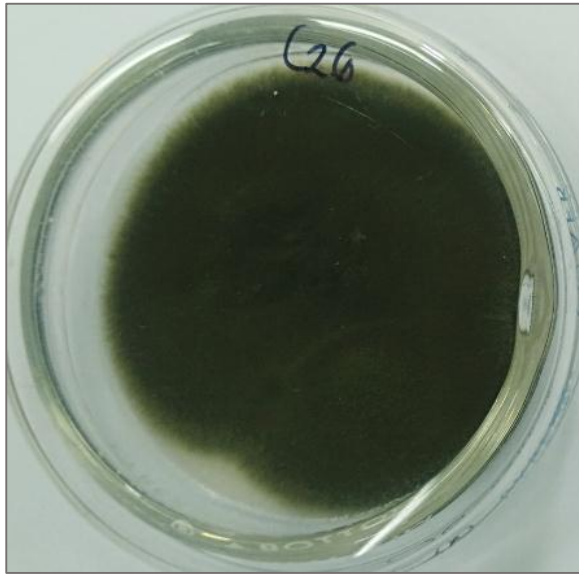
**Fig.22.**Hifa, conidióforos largos con ramificación terminal, conidios cilíndricos y ovoides en cadena (C17).



**Fig. 23.**Micelio de *Cladosporium* sp., cepa C24, de color verde oscuro, en medio PDA.



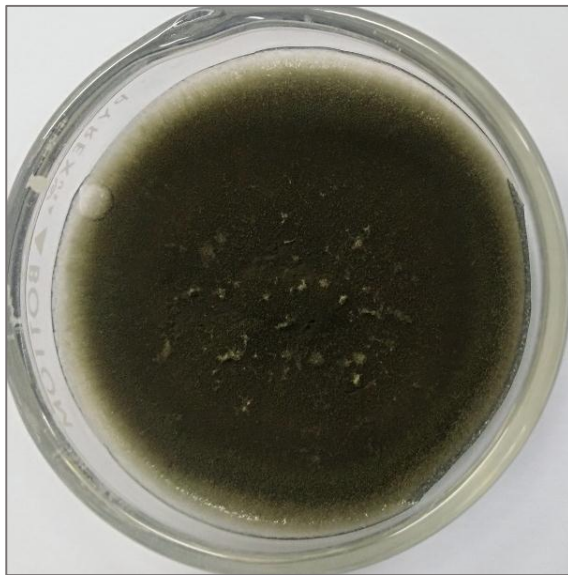
**Fig.24.**Hifa, conidióforos largos con ramificación terminal, conidios cilíndricos en cadena. (C24).



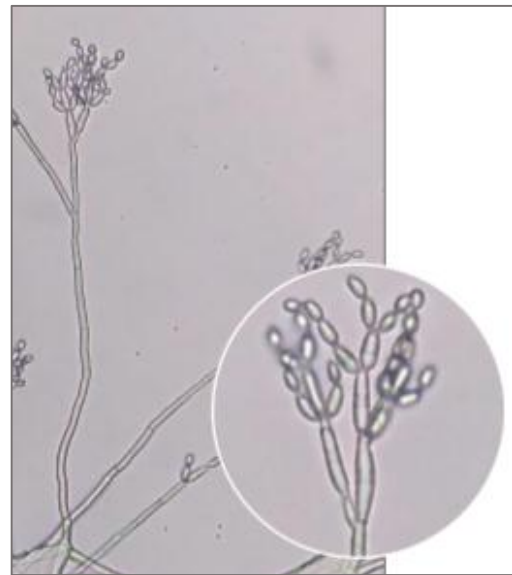
**Fig.25.** Micelio de *Cladosporium* sp., cepa C26, de color verde petróleo negro en medio PDA.



**Fig.26.** Hifa, conidióforos cortos con poca ramificación terminal, conidios ovoides y esféricos en cadena (C26).



**Fig.27.** Micelio de *Cladosporium* sp., cepa C34, de color verde petróleo en medio PDA.



**Fig.28.** Hifa, conidióforos con ramificación terminal, conidios ovoides cilíndricos uni y bicelulares, en cadena (C34).

#### 4.3. Uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht, parasitadas por 35 cepas de *Cladosporium* spp.

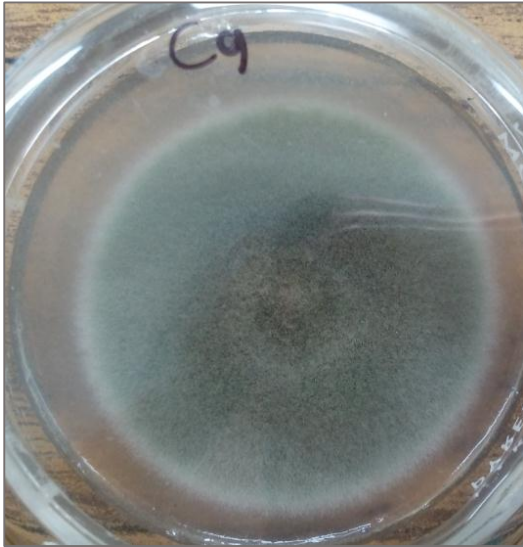
En la tabla 7, se muestra el efecto de parasitismo de las cepas de *Cladosporium* spp., asperjadas sobre pústulas de la roya en rosa (fase uredo), causado por *Phragmidium mucronatum*.

**Tabla 7.** Pústulas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht, en *Rosa canina* afectadas por cepas de *Cladosporium* spp.

N°	Cepas	Evaluaciones de pústulas de <i>Phragmidium mucronatum</i> , afectadas por las cepas de <i>Cladosporium</i> spp., en un periodo de 6 días (144 horas)											
		N° de Pústulas						% Pústulas					
		24h	48h	72h	96h	120h	144h	24h	48h	72h	96h	120h	144h
1	C24	11	14	16	40	50	50	22	28	32	80	100	100
2	C31	5	9	12	24	31	47	10	18	24	48	62	94
3	C26	6	9	12	37	41	46	12	18	24	74	82	92
4	C9	5	8	14	29	39	44	10	16	28	58	78	88
5	C2	1	2	7	20	28	41	2	4	14	40	56	82
6	C11	0	1	6	17	28	41	0	2	12	34	56	82
7	C18	0	0	4	15	27	41	0	0	8	30	54	82
8	C3	1	1	8	19	26	40	2	2	16	38	52	80
9	C10	1	1	5	18	26	40	2	2	10	36	52	80
10	C16	0	0	3	13	26	40	0	0	6	26	52	80
11	C17	2	2	7	19	27	40	4	4	14	38	54	80
12	C4	0	0	3	12	20	39	0	0	6	24	40	78
13	C6	0	0	3	11	20	39	0	0	6	22	40	78
14	C23	0	0	4	13	21	39	0	0	8	26	42	78
15	C34	0	1	6	12	24	39	0	2	12	24	48	78
16	C8	0	0	5	11	22	38	0	0	10	22	44	76
17	C15	0	1	7	14	25	38	0	2	14	28	50	76
18	C22	0	1	7	14	25	38	0	2	14	28	50	76
19	C28	0	1	8	15	23	38	0	2	16	30	46	76
20	C7	0	1	5	11	21	37	0	2	10	22	42	74
21	C29	0	2	6	12	24	37	0	4	12	24	48	74
22	C30	0	1	6	13	25	36	0	2	12	26	50	72
23	C1	0	0	3	7	15	35	0	0	6	14	30	70
24	C14	0	0	4	12	19	34	0	0	8	24	38	68
25	C32	0	1	5	12	22	34	0	2	10	24	44	68
26	C27	0	1	5	12	20	33	0	2	10	24	40	66
27	C33	0	1	6	17	22	33	0	2	12	34	44	66
28	C5	0	1	8	16	27	32	0	2	16	32	54	64
29	C21	0	1	3	10	20	32	0	2	6	20	40	64
30	C25	0	1	2	11	19	32	0	2	4	22	38	64
31	C13	0	1	5	13	19	31	0	2	10	26	38	62
32	C35	0	0	2	9	17	31	0	0	4	18	34	62
33	C12	0	0	3	14	23	28	0	0	6	28	46	56
34	C20	0	0	3	12	23	27	0	0	6	24	46	54
35	C19	0	0	2	10	15	25	0	0	4	20	30	50

En las evaluaciones realizadas a partir de las 24horas, durante 144 horas; destacan las cepas C9, C24, C26 y C31; éstas, muestran características morfológicas diferentes (Fig. 24, 26, 30 y 32), además alcanzaron los porcentajes

más altos de pústulas afectadas en la fase Uredo, entre el 88 y 100 %. Evidenciándose el parasitismo por la desaparición total de uredosporas. En un segundo grupo de parasitismo se tiene a 28 cepas, con un porcentaje de 62 a 82 % de pústulas afectadas; en orden correlativo van del número 5 al 32 (tabla 7). En tercer lugar, se encuentran las cepas C12, C20 y C19; cuya colonización de uredosporas fue de 50 a 56 %.



**Fig.29.** Micelio de *Cladosporium* sp., cepa C9, de color verde claro en medio PDA.



**Fig.30.** Hifa, conidióforos largos, con ramificación terminal, conidios ovoides circulares en cadena. (C9).



**Fig.31.** Micelio de *Cladosporium* sp., cepa C31, de color verde en medio PDA.



**Fig.32.** Hifa, conidióforos, ramificación terminal, conidios ovoides en cadena (C31).

#### 4.4. Acción inhibitoria de las cepas C2, C11, C17 y C24, de *Cladosporium* spp., a *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke en condiciones “in vitro”

En la Tabla 8, Se observa que existe alta significación estadística para las cepas de *Cladosporium* spp.; dado que la *F calculada* es superior a las *F tabulares* a las probabilidades de 5 % y 1 % respectivamente; lo cual indica que las cepas aisladas de *Cladosporium* spp., difieren uno del otro, respecto a la inhibición de *C. Coffeicola*.

El coeficiente de variación (CV= 5.53 %), indica la variación en el porcentaje de inhibición en las repeticiones de cada cepa empleada, además para las condiciones que se realizó el experimento, es adecuado; estando en un rango de aceptación, para trabajos en condiciones de laboratorio.

Al realizar la prueba de rango múltiple de Duncan al 5 % de probabilidad, para el efecto de inhibición de cuatro cepas diferentes de *Cladosporium* spp., frente a *C. coffeicola* (Tabla 9 y Fig.33), indica, que las cepas C11 y C24 con 60.76% y 57.41% de inhibición respectivamente, son estadísticamente iguales y superiores al resto, seguido por la cepa C2, con 56.94 % de inhibición, asimismo el C17, tiene el menor porcentaje antagonismo con 42.11%. Los resultados numéricos indican que la cepa C11, muestra mayor efectividad en la inhibición del crecimiento micelial de *C. coffeicola*; esto se debe probablemente a la producción de metabolitos de diferente composición química (Roncal *et al.*1991).

**Tabla 8.** Análisis de varianza (ANOVA) para el efecto de inhibición del crecimiento del micelio de *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke, frente a *Cladosporium* spp.

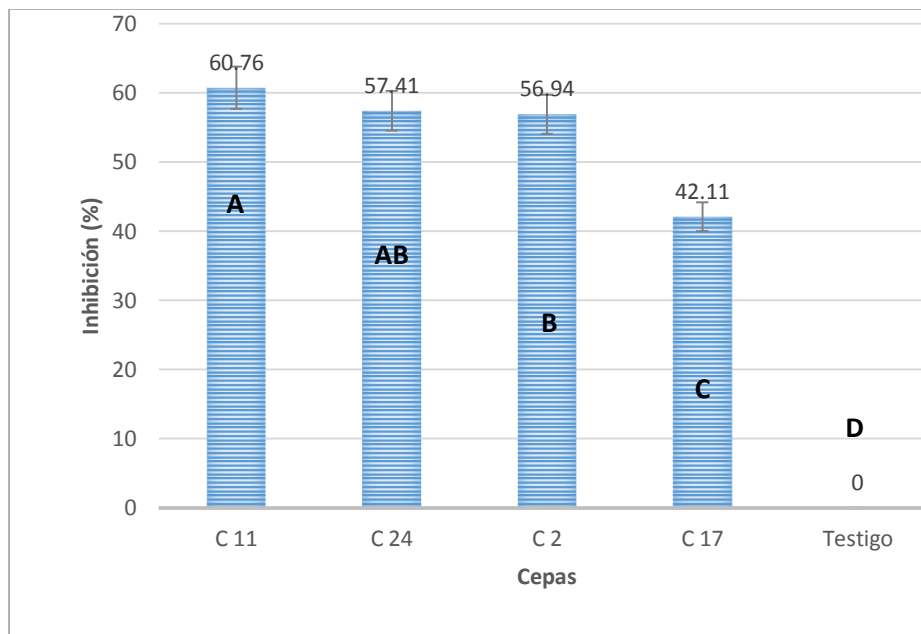
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculado	F tabular	
					5%	1%
Cepas	4	10264.78	2566.2	444.63 **	3.06	4.89
Error	15	86.57	5.77			
Total	19	10351.35				

Altamente significativo (\*\*)

CV = 5.53 %

**Tabla 9.** Prueba de rango múltiple de Duncan al 5 % de probabilidad para el efecto de cuatro cepas de *Cladosporium* spp., contra *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke

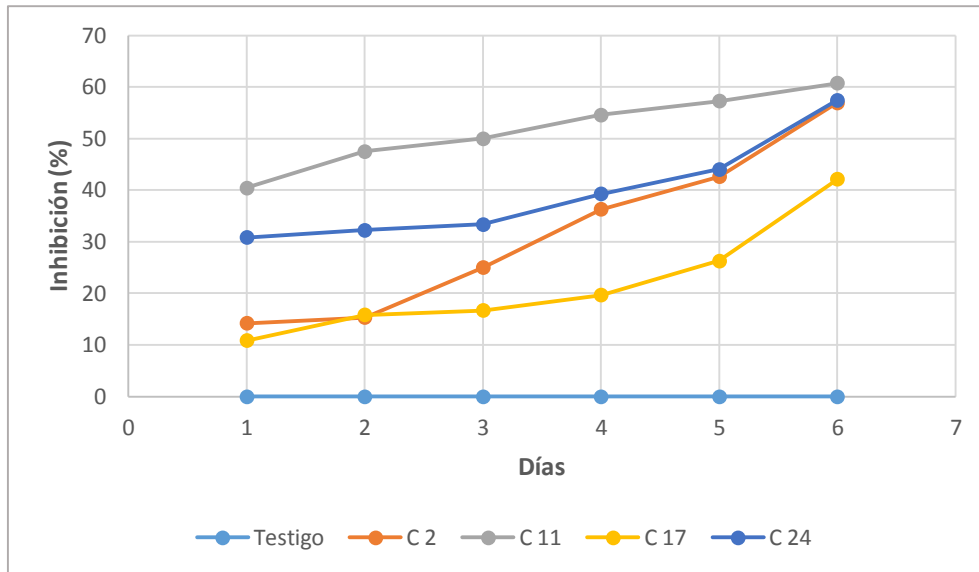
Cepas	Inhibición (%)	Agrupación por Duncan al 5 %			
C 11	60.76	A			
C 24	57.41	A	B		
C 2	56.94		B		
C 17	42.11			C	
Testigo	0				D



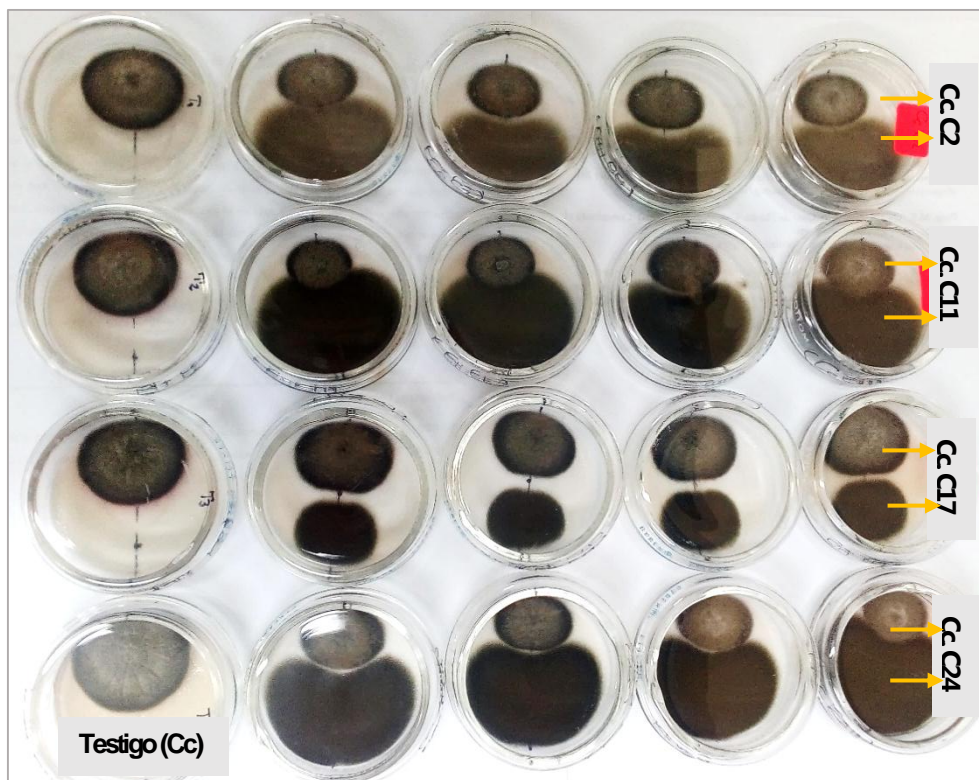
**Fig.33.** Inhibición de crecimiento radial, del micelio de *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke frente a cuatro cepas de *Cladosporium* spp.

En la Figura 34, se observa la inhibición que ejerce el antagonista *Cladosporium* spp., (C2, C11, C17 y C24) en el crecimiento micelial de *C. coffeicola* en función a los días; éstos aislamientos presentan una tendencia creciente, diferente al testigo; indicando que el efecto inhibitorio incrementa a medida que pasan los días. Así mismo en la figura 35, en la siembra de **cultivos duales**, se puede apreciar, que el antagonismo se ejerce a través de diversos mecanismos de acción: **(a)** antibiosis, observándose claramente en la cepa C17 y **(b)** competencia por nutrientes y espacio, en las cepas C11, C2 y C24; en ambos casos el antagonista detiene el crecimiento micelial del fitopatógeno; en comparación con el testigo que continúa su desarrollo.





**Fig.34.**Inhibición del crecimiento micelial de *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke frente a *Cladosporium* spp., en función de los días evaluados.



**Fig.35.**Efecto del antagonista *Cladosporium* spp. (C2, C11, C17 y C24) en el fitopatógeno *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke (Cc), en cultivos duales.

#### 4.5. Acción inhibitoria de las cepas C2, C11, C26 y C34 de *Cladosporium* spp., a *Drechslera turcica* Pass. en condiciones “*in vitro*”

En la Tabla 10, Se observa que existe alta significación estadística para las cepas de *Cladosporium* spp., dado que el *F calculado* es superior a la *F tabulares* a las probabilidades del 5 y 1 %, respectivamente; Este resultado indica que las cepas aisladas de *Cladosporium* spp, se diferencian significativamente, respecto a inhibición *D. turcica*.

El coeficiente de variación (CV = 7.39 %), indica la variación en el porcentaje de inhibición en las repeticiones de cada cepa empleada, además para las condiciones en que se realizó el experimento, es adecuado; estando en un rango de aceptación, para trabajos en condiciones de laboratorio.

La prueba de rango múltiple de Duncan al 5 % de probabilidad para el efecto de las cepas de *Cladosporium* spp frente a *D. turcica* (Tabla 11, y Fig. 36), indica que los porcentajes de inhibición obtenidos con las cepas C11 (46.66 %), C34 (46.03 %), C2 (45.48 %) y C26 (42.89 %), son estadísticamente iguales, pero numéricamente diferentes; destacando C11. Este resultado indica que, para controlar biológicamente a *D. turcica*, se puede usar cualquiera de estas cepas.

**Tabla 10.** Análisis de varianza (ANOVA) para el efecto de inhibición de crecimiento radial del micelio de *Drechslera turcica* Pass., frente a *Cladosporium* spp.

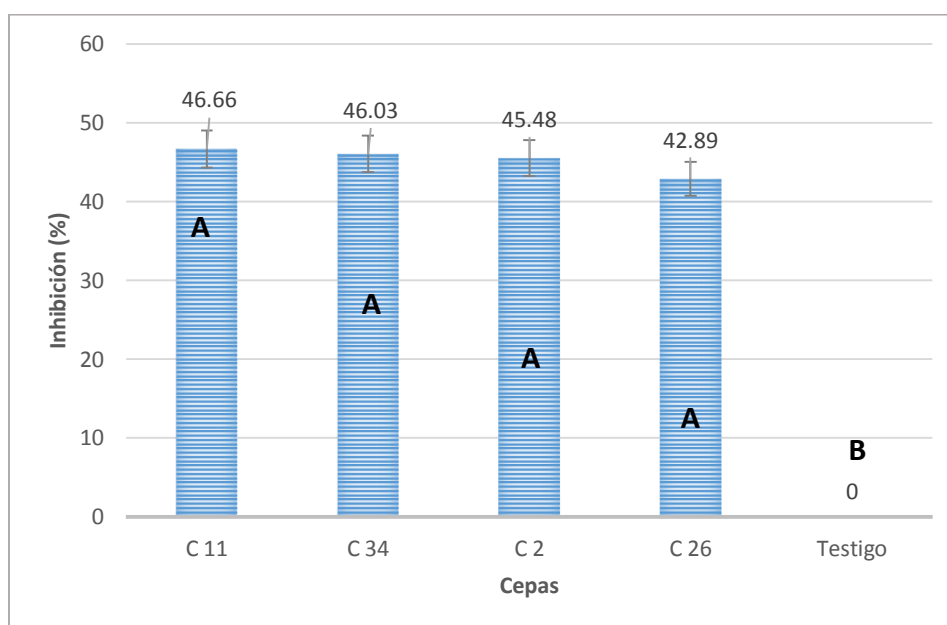
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculado	F tabular	
					5%	1%
Cepas	4	6589.35	1647.34	229.85 **	3.06	4.89
Error	15	107.51	7.17			
Total	19	6696.86				

Altamente significativo (\*\*)

CV = 7.39 %

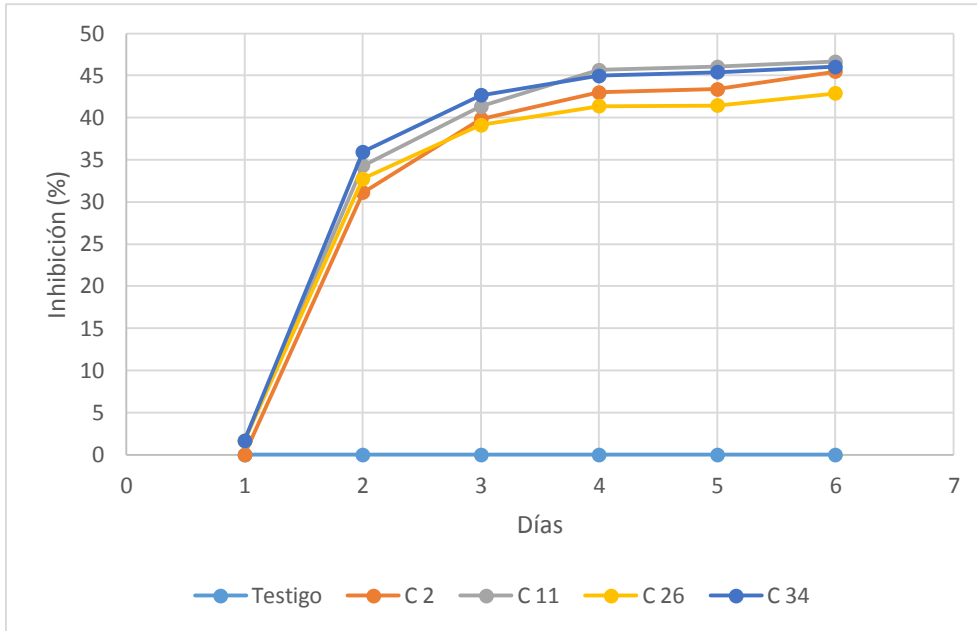
**Tabla 11.** Prueba de rango múltiple de Duncan al 5 % de probabilidad para el efecto de las cepas de *Cladosporium* spp., contra *Drechslera turcica* Pass.

Cepas	Inhibición (%)	Agrupación por Duncan al 5 %
C 11	46.66	A
C 34	46.03	A
C 2	45.48	A
C 26	42.89	A
Testigo	0	B

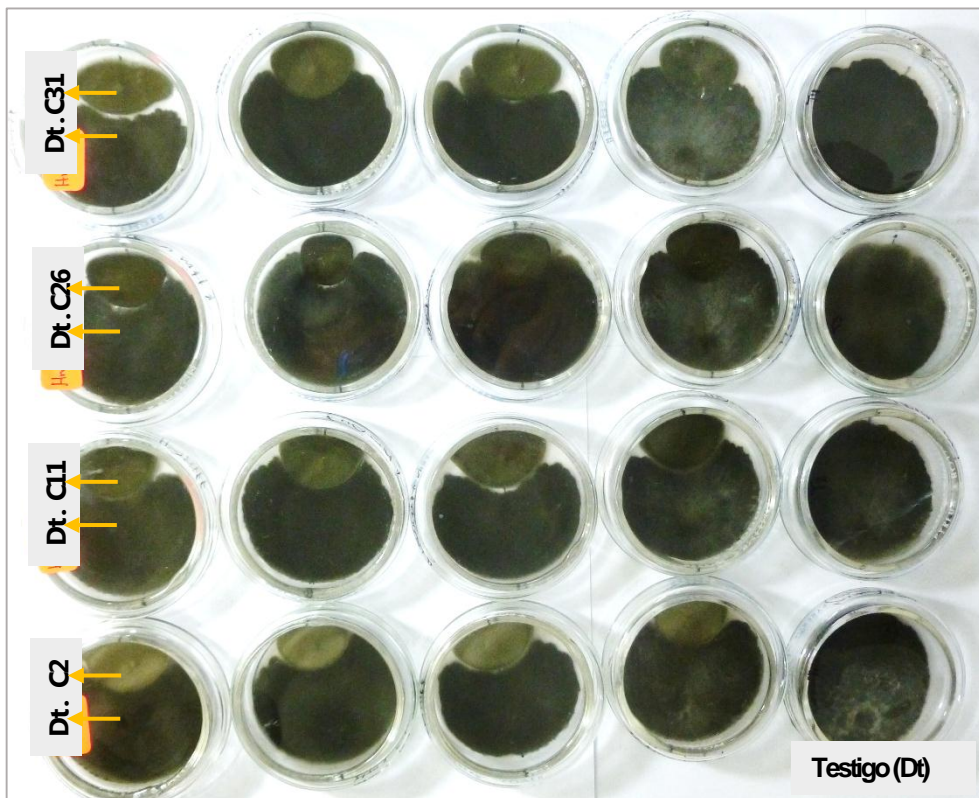


**Fig.36.** Inhibición de crecimiento radial del micelio de *Drechslera turcica* Pass., frente a cuatro cepas de *Cladosporium* spp.

En la Figura 37, se observa la inhibición de crecimiento radial del micelio de *D. turcica*, en función de los días. Los resultados obtenidos con las cepas de *Cladosporium* spp. (C2, C11, C26 y C34) presentan una tendencia creciente hasta el cuarto día de evaluación, a partir de este momento el efecto de inhibición es lineal y constante. Este resultado indica que, las cepas antagonicas aumentan su efecto de inhibición hasta el cuarto día; esto se debe a que, en la competencia por nutrientes y espacio, el fitopatógeno tiene un crecimiento micelial más rápido que el antagonista; así como se aprecia en la Fig.38



**Fig.37.** Inhibición del crecimiento micelial de *Drechslera turcica* Pass. frente a *Cladosporium* spp., función de los días evaluados.



**Fig.38.** Efecto del antagonista *Cladosporium* spp. (C2, C11, C26 y C34) en el fitopatógeno *Drechslera turcica* Pass. (Dt), en cultivos duales.

**4.6. Acción de parasitismo de las cepas C9, C24, C26 y C31 de *Cladosporium* spp., en uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht., en condiciones “en vivo”**

En la Tabla 12, Se observa que existe alta significación estadística para las cepas de *Cladosporium* spp., dado que el *F calculado* es superior a la *F tabulares* a las probabilidades del 5 y 1 %, respectivamente; este resultado indica que las cepas de *Cladosporium* spp., empleadas en el control de *P. mucronatum*, se diferencian significativamente.

El coeficiente de variación (CV = 3.53 %), indica la variación en porcentaje de pústulas afectadas, por cada cepa de *Cladosporium* spp., en las diferentes repeticiones, además, para las condiciones en que se realizó el experimento, es adecuado; estando en un rango de aceptación, para trabajos en condiciones de laboratorio.

La prueba de rango múltiple de Duncan al 5 % de probabilidad, para el efecto que generan las cepas antagónicas de *Cladosporium* spp., en pústulas de *P. mucronatum*, por las (Tabla.13 y Fig. 39), indica que las cepas C24, C26 y C31, alcanzaron 98%, 95% y 94.5% de pústulas colonizadas respectivamente; siendo estos estadísticamente iguales y superiores al resto. El resultado obtenido con el C9 (81.5 %), es estadísticamente menor y diferente a los anteriores. Finalmente, en el testigo (Pústulas de *P. mucronatum*, sin antagonista), también mostro cierto grado de colonización (8%), esto se debe posiblemente a una contaminación.

**Tabla 12.** Análisis de varianza (ANOVA) para el efecto de parasitismo de las cepas de *Cladosporium* spp., en *Phragmidium mucronatum*. (Per.) Schlecht.

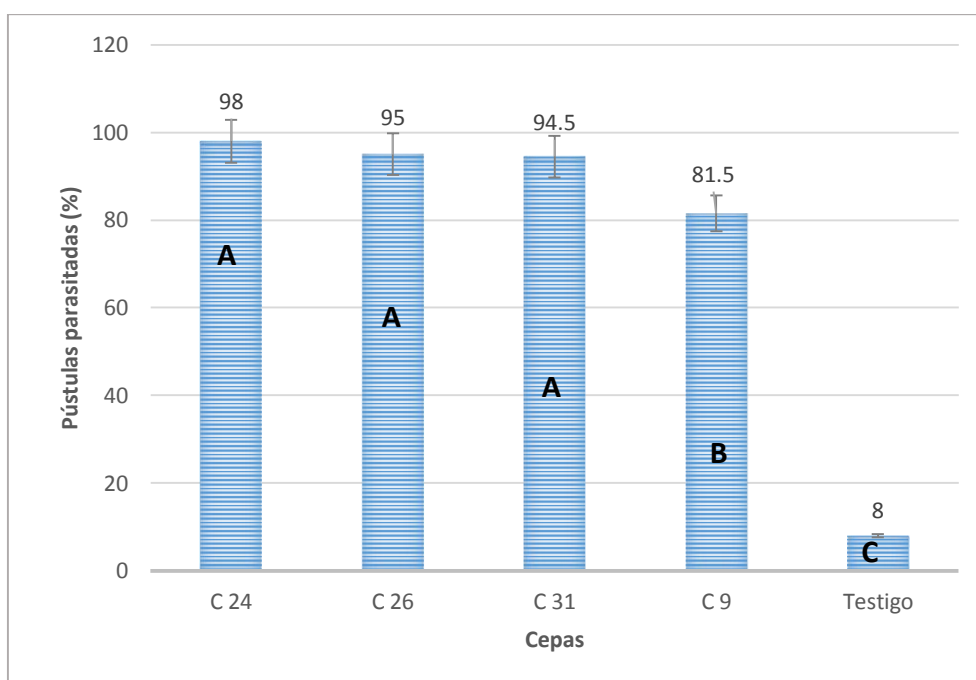
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculado	F tabular	
					5%	1%
Cepas	4	23358.8	5839.7	826.37 **	3.06	4.89
Error	15	106	7.07			
Total	19	23464.8				

Altamente significativo (\*\*)

$$CV = 3.53 \%$$

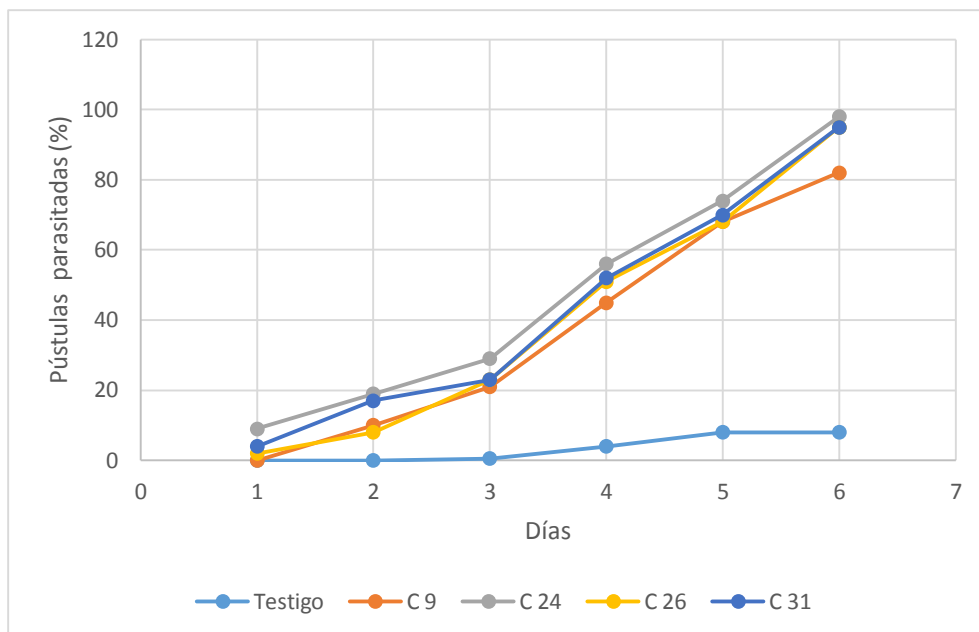
**Tabla 13.** Prueba de rango múltiple de Duncan al 5 % de probabilidad, para el parasitismo de las cepas de *Cladosporium spp.*, en las pústulas de *Phragmidium mucronatum*(Per.) Schlecht.

Cepas	Pústulas de <i>P. mucronatum</i> parasitadas (%)	Agrupación por Duncan al 5 %
C 24	98	A
C 26	95	A
C 31	94.5	A
C 9	81.5	B
Testigo	8	C



**Fig.39.** Pústulas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht. afectadas por cepas de *Cladosporium spp*

En la Figura 40, se observa el porcentaje de pústulas parasitadas de *P. mucronatum* en función a los días evaluados. Los resultados obtenidos con las cepas de *Cladosporium spp.*, (C9, C24, C26 y C31), presentan una tendencia creciente, diferente a la tendencia que se presenta con el testigo; este nos indica que el parasitismo del antagonista incrementa a medida que pasan los días.

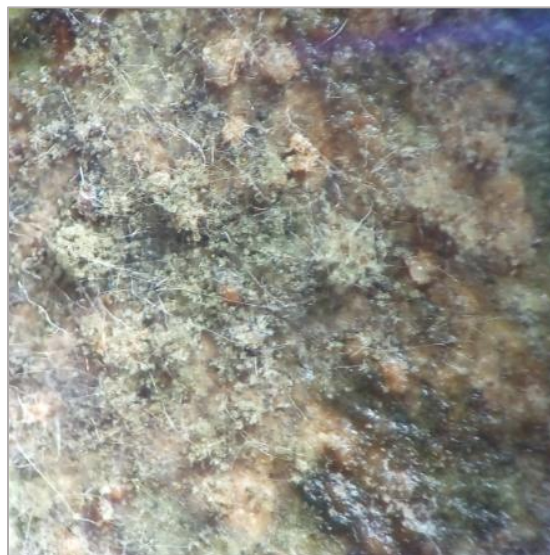


**Fig.40.** Pústulas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht, afectadas por las cepas de *Cladosporium* spp., función de los días.

El modo de acción de las cepas de *Cladosporium* spp., en el fitopatógeno *P. mucronatum*, está representado a través de parasitismo y lisis enzimática; observándose el crecimiento del antagonista sobre las uredosporas en un lapso de seis días (Fig. 42).



**Fig.41.** Parénquima foliar de rosa con uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht, libre de *Cladosporium* spp.



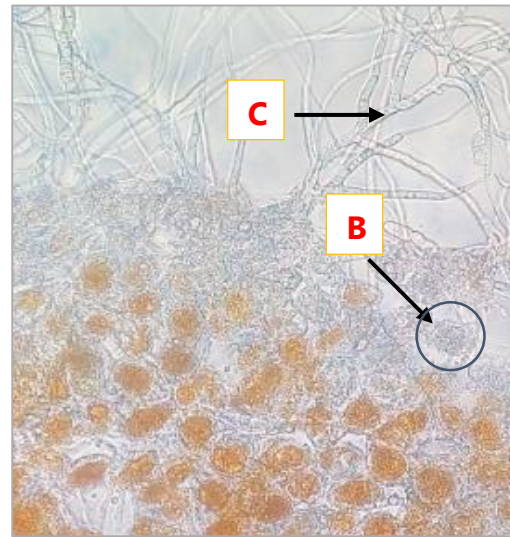
**Fig.42.** Micelio gris oscuro del antagonista *Cladosporium* spp., sobre uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht.

#### 4.7. Efecto de las cepas C9, C24, C26, C31, de *Cladosporium* spp., en uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht.

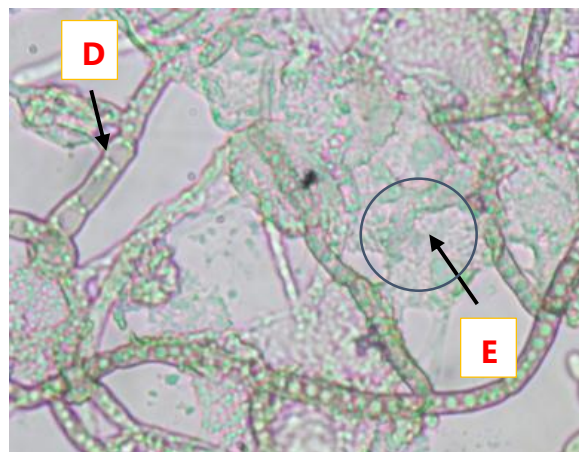
En este ensayo se evidenció el efecto de parasitismo de las cepas de *Cladosporium* spp., en uredosporas de *P. mucronatum*, a las 24 horas se observó el desarrollo de tubos germinativos del parásito; los mismos que a través de un apresorio y la formación del haustorio respectivo, penetra la pared celular de las uredosporas (Fig. 43); succionando el contenido celular, observándose la decoloración de las uredosporas (Fig.44B,45E); en 48 horas, solo prospera el micelio del hiperparásito (hifas, conidióforos y conidias), como se aprecia en la (Fig. 46).



**Fig.43.** Vista al microscopio la formación del haustorio (A) de *Cladosporium* C9., iniciando el parasitismo en Uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht



**Fig.44.** Pérdida del contenido celular de uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht (B) por efecto de *Cladosporium* C9 (C).



**Fig. 45.** Hifa de *Cladosporium* C9 (D), contenido celular de la uredospora (E)





**Fig. 46.** Vista al microscopio de la estructura somática del antagonista *Cladosporium* C9, después de 48 horas. **(F)**

El parasitismo en royas ha sido consignado por otros investigadores; García- Velasco *et al.* (2005), reportaron que al realizar un corte histopatológico de teliosporas de *Puccinia horiana*, encontraron en el interior hifas de *Cladosporium* sp., posteriormente ocasionó el colapso y necrosis de la teliospora.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La cepa C11 de *Cladosporium* spp., tiene el mejor comportamiento antagónico, para *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke, con 60.76% de inhibición.

Las cepas C11, C34, C2 y C26 de *Cladosporium* spp., inhibieron el crecimiento micelial de *Drechslera turcica* Pass, en 46.66%, 46.34%, 45.48% y 42.89% respectivamente.

Las cepas de C24, C26 y C31 de *Cladosporium* spp., parasitaron uredosporas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht., evidenciándose en 98%, 95% y 94.5% de pústulas afectadas.

Se recomienda realizar investigaciones con las cepas C2, C11, C24, C26, C31 y C34 de *Cladosporium* spp., frente a fitopatógenos foliares en campo.

## CAPÍTULO VI

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrios, GN. 2005. Plant pathology. 5 ed. California, USA, Elsevier Academic Press Publications. 922 p.

Assante, G; Nasini, G; Moricca, S; Ragazzi, A. 2002. Biological activity of the rust antagonist *Cladosporium tenuissimum* Cke and its secondary metabolites. Istituto di Patologia Vegetale 25:245-248.

Assante, G; Maffi, D; Saracchi, M; Farina, G; Moricca, S; Ragazzi, A. 2004. Histological studies on the micoparasitism of *Cladosporium tenuissimum* on urediniodpores of *Uromyces appendiculatus*. Mycological Research 108(2): 170 -182.

Altieri, MG; Nicholls, CI. 2007. Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas. España, editorial Icaria s.a. 247p. (ISBN: 978-84-7426-764-8).

Barnett, HL; Hunter, BB. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3 ed. burgess puplishing Company Minneapolis, Minesota. Printed in the United States of America. 241p.

Baker, KF; Cook, RJ. 1989. Biological control of plant pathogens. San Francisco, EE. UU, WH Freeman and Company. 433p. (ISBN: 0716705893).

- Bengochea Budia, P; Garzón Hidalgo, A, Hiernaux Candelas, L. 2014. Prevención del estado sanitario de cultivos ecológicos y aplicación de productos. España, editorial Paraninfo. S.A. 189p.
- Bensch, K; Braun, U; Groenewald, JZ; Crous, PW. 2012. Género *Cladosporium* (The genus *Cladosporium*). *Studies in Mycology* 72: 1- 401. Consultado 08 de ene. 2018. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166061614600713#cesec70>
- Bettiol, W; Rivera, MC; Mondino, P; Montealegre, JR; Colmenárez, YC. 2014. Control Biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. 5 ed. Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica. 402p. (ISBN: 978-9974-0-1091-8).
- Blakeman, JP; Fokkema, NJ. 1982. Potential for Biological Control of Plant Diseases on the Phylloplane. *Annual Review of Phytopathology* 20:167-192.
- Calvo-Araya, JA; Rivera-Coto, G; Orozco-Cayasso, S; Orozco-Rodríguez, R. 2012. Aislamiento y evaluación in vitro de antagonistas de *Botrytis cinerea* en mora. *Agronomía Mesoamericana* 23(2): 225 - 231.
- Cano, E; Carballo, M; Fernández, O; Gonzáles, L; Gruber, AK; Guharay, F; Hidalgo, E; Narváez, C; López P, JA; Rizo, C; Rodríguez, C; Salasar, D. 2004. Control biológico de plagas agrícolas. Managua, Nicaragua, Imprenta INPASA. 232p. (ISBN 99924-0-316-0). Serie técnica Manual técnico/CATIE, N° 53.
- Cañedo, V; Ames, T. 2004. Manual de Laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 62p.
- Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 2004. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. 4 ed. México, D.F. 118p.

- De Bauer, María de Lourdes de la Isla. 2002. Agricultura deterioro y preservación ambiental. Programa de Hidrociencias. Colegio de Postgraduados. Instituto de Recursos Naturales. 140p.
- Durán López, ME; Mosquera Vintimilla, P. 2007. Actividad biocontroladora de hongos de suelo sobre microorganismos fitopatógenos. Título de Biólogo. Azuay, Cuenca, Ecuador, Universidad del Azuay. 91p.
- Ezziyyani, M; Sid Ahmed, A; Pérez Sánchez, C; Requena, ME; Candela, ME. 2006. Control biológico por microorganismos antagonistas. Horticultura (191): 8-15.
- Fernández-Larrea, VO. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo integrado de plagas (62):96-100.
- García-Velasco, R; Zavaleta-Mejía, E; Rojas-Martínez, RI; Leyva-Mir, SG; Kilpatrick Simpson, J; Fuentes-Davila, G. 2005. Antagonismo de *Cladosporium* sp contra *Puccinia horiana* Henn, causante de la roya blanca del crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). Revista Mexicana de Fitopatología 23(1): 79-86.
- Infante, D; Martínez, B; Gonzales, N; Reyes, Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente hongos fitopatógenos. Revista de Protección Vegetal 24(1):14-21
- Index fungorum. 2020. (en línea, base de datos). Consultado 02 ene. 2020. Disponible en <http://www.speciesfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=211060>
- Martínez, B; Infante, D; Reyes, Y. 1999. *Trichoderma* spp., y su función en el control de plagas en los cultivos. Revista de Protección Vegetal 12 (1):1-11.
- Medina Guevara, MM. 2003. Determinación de enfermedades fungosas del clavel (*Dianthus caryophyllus* L.). Tesis Ingeniero Agrónomo. Cajamarca, Perú, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cajamarca. 40 p.

- Melgarejo N, P; García-Giménez; Jorda G, MC; López G, MM; Andrés Y, MF; Duran-Villa, N. 2010. Patógenos de plantas descrito en España. 2 ed. Edit., Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Sociedad española de fitopatología. 858p.
- Michel Aceves, AC. 2001. Cepas nativas de *Trichoderma* spp Euascomycetes: Hypocreales), su antibiosis y micoparasitismo sobre *Fusarium subglutinans* y *F. oxysporum* (Hyphomycetes: Hyphales). Tesis de Doctor en Ciencias: Área Biotecnología, Colima, México, Universidad de Colima. (176p.).
- Mondino, P; Vero, S. 2006. Control biológico de patógenos en plantas. Montevideo, Uruguay, Imprenta Facultad de agronomía Universidad de la República. 158p.
- Mont, RM. 2002. Manejo integrado de las enfermedades de las plantas. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Lima, Perú, Imprenta VPI GRAFICOS. 210p.
- Moricca, S; Ragazzi, A; Mitchelson, KR; Assante, G. 2001. Antagonism of the Two-Needle Pine Stem Rust Fungi *Cronartium flaccidum* and *Peridermium pini* by *Cladosporium tenuissimum* In Vitro and In Planta. The American Phytopathological Society 91(5):457-468.
- Pérez Consuegra, N. 2004. Manejo ecológico de plagas. Habana, Cuba, editorial Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural (CEDAR). 296p.
- Quiroz, GM; Roncal Ordóñez, MS. 2010. Morfología de *Darluca* sp., como controlador biológico de royas en sauce (*Salix humboltiana* Wind), clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) y geranio (*Geranium* sp.) Tesis Ingeniero Agrónomo. Cajamarca, Perú, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cajamarca. 58 p.

Rengifo-Guzmán, HG; Leguizamón-Caycedo, JE; Riaño-Herrera, NM. 2002. Algunos aspectos biológicos de *Cercospora coffeicola*. *Cenicafé* 53(3): 169-177. Consultado 02 ene. 2019. Disponible en [https://www.cenicafe.org/es/publications/arc053\(03\)169-177.pdf](https://www.cenicafe.org/es/publications/arc053(03)169-177.pdf)

Robles Carrión, AR. 2012. Uso de microorganismos antagonistas y sustancias naturales como una alternativa ecológica en el control de enfermedades en cultivos. *Centro Biotecnología* 1(1):35-43. Consultado 06 ene. 2018. Disponible en <https://issuu.com/diunl/docs/revistabiotecnologiav1-2012>

Rojas-Martínez, RI; Torres-Sánchez, DE; Martínez-Pérez, C; Ginetti, B; Moricca, S. 2015. Antagonismo In vitro de *Cladosporium* sp sobre dos especies de *Phytophthora* (*Cladosporium* sp. in vitro antagonism against two *Phytophthora* species). *Suplemento de la Revista Mexicana de Fitopatología* 33: S125.

Rodríguez Orozco, AR; Vargas Villegas, E; Tafolla Muñoz, L; Ruiz Reyes, H; Hernández Chávez, LA; Vázquez Garcidueñas, S. 2008. Géneros fúngicos aislados de pacientes con rinitis alérgica y su relación con la prueba de hipersensibilidad subcutánea de Prick (Fungal genera isolated from patients with allergic rhinitis and their relation with Prick test). *Revista Mexicana de Micología* 28: 89-94. Consultado 08 de ene 2018. Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018731802008000300011&script=sci\\_arttext&lng=en](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018731802008000300011&script=sci_arttext&lng=en)

Roncal Ordóñez, MS; Fucikobsky Sak, L.; Abdul khalil, G. 1991. Efecto de dos especies de *Bacillus* y ajo, sobre *Pseudomonas solanacearum* en papa. Tesis de Maestría, México, Colegio de Post Graduados, Serie Protección Vegetal. 2(2): 97 – 107.

Roncal Ordóñez, MS. 1993. Taxonomía de hongos fitopatógenos comunes. Cajamarca, Perú, editorial Obispo. 372 p.

Roncal Ordóñez, MS. 2004. Principios de la fitopatología andina. Lima, Perú, editorial Bracamonte 419 p.

Roncal Ordóñez, MS. 2011. Manejo Integrado de Fitoenfermedades. Edición Preliminar. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cajamarca. 103 p.

Roncal Ordóñez, MS; Roncal Rabanal, MR. 2015. Especificidad patogénica y nominación científica del anamorfo que induce oidiosis en cultivos de la zona andina (Pathogenic specificity and anamorph scientific nomination inducing powdery mildew in crops in the Andean región). Suplemento de la Revista Mexicana de Fitopatología 33: S58.

Santos, M; Diáñez, F; de Cara, M; Camacho, F; Tello, JC. 2010. El control biológico de plagas y enfermedades. Un encuadre crítico. Cuadernos de Estudios Agroalimentarios (CEA) 1:61-72.

Scot, CN. 2008. *Cercospora* Leaf Spot and Berry Blotch of Coffee. Plant Disease. College of tropical agriculture and human resources PD-41. Publications can be found on the Web site <<http://www.ctahr.hawaii.edu/freepubs>>.

Shattock, RC; Rahbar bhatti, RC. 1983. The effect of *Phragmidium mucronatum* on rose understocks and maiden bush roses. Plant Pathology 32 (1): 61

Schubert, K; Groenewald, JZ; Braun, U; Dijksterhuis, J; Starink, M; Hill, CF; Zalar, P; de Hoog, GS; Crous, PW. 2012. Biodiversity in the *Cladosporium herbarum* complex (Davidiellaceae, Capnodiales), with standardisation of methods for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics (Biodiversidad en el complejo de *Cladosporium herbarum* (Davidiellaceae, Capnodiales), con estandarización de métodos para la taxonomía y diagnóstico de *Cladosporium*) Studies in Mycology 58 (5): 105-156.

Skidmore, AM; Dickinson, CH. 1976. Interactions between germinating spores of *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. Transactions of the British Mycological Society 66(1):57-64



Sticher L; Mauch-Mani B; Métraux, JP. 1997. Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology. 35: 235-270.

Torres-Sánchez, DE; Martínez-Pérez, C; Zabaleta-Mejía, E; Rojas-Martínez, RI. 2015. Identificación del complejo *Cladosporium* en interacción con *Puccinia horiana*, la roya blanca del crisantemo en Villa Guerrero, Estado de México (Identification of *Cladosporium* complex in interaction with *Puccinia horiana*, the chrysanthemum with the rust, in Villa Guerrero, Mexico State). Suplemento de la Revista Mexicana de Fitopatología 33: S126.

## CAPÍTULO VII

### ANEXOS

#### 1. Clave de identificación de *Cladosporium* sp., según (Barnett 1960)

A2: Micelio no cenocítico, con frecuentes septos, conidias normalmente presentes, excepto en algunos géneros.....(**HONGOS IMPERFECTOS**)

B1: Conidias y conidióforos no producidos dentro de un picnidio o acérvulos  
.....(**MONILIALES**)

C2: Conidia no enrollada

D2: Conidióforos y/o conidias que contienen pigmentos oscuros;  
conidióforos no unidos en esporodoquio o sinema (***Dematiaceae***)

E2: Conidias típicamente con dos células (una célula o conidias con tres células frecuentemente presentes)

F1: Conidias catenuladas

G2: Conidias en cadenas frecuentemente ramificadas; septos no gruesos

H2: Conidios de forma variable, sin células esporógenas especiales.....***Cladosporium***

**2. Evaluaciones de porcentaje de inhibición de crecimiento radial del micelio de fitopatógenos en café (*coffea arabica*) y maíz (*zea mays*) utilizando cuatro cepas de *Cladosporium* spp., en condiciones “*in vitro*”**

**Tabla 14.** Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de micelio (PIC) de *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke, frente a las cepas antagonistas (C2, C11, C17 y C24) de *Cladosporium* spp.

CLAVE	Días de evaluación después de la siembra dual																	
	1 (19/03/18)			2 (20/03/18)			3(21/03/18)			4(22/03/18)			5(23/03/18)			6(24/03/18)		
	r2	r1	PIC %	r2	r1	PIC %	r2	r1	PIC %	r2	r1	PIC %	r2	r1	PIC %	r2	r1	PIC %
C2. Cc	0.40	0.40	0.00	0.80	0.90	11.11	0.90	1.20	25.00	1.00	1.70	41.18	1.00	1.90	47.37	1.05	2.60	59.62
C2. Cc	0.50	0.60	16.67	0.80	1.00	20.00	0.90	1.20	25.00	1.10	1.60	31.25	1.10	1.80	38.89	1.15	2.65	56.60
C2. Cc	0.40	0.50	20.00	0.90	0.90	0.00	0.90	1.20	25.00	1.00	1.60	37.50	1.10	1.90	42.11	1.15	2.60	55.77
C2. Cc	0.40	0.50	20.00	0.70	1.00	30.00	0.90	1.20	25.00	1.10	1.70	35.29	1.10	1.90	42.11	1.15	2.60	55.77
<b>Promedio</b>	<b>0.43</b>	<b>0.50</b>	<b>14.17</b>	<b>0.80</b>	<b>0.95</b>	<b>15.28</b>	<b>0.90</b>	<b>1.20</b>	<b>25.00</b>	<b>1.05</b>	<b>1.65</b>	<b>36.31</b>	<b>1.08</b>	<b>1.88</b>	<b>42.62</b>	<b>1.13</b>	<b>2.61</b>	<b>56.94</b>
C11.Cc	0.10	0.40	75.00	0.40	0.90	55.56	0.60	1.20	50.00	0.70	1.70	58.82	0.80	1.90	57.89	1.05	2.60	59.62
C11.Cc	0.20	0.60	66.67	0.40	1.00	60.00	0.50	1.20	58.33	0.70	1.60	56.25	0.80	1.90	57.89	1.00	2.65	62.26
C11.Cc	0.40	0.50	20.00	0.50	0.90	44.44	0.60	1.20	50.00	0.70	1.60	56.25	0.70	1.90	63.16	1.05	2.60	59.62
C11.Cc	0.50	0.50	0.00	0.70	1.00	30.00	0.70	1.20	41.67	0.90	1.70	47.06	0.95	1.90	50.00	1.00	2.60	61.54
<b>Promedio</b>	<b>0.30</b>	<b>0.50</b>	<b>40.42</b>	<b>0.50</b>	<b>0.95</b>	<b>47.50</b>	<b>0.60</b>	<b>1.20</b>	<b>50.00</b>	<b>0.75</b>	<b>1.65</b>	<b>54.60</b>	<b>0.81</b>	<b>1.90</b>	<b>57.24</b>	<b>1.03</b>	<b>2.61</b>	<b>60.76</b>
C17.Cc	0.20	0.40	50.00	0.60	0.90	33.33	0.90	1.20	25.00	1.20	1.70	29.41	1.40	1.90	26.32	1.50	2.60	42.31
C17.Cc	0.40	0.60	33.33	0.70	1.00	30.00	1.00	1.20	16.67	1.30	1.60	18.75	1.40	1.90	26.32	1.55	2.65	41.51
C17.Cc	0.50	0.50	0.00	0.90	0.90	0.00	1.00	1.20	16.67	1.30	1.60	18.75	1.30	1.90	31.58	1.35	2.60	48.08
C17.Cc	0.70	0.50	40.00	1.00	1.00	0.00	1.10	1.20	8.33	1.50	1.70	11.76	1.50	1.90	21.05	1.65	2.60	36.54
<b>Promedio</b>	<b>0.45</b>	<b>0.50</b>	<b>10.83</b>	<b>0.80</b>	<b>0.95</b>	<b>15.83</b>	<b>1.00</b>	<b>1.20</b>	<b>16.67</b>	<b>1.33</b>	<b>1.65</b>	<b>19.67</b>	<b>1.40</b>	<b>1.90</b>	<b>26.32</b>	<b>1.51</b>	<b>2.61</b>	<b>42.11</b>
C24.Cc	0.20	0.40	50.00	0.60	0.90	33.33	0.80	1.20	33.33	0.90	1.70	47.06	1.10	1.90	42.11	1.10	2.60	57.69
C24.Cc	0.40	0.60	33.33	0.60	1.00	40.00	0.80	1.20	33.33	1.00	1.60	37.50	1.00	1.80	44.44	1.10	2.65	58.49
C24.Cc	0.40	0.50	20.00	0.70	0.90	22.22	0.80	1.20	33.33	1.10	1.60	31.25	1.10	1.90	42.11	1.10	2.60	57.69
C24.Cc	0.40	0.50	20.00	0.60	0.90	33.33	0.80	1.20	33.33	1.00	1.70	41.18	1.00	1.90	47.37	1.15	2.60	55.77
<b>Promedio</b>	<b>0.35</b>	<b>0.50</b>	<b>30.83</b>	<b>0.63</b>	<b>0.93</b>	<b>32.22</b>	<b>0.80</b>	<b>1.20</b>	<b>33.33</b>	<b>1.00</b>	<b>1.65</b>	<b>39.25</b>	<b>1.05</b>	<b>1.88</b>	<b>44.01</b>	<b>1.11</b>	<b>2.61</b>	<b>57.41</b>

**Tabla 15.** Porcentaje de Inhibición de crecimiento radial de micelio (PIC) de *Drechslera turcica* Pass frente a las cepas antagonicas (C2, C11, C26 y C34) de *Cladosporium* spp..

CLAVE	Días de evaluación después de la siembra dual																	
	1 (19/03/18)			2 (20/03/18)			3 (21/03/18)			4 (22/03/18)			5 (23/03/18)			6 (24/03/18)		
	r2	r1	PIC %	r2	r1	PIC %	r2	r1	PIC %	r2	r1	PIC %	r2	r1	PIC %	r2	r1	PIC %
C2. Dt	1.40	1.50	6.67	2.10	3.20	34.38	2.10	3.90	46.15	2.10	3.90	46.15	2.00	3.90	48.72	2.00	3.90	48.72
C2. Dt	1.50	1.50	0.00	2.10	3.20	34.38	2.10	3.50	40.00	2.10	3.60	41.67	2.20	3.70	40.54	2.00	3.70	45.95
C2. Dt	1.50	1.50	0.00	2.20	3.00	26.67	2.20	3.60	38.89	2.10	3.80	44.74	2.10	3.80	44.74	2.10	3.80	44.74
C2. Dt	1.60	1.50	-6.67	2.20	3.10	29.03	2.30	3.50	34.29	2.30	3.80	39.47	2.30	3.80	39.47	2.30	4.00	42.50
<b>Promedio</b>	1.50	1.50	<b>0.00</b>	2.15	3.13	<b>31.11</b>	2.18	3.63	<b>39.83</b>	2.15	3.78	<b>43.01</b>	2.15	3.80	<b>43.37</b>	2.10	3.85	<b>45.48</b>
C11.Dt	1.50	1.50	0.00	2.00	3.20	37.50	2.20	3.90	43.59	2.10	3.90	46.15	2.10	3.90	46.15	2.10	3.90	46.15
C11.Dt	1.40	1.50	6.67	2.10	3.20	34.38	2.20	3.50	37.14	2.10	3.60	41.67	2.10	3.70	43.24	2.10	3.70	43.24
C11.Dt	1.50	1.50	0.00	2.20	3.00	26.67	2.20	3.60	38.89	2.10	3.80	44.74	2.10	3.80	44.74	2.10	3.80	44.74
C11.Dt	1.50	1.50	0.00	1.90	3.10	38.71	1.90	3.50	45.71	1.90	3.80	50.00	1.90	3.80	50.00	1.90	4.00	52.50
<b>Promedio</b>	1.48	1.50	<b>1.67</b>	2.05	3.13	<b>34.31</b>	2.13	3.63	<b>41.33</b>	2.05	3.78	<b>45.64</b>	2.05	3.80	<b>46.03</b>	2.05	3.85	<b>46.66</b>
C26.Dt	1.40	1.50	6.67	2.10	3.20	34.38	2.10	3.90	46.15	2.15	3.90	44.87	2.20	3.90	43.59	2.20	3.90	43.59
C26.Dt	1.50	1.50	0.00	2.10	3.20	34.38	2.10	3.50	40.00	2.10	3.60	41.67	2.10	3.70	43.24	2.10	3.70	43.24
C26.Dt	1.50	1.50	0.00	2.10	3.00	30.00	2.20	3.60	38.89	2.20	3.80	42.11	2.20	3.80	42.11	2.10	3.80	44.74
C26.Dt	1.50	1.50	0.00	2.10	3.10	32.26	2.40	3.50	31.43	2.40	3.80	36.84	2.40	3.80	36.84	2.40	4.00	40.00
<b>Promedio</b>	1.48	1.50	<b>1.67</b>	2.10	3.13	<b>32.75</b>	2.20	3.63	<b>39.12</b>	2.21	3.78	<b>41.37</b>	2.23	3.80	<b>41.45</b>	2.20	3.85	<b>42.89</b>
C34.Dt	1.50	1.50	0.00	2.00	3.20	37.50	2.10	3.90	46.15	2.10	3.90	46.15	2.10	3.90	46.15	2.10	3.90	46.15
C34.Dt	1.40	1.50	6.67	2.00	3.20	37.50	2.10	3.50	40.00	2.10	3.60	41.67	2.10	3.70	43.24	2.10	3.70	43.24
C34.Dt	1.50	1.50	0.00	2.10	3.00	30.00	2.10	3.60	41.67	2.10	3.80	44.74	2.10	3.80	44.74	2.10	3.80	44.74
C34.Dt	1.50	1.50	0.00	1.90	3.10	38.71	2.00	3.50	42.86	2.00	3.80	47.37	2.00	3.80	47.37	2.00	4.00	50.00
<b>Promedio</b>	1.48	1.50	<b>1.67</b>	2.00	3.13	<b>35.93</b>	2.08	3.63	<b>42.67</b>	2.08	3.78	<b>44.98</b>	2.08	3.80	<b>45.38</b>	2.08	3.85	<b>46.03</b>

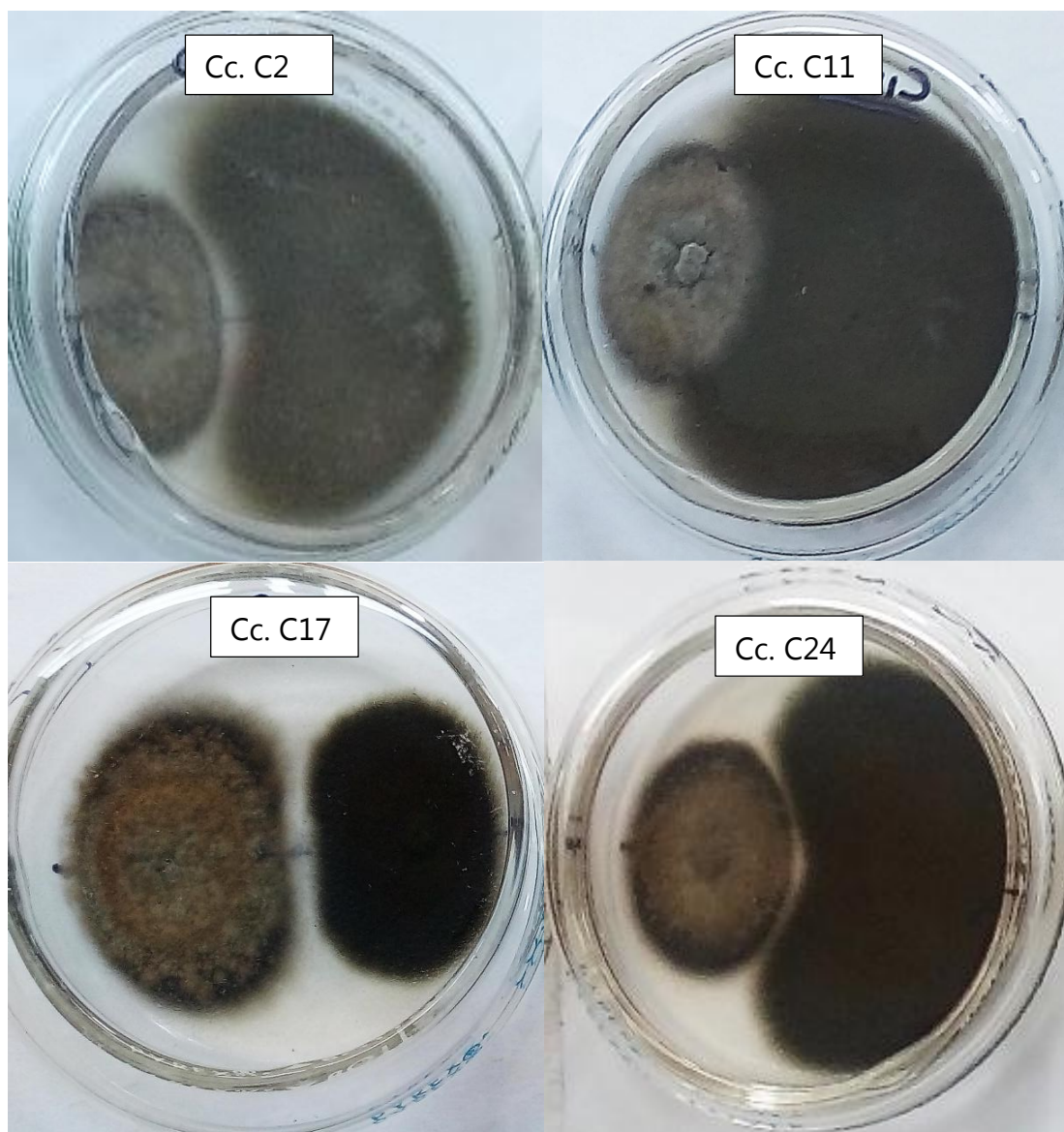
3. Evaluaciones de pústulas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht, en hojas *Rosa canina* afectadas por cuatro cepas de *Cladosporium* spp., en condiciones “en vivo”

Tabla 16. Porcentaje pústulas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht afectadas por las cepas antagónicas C9, C24, C26 y C31 de *Cladosporium* spp..

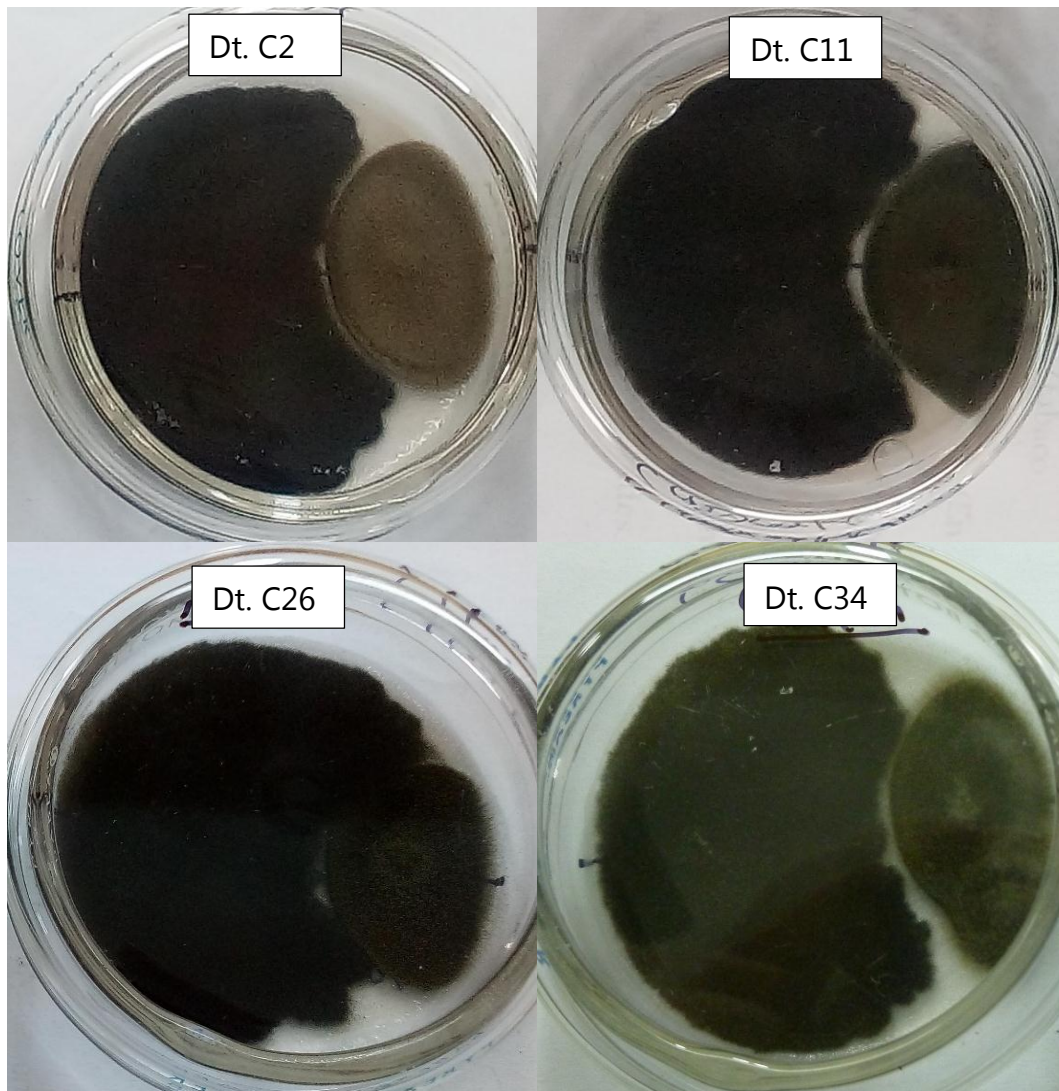
CLAVE	Días después de la inoculación											
	1(18/02/19)		2(19/02/19)		3(20/02/19)		4(21/02/19)		5(22/02/19)		6(23/02/19)	
	(N°)	(%)	(N°)	(%)	(N°)	(%)	(N°)	(%)	(N°)	(%)	(N°)	(%)
C9. Pm	0	0	7	14	14	28	18	36	38	76	42	84
C9. Pm	0	0	4	8	8	16	18	36	29	58	40	80
C9. Pm	0	0	8	16	15	30	25	50	39	78	41	82
C9. Pm	0	0	1	2	5	10	28	56	30	60	40	80
<b>Promedio</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>10.5</b>	<b>21</b>	<b>22.25</b>	<b>45</b>	<b>34</b>	<b>68</b>	<b>40.75</b>	<b>82</b>
C24. Pm	2	4	7	14	14	28	25	50	31	62	49	98
C24. Pm	11	22	14	28	16	32	40	80	50	100	50	100
C24. Pm	5	10	9	18	15	30	26	52	38	76	49	98
C24. Pm	0	0	8	16	12	24	20	40	29	58	48	96
<b>Promedio</b>	<b>4.5</b>	<b>9</b>	<b>9.5</b>	<b>19</b>	<b>14.25</b>	<b>29</b>	<b>27.75</b>	<b>56</b>	<b>37</b>	<b>74</b>	<b>49</b>	<b>98</b>
C26. Pm	0	0	3	6	11	22	25	50	36	72	49	98
C26. Pm	2	4	6	12	12	24	27	54	37	74	48	96
C26. Pm	2	4	5	10	13	26	28	56	37	74	47	94
C26. Pm	0	0	2	4	10	20	22	44	26	52	46	92
<b>Promedio</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>11.5</b>	<b>23</b>	<b>25.5</b>	<b>51</b>	<b>34</b>	<b>68</b>	<b>47.5</b>	<b>95</b>
C31. Pm	0	0	4	8	4	8	18	36	29	58	45	90
C31. Pm	4	8	12	24	16	32	35	70	46	92	50	100
C31. Pm	4	8	11	22	12	24	24	48	31	62	46	92
C31. Pm	0	0	7	14	13	26	27	54	33	66	48	96
<b>Promedio</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>8.5</b>	<b>17</b>	<b>11.25</b>	<b>23</b>	<b>26</b>	<b>52</b>	<b>34.75</b>	<b>70</b>	<b>47.25</b>	<b>95</b>
T1	0	0	0	0	0	0	3	6	4	8	4	8
T2	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	4	8
T3	0	0	0	0	0	0	1	2	5	10	5	10
T4	0	0	0	0	1	2	3	6	3	6	3	6
<b>Promedio</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0.25</b>	<b>1</b>	<b>1.75</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>8</b>

(\*) La evaluación se realizó en base a 50 pústulas de *Phragmidium mucronatum*, en folíolos de rosa (*Rosa canina*)

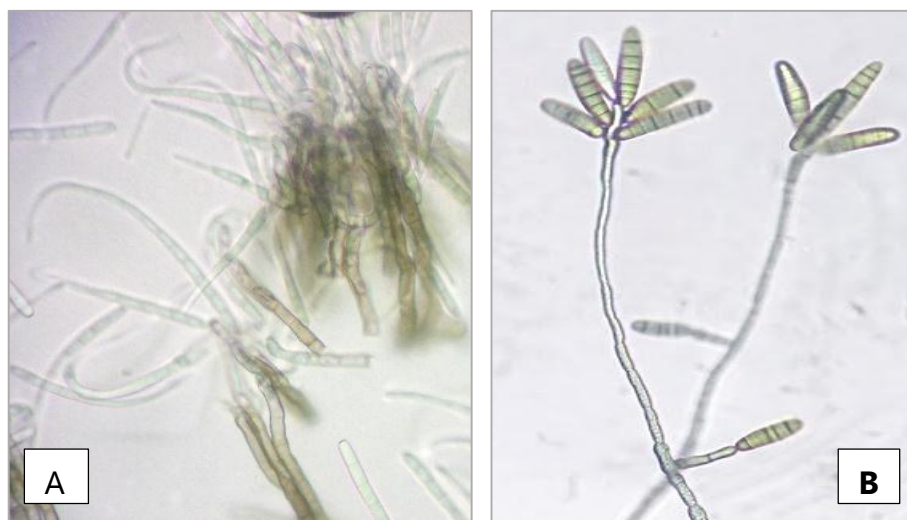
4. Antagonismo de las cepas de *Cladosporium* spp., a los fitopatógenos *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke, *Drechslera turcica* Pass. y *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht



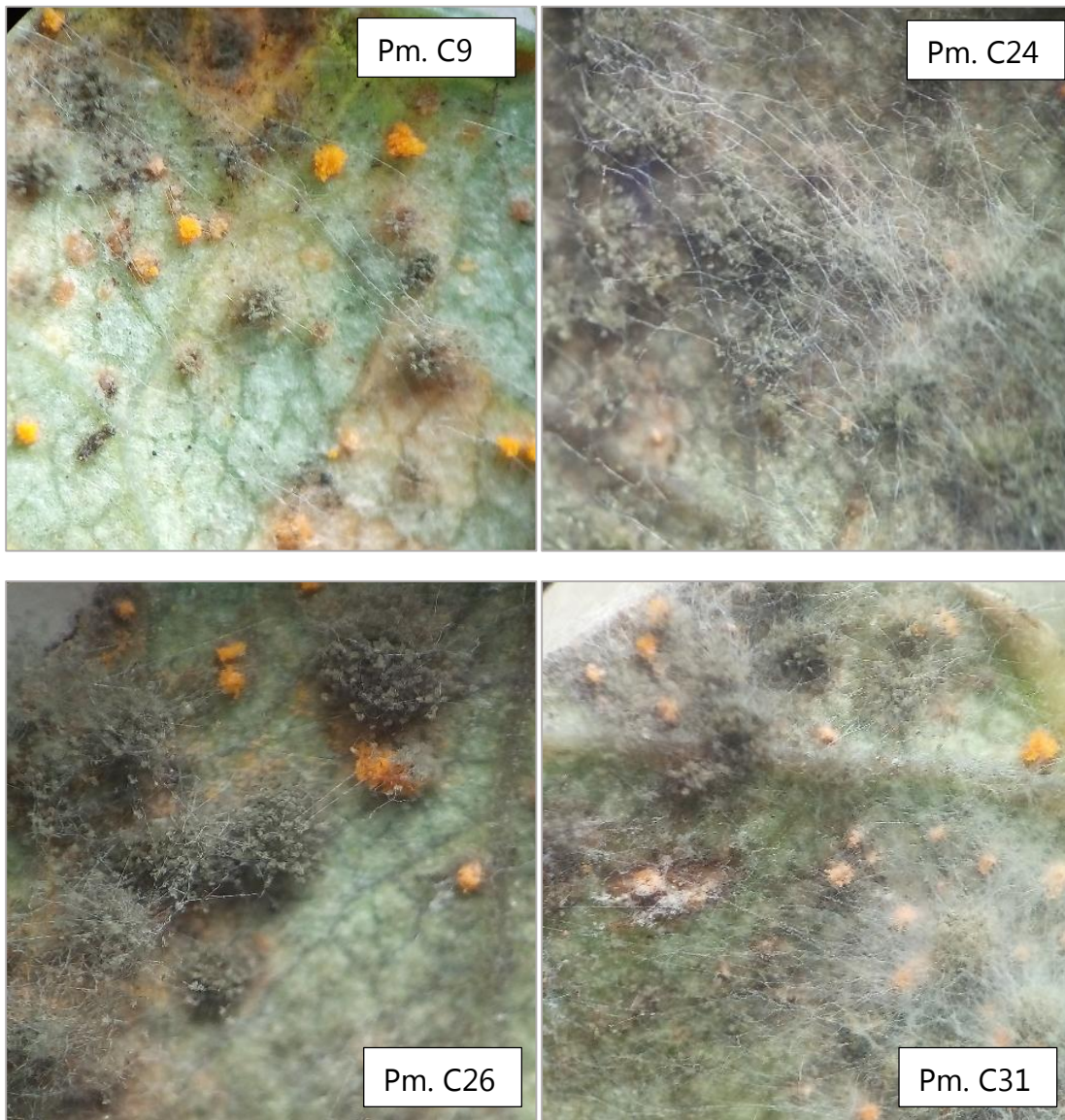
**Fig. 47.** Cultivo dual a los seis días de evaluación, *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke (**Cc**) frente a las cepas antagónicas C2, C11, C17, C24 de *Cladosporium* spp.



**Fig.48.**Cultivo dual a los seis días de evaluación, *Drechslera turcica* Pass. (Dt) frente a las cepas antagonicas C2, C11, C26, C34 de *Cladosporium* spp.



**Fig.49.**Estructura somática: *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke (A); *Drechslera turcica* Pass. (B)



**Fig.50.** Pústulas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht (**Pm**), afectadas por las cepas antagonicas C9, C24, C26 y C31 de *Cladosporium* spp (micelio gris oscuro), a los seis días de evaluación.





Fig.51. Pústulas de *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht. Fase Uredo, sin antagonista.

## 5. Trabajos realizados en el laboratorio de Fitopatología



Fig.52. Observación de muestras al estereoscopio (A), Instalación de experimento de antagonismo (B)