

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



Actividad antagónica de Propóleos Cajamarquinos Frente a:
Cercospora sp. Alternaria sp. y Oidium sp.
en condiciones IN VITRO

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR EL BACHILLER:
Ciro Rojas Hurtado

ASESOR:
Dr. Manuel Salomón Roncal Ordóñez

CAJAMARCA - PERÚ

2014



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

Norte De La Universidad Peruana

Fundada por Ley 14015 del 13 de febrero de 1962

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS



ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

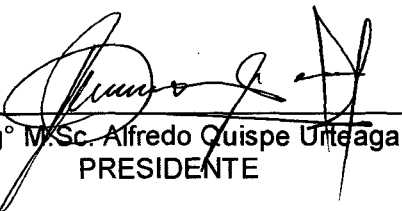
En Cajamarca, a los veinticinco días del mes de julio del año dos mil catorce se reunieron en el Auditorium de la Facultad de Ciencias Agrarias, los integrantes del jurado designado por el Consejo de Facultad de Ciencias Agrarias según Resolución N° 166-2014-FCA-UNC, con el propósito de evaluar la sustentación de la Tesis titulada: **“ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE PROPÓLEOS CAJAMARQUINOS FRENTE A *Cercospora* sp., *Alternaria* sp. Y *Oidium* sp. EN CONDICIONES *IN VITRO*”**, a cargo del Bachiller en Agronomía **CIRO ROJAS HURTADO**, para optar el Título Profesional de INGENIERO AGRONOMO.

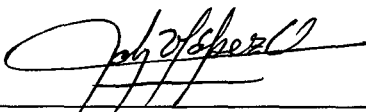
A las dieciséis horas y cinco minutos y de acuerdo a lo estipulado en el Reglamento respectivo, el Presidente del Jurado dio por iniciado el acto.

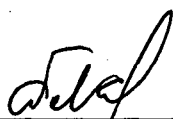
Después de la exposición de la Tesis, formulación de las preguntas y la deliberación del Jurado, el Presidente del Jurado anunció la **aprobación** por **unanimidad** con el calificativo de **Dieciséis (16)**. Por lo tanto, el graduado queda exento para que se le expida el título profesional correspondiente.

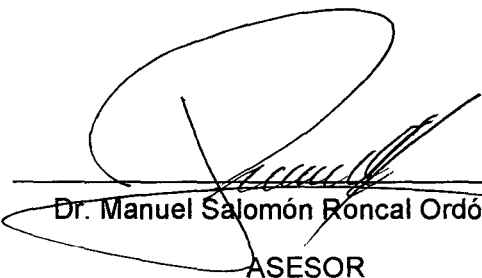
A las **diecisiete** horas con **treinta** minutos del mismo día, el Presidente del Jurado dio por concluido este acto académico.

Cajamarca, 25 de julio del 2014


Ing° M.Sc. Alfredo Quispe Urteaga
PRESIDENTE


Microblg. M.Sc. Jhon López Orvegozo
SECRETARIO


Ing° Alonso Vela Ahumada
VOCAL


Dr. Manuel Salomón Roncal Ordóñez
ASESOR

DEDICATORIA

***A los héroes de la vida, mis padres, Yolanda y Arturo
quienes me dieron todo a cambio de nada.***

***A mi familia Reynaldo, Armandina, Miguelina, Efigenia,
Aurorita, Jaime y Gilberto.***

***De manera especial a mi hermano Jorge, que más que ello,
es mi ejemplo y guía.***

AGRADECIMIENTO

A los docentes de la Escuela académico Profesional de Agronomía por sus valiosas enseñanzas y apoyo en el crecimiento profesional.

A los Ing. Manuel Salomón Roncal Ordoñez y Ing. Teresita Moreno Huamán, por todo el apoyo y paciencia recibidos para el desarrollo de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|------------|
| PORTADA | ii |
| DEDICATORIA | ii |
| AGRADECIMIENTO | iii |
| ÍNDICE GENERAL | iv |
| RESUMEN: | vi |
| SUMMARY: | vii |
| CAPÍTULO I | 8 |
| INTRODUCCIÓN | 8 |
| 1.2. Problema de Investigación. | 9 |
| 1.3. Objetivo General | 9 |
| 1.4. Hipótesis. | 9 |
| 1.5. Variables. | 9 |
| CAPITULO II | 10 |
| REVISIÓN DE LITERATURA | 10 |
| 2.1. Generalidades del Propóleos | 10 |
| 2.1.1. Etimología | 10 |
| 2.1.2. Composición del Propóleos..... | 10 |
| 2.1.3. Producción y cosecha..... | 12 |
| 2.1.4. Actividad terapéutica de propóleos en humanos..... | 13 |
| 2.1.5. Propóleos para uso veterinario..... | 15 |
| 2.1.6. Control de Fitopatógenos..... | 16 |
| 2.2. Generalidades de Fitopatógenos Fungosos | 19 |
| 2.2.1. <i>Alternaria</i> sp..... | 19 |
| 2.2.2. Medios Para Cultivos..... | 19 |
| 2.2.3. Morfología..... | 21 |
| 2.2.4. Ecología de <i>Alternaria</i> sp..... | 23 |
| 2.2.5. Micotoxinas..... | 24 |
| 2.2.6. <i>Oidium</i> sp. | 25 |
| 2.2.7. Morfología..... | 26 |
| 2.2.8. Ecología de <i>Oidium</i> sp..... | 27 |
| 2.2.9. <i>Cercospora</i> sp..... | 30 |
| 2.2.10. Morfología..... | 30 |
| 2.2.11. Ecología de <i>Cercospora</i> sp..... | 31 |
| CAPITULO III | 33 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 33 |
| 3.1. Ubicación | 33 |

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

| | |
|--|-----------|
| 3.2. Materiales | 33 |
| 3.2.1. Material Biológico. | 33 |
| 3.2.2. Solución Antagónica. | 33 |
| 3.2.3. Medio de cultivo. | 34 |
| 3.2.4. Material de vidrio. | 34 |
| 3.2.5. Equipo de esterilización y asepsia. | 34 |
| 3.2.6. Equipo y material óptico. | 34 |
| 3.2.7. Desinfestantes. | 34 |
| 3.2.8. Otros materiales. | 34 |
| 3.3. Metodología | 34 |
| 3.3.1. Selección de colmenas. | 34 |
| 3.3.2. Identificación de especies vegetales. | 35 |
| 3.3.3. Instalación de colmenas productoras de propóleos. | 35 |
| 3.3.4. Acondicionamiento y evaluación sanitaria de las colmenas. | 35 |
| 3.3.5. Instalación de trampas. | 36 |
| 3.3.6. Monitoreo periódico de colmenas. | 36 |
| 3.3.7. Colecta, envasado y transporte de propóleos. | 36 |
| 3.3.8. Características físicas del propóleos colectado. | 37 |
| 3.4. Preparación de la Solución de Propóleos | 37 |
| 3.4.1. Calidad del propóleos. | 37 |
| 3.4.2. La solución alcohólica de propóleos (SAP). | 37 |
| 3.4.3. Purificación de la SAP. | 38 |
| 3.4.4. Diluciones para ensayos de antagonismo. | 38 |
| 3.5. Tratamientos en estudio | 39 |
| 3.6. Antagonismo de diluciones de propóleos sobre el inóculo conidios de <i>Alternaria</i> sp., <i>Cercospora</i> sp. y <i>Oidium</i> sp. | 39 |
| CAPITULO IV | 41 |
| 4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 41 |
| 4.1.1. Evaluaciones obtenidas a las 24 horas | 43 |
| 4.1.2. Evaluaciones obtenidas a las 48 horas | 48 |
| 4.1.3. Evaluaciones obtenidas a las 72 horas | 54 |
| CAPITULO V | 59 |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 59 |
| 5.1. CONCLUSIONES | 59 |
| 5.2. RECOMENDACIONES | 60 |
| CAPITULO VII: | 61 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 61 |
| ANEXOS | 64 |

RESUMEN:

ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE PROPÓLEOS CAJAMARQUINOS FRENTE A: *Cercospora* sp. *Alternaria* sp. y *Oidium* sp. EN CONDICIONES *IN VITRO*.
Rojas Hurtado, Ciro y Manuel Salomón Roncal Ordoñez. Universidad Nacional de Cajamarca. Escuela Académico Profesional de Agronomía. Cajamarca. Perú.
Email:hurtadorc@hotmail.com

El efecto de cuatro concentraciones de propóleos: 1/10, 1/100, 1/1000 y la solución concentrada, de apiarios de la provincia de Cajamarca, sobre inóculos de *Cercospora* sp. *Alternaria* sp. y *Oidium* sp. tuvieron comportamiento fungistático y fungicida. Las concentraciones 1/10 y 1/100 sobre el inóculo de cepas de *Alternaria* sp. manifestaron su efecto a partir de las 48 horas y la concentración 1/1000 transcurrido 72 horas; permitiendo el desarrollo limitado de filamentos sin la formación de conidióforos y conidios. De igual manera ocurrió sobre el inóculo de *Cercospora* sp.; generalmente germinaron de dos a tres células por conidio originando tubos germinativos rechonchos unicelulares que no llegaron a prosperar filamentos. Sobre el inóculo de *Oidium* sp. todas las concentraciones de propóleos tuvieron efecto fungicida. Propóleos concentrado manifestó acción fungicida para las tres cepas fungosas.

SUMMARY:

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF CAJAMARCAN PROPOLIS ON *Cercospora* sp. *Alternaria* sp. and *Oidium* sp. *in vitro* CONDITIONS. Rojas Hurtado, Ciro and Manuel Salomón Roncal Ordoñez. National University of Cajamarca. Academic Professional School of Agronomy. Cajamarca. Peru. Email: hurtadorc@hotmail.com

The effect of four concentrations of propolis: 1/10, 1/100, 1/1000, and the concentrated solution, from apiaries in the province of Cajamarca, on inocula of *Cercospora* sp. *Alternaria* sp. and *Oidium* sp. showed fungistatic and fungicidal behavior. The 1/10 and 1/100 concentrations showed their effects on the strains of *Alternaria* sp. after 48 hours, and the 1/1000 concentration after 72 hours; permitting the limited development of filaments without the formation of conidiophores and conidia. The same result occurred with the inoculum of *Cercospora* sp.; generally two or three cells per conidia germinated originating thick unicellular germinal tubes that did not give rise to filaments. All the concentrations of propolis had a fungicidal effect on the *Oidium* sp. inoculum. Concentrated propolis manifested fungicidal behavior for the three fungal strains.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Para atenuar el ataque de plagas y fitoenfermedades producidas por diferentes agentes, la agricultura actual se ha visto inundada de agroquímicos con el beneficio de mantener el potencial genético de las diferentes especies y variedades cultivadas. Dentro de la gama de pesticidas usados, los que destacan son los fungicidas, que cumplen su propósito, pero el daño ocasionado al entorno es irreparable, porque los componentes del producto afectan a la micro flora y fauna las cuales le da cualidades productivas a los suelos.

El rápido efecto de los productos químicos para el control de patógenos ha traído como consecuencia el uso indiscriminado de éstos productos contribuyendo con el deterioro paulatino y constante de la naturaleza, ocasionando alteraciones en las diferentes formas de vida de los ecosistemas, repercutiendo en conjunto en las cadenas tróficas de un lugar, región, país o continente. Estas complicaciones producto de una agricultura mundial moderna han obligado a retomar el conocimiento de prácticas agrícolas andinas ancestrales.

Basados en estos conocimientos organizamos la presente investigación, con el propósito de utilizar propóleos contra tres fitopatógenos aislados de cultivos de manzano (*Malus communis* L.), granadilla (*Passiflora edulis* L.) y tomatillo (*Physalis peruviana* L.)

1.2. Problema de Investigación.

¿El propóleos tiene propiedades antagónicas contra fitopatógenos como *Alternaria* sp., *Oidium* sp., *Cercospora* sp.?

1.3. Objetivo General.

Determinar la actividad antagónica de las diluciones de propóleos frente al inóculo, *Alternaria* sp., *Oidium* sp., *Cercospora* sp. en condiciones in vitro.

1.4. Hipótesis.

Las diluciones de propóleos manifiestan antagonismo frente al inóculo de *Cercospora* sp., *Oidium* sp. y *Alternaria* sp.

1.5. Variables.

Variable dependiente.

Inoculo de *Cercospora* sp., *Oidium* sp. y *Alternaria* sp.

Variable Independiente.

Diluciones de propóleos.

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1. Generalidades del Propóleos.

2.1.1. Etimología

El término *propóleos* proviene del griego pro que quiere decir delante o en defensa de, y polis: ciudad; es decir delante de la ciudad, refiriendo esta connotación a la colmena o mejor dicho antes de la ciudad de las abejas. Este término ha sido utilizado en su acepción original, sin modificación alguna en casi todas las lenguas indoeuropeas. (Bedascarrasbure. *et al.* 2003)

2.1.2. Composición del Propóleos.

Las abejas (*Apis mellifera*), recogen, partículas resinosas de yemas, brotes y peciolos de hojas de diferentes vegetales, que una vez en la colmena mezclan con cera y secreciones salivares para obtener el propóleos. La producción anual de esta resina es de 10-300 g/colmena, difiriendo según en función de la variedad de abejas, el clima la flora y el método de recolección. (Lozina. *et al.* 2010)

Las abejas utilizan el propóleos para recubrir todas grietas y aberturas de la colmena, tiene acción fungicida y antibiótica, evitando de ésta manera enfermedades en la colonia. (Lozina. *et al.* 2010)

Se han identificado más de 160 compuestos, de los cuales un 50% son fenoles, a los cuales se les atribuye acción farmacológica. (Bedascarrasbure. *et al.* 1999); destacando los flavonoides, ácidos aromáticos y sus ésteres, aldehídos aromáticos, triglicéridos fenólicos de los propóleos que en la planta se desempeña como sustancias alelopáticas y disuasorio nutritivo, destacándose la acción de algunas cumarinas en la defensa contra infecciones provocadas por hongos. Las sustancias fenólicas fueron usadas desde épocas remotas en procesos industriales de curtido de pieles, elaboración de tinta y el refinado de vinos. En el proceso fisiológico de la planta los compuestos fenólicos al constituyen como base de los compuestos de esencias aromáticas que facilitan la atracción de insectos, favoreciendo la polinización, o que repelan a ciertos animales herbívoros, actuando como disuasorios nutritivos. En general, los compuestos fenólicos tienen propiedades antisépticas y pueden ejercer una función teletóxica, dada su naturaleza volátil. (Azcón. *et al.* 1993). La composición de los propóleos depende básicamente de las fuentes vegetales donde se originaron y de la función antifúngica específica dentro de la colonia. (Bedascarrasbure. *et al.* 1999)

El propóleos contienen una serie de ácidos fenólicos libres, como: ácido caféico, p-cumarico y ferúlico (Saiz. 2000); éstos son derivados del ácido cinámico han sido poco estudiados, pero se sabe que las especies vegetales que presentan algunos de estos ácidos en la cubierta de las semillas, actúan como inhibidores de la germinación ya que durante éste proceso captan oxígeno y se oxidan disminuyendo la tasa de respiración del embrión. En la naturaleza éstos compuestos no sólo se encuentran como ácidos libres si no que muchas veces se los halla conjugados con poliaminas. Componentes como los ésteres del ácido caféico, cafeato de bencilo y cafeato de dimetil alilo, apenas existen datos al respecto, pero estos implican en propiedades importantes del propóleos. (Saiz. 2000). Investigaciones recientes han demostrado que plantas de tabaco infectadas con el virus del mosaico reaccionan acumulando estas

poliaminas conjugadas, y que la multiplicación del virus es inhibida en presencia de éstos compuestos (Azcón. *et.al.* 1993).

La composición del propóleos consta de resinas y bálsamos en un 50 a 55 %, cera 25 a 35 %, aceites volátiles 10%, polen 5 %, sustancias orgánicas y minerales 5 %. Flavonoides como la galangina, quericitina o los ácidos aromáticos y sus ésteres (ácido caféico, ácido cinámico), aldehídos aromáticos, cumarinas, vitaminas y minerales (Saiz. 2000); la cantidad de éstos en la composición del propóleos es muy variable, debido al origen vegetal del cual las abejas extraen las sustancias, así que las concentraciones de los componentes varían de acuerdo al micro clima donde las colmenas se desarrollen. (Sosa. *et al.* 2000)

2.1.3. Producción y cosecha.

Para efectuar la cosecha de propóleos, es necesario preparar la colmena de donde se recolectará el producto. La ubicación del colmenar es un factor de importancia, ya que el mismo debe estar alejado de zonas donde existan cultivos a los cuáles se efectúen tratamientos con plaguicidas. También, se deben seleccionar la zona según el tipo de vegetación, eligiendo las especies arbóreas y arbustivas, identificadas como buena fuente de resinas, que es la materia prima a partir de la cual la abeja elabora el propóleos. (Bedascarrasbure. *et al.* 1999)

Otro factor de gran importancia, es el estado sanitario de la colmena: es preciso elegir las que están libres de enfermedades, lo que evitaría el empleo de antibióticos y/o pesticidas, que pueden contaminar al propóleos. En casos donde sean inevitables los tratamientos, es preciso emplear productos orgánicos, cuyos residuos no resulten peligrosos: por ejemplo, incorporar el uso de aceites esenciales, ácidos orgánicos: fórmico, oxálico y láctico. (Bedascarrasbure. *et al.* 1999)

Los métodos utilizados para la cosecha de propóleo son: el raspado de las superficies de la colmena, el sistema de mallas mosquiteras y uso de cuñas separadoras. Estos tres medios de recolección no influyen en el rendimiento, en cuanto a la calidad, la extracción por cuñas resulta más conveniente por su contenido en polifenoles totales y menor porcentaje de impurezas. La extracción con malla permite obtener un propóleo granulado, facilitando el proceso de extracción con solventes de la fracción útil del producto. (Sosa. *et al.* 2003)

2.1.4. Actividad terapéutica de propóleos en humanos.

Investigaciones científicas develan las respuestas a interrogantes acerca de los mecanismos de acción que explican sus propiedades cicatrizantes, estimulantes del sistema inmunológico, antimicrobiana y anticancerígena. Propiedades que han traído como consecuencia una creciente utilización de productos en base a propóleos como suplementos dietarios, en cosmetología y medicina veterinaria. (Bedascarrasbure. *et al.* 1999)

A la fecha, el propóleo es la única sustancia de la colmena de carácter antimicótico, especialmente, siendo los ascomicetos sensibles; también tiene propiedades bacteriostáticas y bactericidas, debidas principalmente a una hidroxiflavona, la galangina, que sirve para tratar enfermedades infecciosas, inducidas por bacterias gram-positivas. Propóleos es antiinflamatorio, pero no tiene capacidad antipirética. (Saiz. 2000)

Debido a su acción antimicótica se han obtenido excelentes resultados en infecciones bucales y por su comportamiento antibacteriano el "Extracto Etanólico del Propóleos Peruano" (EEPP) es efectivo contra *Streptococcus mutans*. muestra una mayor tendencia de actividad inversamente proporcional a su concentración, que en el caso del

Lactobacillus casei; tal acción antibacteriana en las concentraciones 0.8, 20 y 30 % es significativa en comparación al testigo negativo; asimismo, la acción contra *Streptococcus mutans* es mayor que en *Lactobacillus casei*; siendo significativas en las concentraciones de 0.8 y 20 %; y también la acción antibacteriana del EEPP al 0.8 % es mayor que la acción de la Clorhexidina, tanto para *Streptococcus mutans* como para *Lactobacillus casei*. (Eguizábal y Moromi. 2007)

Por lo antes mencionado; propóleos se coloca como una de las sustancias promisorias para el control de cánceres y tumores en el ser humano. (Rao. *et al.*1992), al sintetizar tres ésteres del ácido cafeico, denominados metilcafeato, feniletilcafeato, y feniletil dimetil cafeato y estudian su actividad frente a DMBA (carcinógeno mamario y de colón), encontrando que se inhibía significativamente el crecimiento de células HT-29 de adenocarcinoma de colon, así como la síntesis de DNA, RNA y proteínas. Por otra parte, estudian las actividades de ciertas enzimas que indican la proliferación celular, que cataliza la formación de putrescina, diamina formada por la descomposición de aminoácidos en organismos vivos y muertos; y proteína tirosina kinasa (TPK), enzima que se encarga de adicionar un grupo fosfato en restos de tirosina de las proteínas, siendo este un mecanismo por el cual los factores de crecimiento indican a las células que inicien el crecimiento, como el caso de ciertas células cancerosas; resultando que las actividades de estas enzimas eran inhibidas en las mismas células HT-29 a diferentes concentraciones de los tres compuestos estudiados. Una vez establecido la potente inhibición en el crecimiento tumoral de colon humano por ésteres del ácido cafeico, se sugiere que estos compuestos poseen actividad antitumoral frente a carcinogénesis de colon. (Eguizábal y Moromi. 2007)

En una recopilación de datos se detalla que los propóleos centroeuropeos (Alemania, Francia y Austria), con composiciones cualitativas similares y predominio del ácido trans-p-cumárico, muestran actividad fungicida frente

a *Candida albicans* hongo diploide asexual (forma de levadura), saprófito de la familia de los Sacaromicetos, puede asumir patogeneidad provocando la candidiasis; en ese caso se presenta como una afección vaginal (vaginitis), de la cavidad oral (muguet), del intestino o de la piel. (Quintero. *et al.* 2008). Propóleos mediterráneos (Bulgaria, Turquía, Grecia y Argelia), que contienen flavonoides, ésteres del ácido cafeico y ácidos ferúlicos, presenta menor actividad antifúngica. Por su parte, los propóleos egipcios, con dos ésteres de cafeato y dos triterpenoides, es más activo frente a *Candida albicans* que el que no contiene ácidos aromáticos, ni ésteres, ni flavonoides y, estudios sobre la incidencia de la coccidiomycosis, enfermedad producida en personas y animales por hongos dimórficos del género *Coccidioides*, en América latina, sugieren que, independientemente de su origen geográfico, los macrófagos estimulados con propóleos aumentan su actividad fungicida. (Farré. *et al.* 2004)

En las diferentes especies del género *Candida*, el efecto de los propóleos depende de las especies, siguiendo en orden de efectividad de mayor a menor en *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* y *Candida guilliermondii*. Pero en *Candida albicans* en mucosa oral, el extracto etanólico de propóleos al 20% se muestra tan efectivo como la nistatina y supera a otros antifúngicos (clotrimazol, econazol y fluconazol) que presentan resistencias. (Farré. *et al.* 2004)

2.1.5. Propóleos para uso veterinario.

Se han obtenido resultados inhibitorios de interés al trabajar ensayos con levaduras de la especie *Malassezia pachydermatis*, que son las responsables de la otitis canina. Concentraciones de propóleos que van desde 0.15 mg/ml hasta 0.70 mg/ml, sólo encontró desarrollo microbiano en la concentración de 0.15 mg/ml, pero en las muestras de 0.30 mg/ml hasta 0,70mg/ml no hubo desarrollo de del micro organismo en estudio.

La concentración inhibitoria mínima lo que indica un alto contenido de los principios activos responsables de la acción farmacológica. (Lozina. *et al.* 2006)

Los propóleos también se utilizan para cicatrizar heridas y en el tratamiento de patologías, tales como diarreas, abscesos, quemaduras, dermatosis, mastitis, coccidiosis y eimeriasis de los conejos (*Oryctolagus cuniculus*), y también para mejorar la ganancia de peso de los terneros lactantes y de las gallinas ponedoras (*Gallus gallus*). Aunque el autor no da referencias de cómo se realizaron estos tratamientos. (Farré. *et al.* 2004)

2.1.6. Control de Fitopatogenos

Algunas especies de mohos - principalmente del género *Aspergillus* y frente a levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae* se presentan como especies fungosas sensibles a los propóleos. (Saiz. 2000)

Los propóleos muestran, en distintos grados, efectos fungicidas contra numerosas especies de hongos como, *Aspergillus niger*, (Farré. *et al.* 2004), responsable de la leche vinagre y que lo encontramos induciendo pudriciones en frutas post cosecha; contra *Botrytis cinerea*, patógeno que induce la pudrición blanda en cultivos de vid (*Vitis vinifera*) y fresa (*Fragaria vesca*), *Ascosphaera apis* y *Plasmopara viticola*. La mayor inhibición observada, 50% en todas las especies estudiadas, corresponde a una concentración de propóleos del 4% y los microorganismos más afectados son la *Alternaria alternata* y el *Penicillium digitatum*. (Farré. *et al.* 2004)

El tipo de diluyente de los propóleos influye directamente en la capacidad antifúngica del producto, ya que estos productos como: aceite, etanol, propilenglicol o glicerina. Al comparar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de propóleos con la de la griseofulvina, frente a dos variedades de *Aspergillus flavus*, se comprueba que, ambas sustancias, reducen la masa micelar seca, la germinación de conidios, el crecimiento y la producción de aflatoxina B1, tanto más cuanto mayor sea su concentración y que, a igualdad de ésta, la griseofulvina. (Farré. *et al.* 2004), sustancia fenólica aislada por diversas especies del género *Penicillium* y usada en la actualidad como antifungico en humano y animales – (Azcón. *et al.* 1993), ésta sustancia es cuatro veces más eficaz que los propóleos. (Farré. *et al.* 2004)

El propóleos procedente de la provincia de Misiones- Argentina; posee propiedades antifúngicas en concentraciones (0,1, 0,2 y 0,4 ml); que coinciden con los parámetros de mayor poder de oxidación, y de presencia de compuestos flavonoides, derivados de la diferentes especies vegetales de la región de origen de la resina. (Sosa. *et al.* 2000)

En cepas aisladas de *Colletotrichum gloesporioides* (Penz.) Sacc., agente causal de enfermedades comúnmente llamadas antracnosis. Se sembraron en un medio donde previamente se inoculo la solución de propóleos al 10 % en alcohol etílico de 96 G.L. se pudo observar que dependiendo a la zona de origen del propóleos este en mayor o menor medida el desarrollo de *Colletotrichum gloesporioides*. (Sosa. *et al.* 2000)

En un cultivo de tomates (*Lycopersicon esculentum* (Mill.) Nym) en invernadero se presentó ataque de “moho de la hoja”, inducido por *Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri, situación que indujo a realizar una aspersión experimental con una solución de propóleos al 50%, procedente de campos vírgenes de la Provincia de Misiones; deteniendo la enfermedad. En plantas inoculadas con el patógeno luego de aplicaciones con

propóleos no se manifestó el desarrollo de la enfermedad. (Sosa. *et al.* 2000)

Investigaciones para el control de cepas de *Sclerotium cepivorum* con propóleos reportaron que a concentraciones inferiores al 6% mostro un comportamiento fungistático y efecto fungicida a concentraciones superiores al 8%. Los propóleos a las concentraciones de 2.4 y 6% retardaron entre 2 y 17 días del inicio de crecimiento micelial, y entre 9 y 23 días del proceso de formación de esclerocios. Estos esclerocios al ser sometidos a concentraciones de propóleos de 8 y 10% no germinaron. (Sánchez y Acevedo. 1999)

Aplicaciones de solución etanólica de propóleos muestran que éste presentó una positiva actividad antiviral en plantas, la mayor sensibilidad se ha encontrado con relación al virus de la necrosis del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), y la más reducida frente al virus del mosaico del pepino (*Cucumis sativus* L.). Los investigadores no solo reportan la disminución de lesiones si no que manifiestan que el propóleos también inhibe la reproducción del virus en toda la planta. (Pérez y Jimeno. 1987)

Ensayos realizados con extractos alcohólicos de propóleos para el control de podredumbres de post cosecha de zapallos (*Cucurbita máxima* Dutch.). Se ha logrado inhibir "in vitro" el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de zapallos (*Cucurbita máxima* Dutch.) enfermos. (Rodríguez. 1995)

2.2. Generalidades de Fitopatógenos Fungosos

2.2.1. *Alternaria* sp.

| | |
|------------------|---------------------|
| División | : Amastigomycota |
| Sub. División | : Deuteromycotina |
| Forma- Clase | : Deuteromycetes |
| Forma Sub. Clase | : Hyphomycetidae |
| Orden | : Moniliales |
| Familia | : Dematiaceas |
| Género | : <i>Alternaria</i> |

(Carrillo. 2002)

El género *Alternaria* como especies cosmopolitas se encuentran en un amplio rango de materiales y productos. Como saprobias pueden deteriorar alimentos y forrajes, produciendo compuestos biológicamente activos tal como micotoxinas. Como patógenas reducen el rendimiento de las cosechas o afectan a los vegetales almacenados. Es necesaria la identificación precisa de las especies porque cada nombre entraña un conjunto de características (referencias para el crecimiento y producción de metabolitos secundarios) que permiten predecir el comportamiento del hongo. (Carrillo. 2002)

2.2.2. Medios Para Cultivos.

Alternaria para su adecuada identificación de acuerdo al medio de cultivo donde se realice la siembra. Así tenemos las siguientes características para algunas especies de *Alternaria*.

Las características del crecimiento constituyen uno de los criterios para la clasificación. En un medio Czapek-Levadura *Alternaria alternata* y

Alternaria infectoria producen colonias de tamaño similar (56 - 63 mm de diámetro en una semana a 27°C), chatas y ligeramente algodonosas. El micelio aéreo es gris verdoso con reverso negro parduzco. Muchas cepas de *Alternaria infectoria* forman escasos conidios, tienen un micelio algodonoso y el reverso de la colonia es oscuro en el centro rodeado de un anillo anaranjado pálido. (Carrillo. 2002)

Pero en un medio de Malta-Glucosa *Alternaria alternata* forma colonias algodonosas, elevadas, con micelio gris verdoso y esporos negro parduzco. *Alternaria infectoria* tiene colonias pardo aceituna a negro parduzco, chatas y algodonosas, a veces con fascículos y esporulación moderada mostrando el micelio gris y con frecuencia un pigmento soluble verde amarillento. Otras especies casi no presentan esporulación sobre este medio. (Carrillo. 2002)

En medios Czapek-Glicerol *Alternaria alternata* y *Alternaria infectoria* producen colonias indistinguibles, de color pardo grisáceo a pardo oliva, 7 - 12 mm de diámetro en 1 semana a 27°C, con micelio poco denso. En Malta-Diclorán, las colonias tienen un diámetro de 40 - 45 mm en iguales condiciones. *Alternaria alternata* muestra un color negro verdoso en anillos concéntricos, la colonia aterciopelada tiene largas cadenas no ramificadas de conidios lisos. *Alternaria infectoria* tiene colonias fasciculadas, de color gris verdoso, con cadenas siempre ramificadas de conidios rugosos y con frecuencia forman estructuras teleomórficas inmaduras. (Carrillo. 2002)

Las diferencias entre *Alternaria longipes*, y *Alternaria agaisen* son mayores a 33°C, pues la primera no crece y la segunda alcanza un diámetro de colonia en un 40% mayor que la última. A 20°C *Alternaria agaisen* tiene colonias de color aceituna amarillento en un medio Sacarosa-Dicloran mientras que *Alternaria alternata* muestra colonias

verde oscuro y *Alternaria longipes* un color amarillo paja. *Alternaria arborescens* forma colonias verde aceituna oscuro y *Alternaria infectoria* de color blanco mientras que *Alternaria tenuissima* suele presentar varios tonos de verde. (Andersen. *et al.* 2001).

2.2.3. Morfología

Alternaria tiene una célula conidiogena que es integrada, terminal o intercalar, generalmente simpodial. Los conidios, son característicos por su tabicación longitudinal, transversal u oblicua, son del tipo dictiospóreo y presentan forma ovoide u obclavada, con superficie lisa o rugosa y de coloración marrón claro a oscuro, generalmente se forma en cadenas acrópetas. Los conidios pueden aparecer solitarios o encadenados y son fácilmente reconocibles debido a su tamaño (30-50 x 10-14 micras) color y forma característicos anteriormente nombrados. (Alexopoulos. 1996)

Por ello es que es común observar en los hongos una plasticidad morfológica. Las especies de *Alternaria* crecen en medios ricos y en la obscuridad bajo condiciones ambientales no controladas, se forma un exceso de micelio aéreo que afecta al desarrollo tridimensional de la esporulación. Al hacer las preparaciones húmedas se destruyen las estructuras y como resultado solo se observan conidios. (Carrillo. 2002)

A las cepas se las divide en secciones en base a la morfología de los conidióforos. Así tenemos:

Una primera sección que comprende especies fitopatógenas que forman conidios solitarios con grandes picos, rara vez en cadenas de 2 o 3 conidios, como por ejemplo *Alternaria dauci*. (Carrillo. 2002)

Otra sección, que reúne a las especies que producen conidios encadenados no ramificados, por ejemplo *Alternaria gaisenii* con esporas ovoides gruesas en cadenas relativamente cortas. (Carrillo. 2002)

El grupo de *Alternaria tenuissima* tiene cadenas rectas relativamente largas de esporas nacidas sobre cortos conidióforos primarios, pero ocasionalmente hay una ramificación corta sobre un conidióforo secundario nacido en la base de la cadena desde una célula intercalar del conidio. En cultivo las cadenas tienen una posición erguida, vertical. (Carrillo. 2002)

La tercera sección comprende las especies cuyas cadenas están ramificadas de manera diversa y abarca especies toxigénicas y otras que no lo son. El grupo *Alternaria alternata* produce cadenas de 10 o más conidios muy ramificadas a partir de conidióforos cortos. La ramificación de los conidios surge de conidióforos secundarios desde células conidiales basales o apicales, en relación 1:1, dando un aspecto abierto. (Carrillo. 2002)

Alternaria arborescens posee largos conidióforos primarios con conidios en cadenas ramificadas. La ramificación ocurre predominantemente desde el ápice conidial y el conidio primario puede alcanzar hasta dos veces el tamaño de conidio siguiente llevando un corto conidióforo secundario geniculado con varios lóculos. La proliferación apical predomina resultando un aspecto relativamente compacto y complejo. (Carrillo. 2002)

Alternaria infectoria, se caracteriza por los largos conidióforos secundarios apicales, con varios lóculos conidiógenos, lo que resulta en una ramificación abierta. Los conidióforos primarios son cortos y se producen

en manojos dando al cultivo un aspecto granular. La forma de los conidios, el color y la superficie de la colonia varía dentro de este grupo. (Carrillo. 2002)

2.2.4. Ecología de *Alternaria* sp.

A. Síntomas.

La alternariosis se manifiesta a nivel de tallos, hojas y frutas, anotando que; en las hojas se presentan pequeñas manchas circulares de color café frecuentemente rodeadas de un halo amarillo. Las manchas tienen la característica de tener anillos concéntricos de color oscuro. (Alexopoulos. 1996). Producto de la máxima actividad patogénica que induce a la planta a la formación y acumulación de melanina. En los anillos concéntricos se producen esporas polvorientas y oscuras. Usualmente las manchas aparecen en las hojas más viejas y de estas suben al resto de la planta. A medida que la enfermedad progresa, el hongo puede atacar tallos. (Alexopoulos. 1996).

Los síntomas de *Alternaria* aparecen sobre tallos, follaje principalmente durante períodos lluviosos. Después del moteado inicial, las hojas se tornan quebradizas y cambian de color amarillo-café a café oscuro. Las manchas se agrandan y forman aros concéntricos, con apariencia rizada; y por último todo el follaje es destruido. Si la humedad persiste los botones florales y flores se infectan. La temperatura óptima para la enfermedad es de 30°C. En estados avanzados la enfermedad destruye la planta. (Agrios. 1997)

B. Relaciones Fisiológicas.

Alternaria sp. es, después de las especies de *Cladosporium* sp., el moho cuyas esporas se encuentran suspendidos en el aire con mayor frecuencia. En los cultivos de cereales, las hojas y los granos son colonizados por diferentes especies de *Alternaria* sp. y puede haber una penetración sub-epidérmica si toleran las aplicaciones de los fungicidas, por lo que suelen ser aisladas de la mayoría de los granos en el momento de la cosecha. El género *Alternaria* compite espacialmente con los otros hongos sobre la superficie vegetal y es antagonista de *Cladosporium* sp., *Epicoccum* sp. y *Fusarium* sp. (Carrillo. 2002)

Las condiciones óptimas para la esporulación de *Alternaria* es a 27°C pero es inhibida por debajo de 15°C o por sobre 33°C, aunque el rango de crecimiento está entre 0 y 35°C. La actividad de agua mínima para el desarrollo es 0.88 y la óptima casi 1.00; Esto relacionado con el contenido de agua de la célula fisiológicamente activa. El crecimiento se reduce a la mitad en una atmósfera con más de 15% CO₂ o con 2,8% O₂. (Agrios. 1997)

2.2.5. Micotoxinas.

Alternaria sp produce un sin número de toxinas destacan entre ellas: altenueno, alternariol y alternariolmonometil y ácido tenuazónico, las condiciones en las que estas se presentan son variables así tenemos que en cultivos de trigo almacenado, *Alternaria* se desarrolla, si los granos tienen una humedad del 22 – 23%. La producción de altenueno, alternariol y alternariolmonometil-éter es óptima a 25°C con una actividad del agua de 0,98 sobre granos de trigo, mientras que la producción máxima de ácido tenuazónico por *Alternaria tenuissima* ocurre a 20°C y una actividad del agua muy próxima a 1.0. La infección de tomates por este género es favorecida con la humedad debida a la lluvia o el rocío y

una temperatura subóptima (<15°C), pudiendo causar importantes pérdidas de las cosechas. (Carrillo. 2002)

2.2.6. *Oidium* sp.

La clasificación de los hongos que inducen oidiosis se reportan en su forma perfecta (FP)

Clase : Ascomycetes
Forma Sub. Clase : Pyrenomycetidae
Orden : Erysiphales
Familia : Erysifaseae
(Alexopoulos y Mins. 1979)

Las oidiosis son producidas por un patógeno de desarrollo semi interno cuyos conidióforos salen al exterior a través de los estomas; se manifiesta en climas cálidos y semiáridos, y posee un amplio rango de hospederas. Manifiesta en regiones templadas y tropicales, que afecta a cultivos de campo abierto e invernadero. Posee un amplio rango de hospederas, entre los que se encuentran solanáceas y cucurbitáceas.

La oidiosis o cenicilla se manifiestan como manchas amarillas en el haz que se vuelven necróticas en el centro, observándose un fieltro blanquecino en el envés. En caso de fuerte ataque la hoja se seca y se desprende. Las solanáceas silvestres actúan como fuente de inóculo. Se desarrolla a 10-35 °C con un óptimo de 26 °C y humedad relativa del 70%. En ciertos casos se muestra un micelio superficial de color blanco con ocasionales bordes amarillos en las hojas y tallos, amarillamiento, desecación, necrosis y defoliación. (Wiese. 1986)

2.2.7. Morfología.

En Cajamarca las oidiosis se presentan su forma imperfecta (FI), con diferencias de tamaño y forma de conidióforos y oidiosporas, posiblemente dependientes de la especificidad patogénica en 20 hospederos. (Roncal. 2010)

Las formas que adopta un oídium son muy variables. Así vemos que los patógenos causantes de de oidiosis en cucurbitáceas presentan hifas hialinas con escasas formaciones par el anclaje. La célula conidiogénica se diferencia del resto al aumentar de diámetro para dar origen al conidióforo unicelular, que la desarrollarse se transforma en el tubo de diferenciación de oidiosporas, éstas se muestran unidas de forma continua en número de 4 a 7. El tubo germinativo se ubica a un costado del extremo de la oidiospora.

A diferencia de los patógenos que producen oidiosis en *Tagetes minuta* H.B.K. en su fase imperfecta (FI), muestra hifas con protuberancias amorfas prominentes del anclaje a ambos lados de la hifa somática. En el interior de conidióforo se observan de una cinco oidiosporas en proceso de diferenciación, lo cual muchas veces aparenta una célula conidiogénica pluricelular. Las oidiosporas son ovoides, elípticas, cilíndricas unidas en cadena en número de una a tres; el tubo germinativo se ubica a un extremo del conidio.

Ovulariopsis cynarae presenta hifas hialinas con diámetro variable, el conidióforo es filamentoso unicelular y posiblemente es el de mayor longitud (312 a 326 um), en comparación al resto de patógenos que inducen oidiosis. Las oidiosporas ovoides se encuentran dispuestas en la porción terminal interna del conidióforo, al emerger estas se disponen en la parte apical externa de la célula conidiogénica filiforme aumentando de tamaño y adquiriendo formas ovoides de terminación roma, en punta o con los extremos romos.

Oidium sp. en *Dahlia variabilis* produce hifas hialinas con un diámetro de 6 μm , menor al de los conidióforos unicelulares con diámetro de 60 -117 μm Oidiosporas ovoides, elípticas raras veces cilíndricas de 40 – 43 μm en cadenas de seis unidades. (Roncal. 2007)

Es así que las diferentes especies de *Oidium* presentan conidióforos unicelulares cilíndricos, excepción de *Ovulariopsis cynarae* en alcachofa (*Cynara scolymus* L.), que es filiforme y *Oidium moniliales* en cebada (*Hordeum vulgare* L.), que es en forma de botella.

A nivel de oidiosporas su diferenciación se realiza dentro del conidióforo y su madures fisiológica se presenta fuera del mismo, forman cadenas muy variables que son fácilmente desprendibles permitiendo esto una fácil diseminación. En *Oidium* sp., en cerraja (*Sonchus oleraceus* L.), son 38 unidades en rosál 12 unidades; *Oidium farinosum* en manzano (*Malus communis* L.), de 10 unidades; en *Oidium leucoconium* de 8 unidades y en *Oidium moniliodes* de 7 unidades. (Roncal. 2010)

2.2.8. Ecología de *Oidium* sp.

A. Síntomas.

Las oidiosis o cenicilla se manifiestan como manchas amarillas en el haz de las hojas que se vuelven necróticas en el centro, observándose un fieltro blanquecino en el envés. En caso de fuerte ataque la hoja se seca y se desprende. En ciertos casos se muestra un micelio superficial de color blanco con ocasionales bordes amarillos en las hojas y tallos, amarillamiento, desecación, necrosis y defoliación. (Wiese. 1986)

Oidium sp. en *Cucurbita moschata* el primer síntoma una vez iniciada la infección es la presencia de puntos amarillos que aumenta de tamaño hasta cubrir un área de 2 cm², en el envés de la hoja se deja notar la pulverulencias de color blanco. A medida que aumenta la contaminación las infecciones se manifiestan como malformaciones de hojas jóvenes. Los tejidos mueren de colores pajizos claros y quebradizos.

La oidiosis en *Tagetes minuta* se presenta con pulverulencias blanquecinas distribuidas en toda la parte aérea de la planta. Iniciándose con la aparición de puntos blanquecinos en el haz de los folíolos los cuales se decoloran pasando de un color amarillo, marrón y finalmente un negro, el folíolo se enrolla y se torna quebradizo.

En *Lippia citriodora* la oidiosis se manifiesta con las pulverulencias en el haz y envés de la lámina foliar. El inicio de la intoxicación se muestra como puntos blancos los que progresivamente aumenta de tamaño y el hospedero pierde su color verde evidenciándose una clorosis en el área de las pulverulencia. El borde del folíolo se tiñe de un color marrón rojizo que paulatinamente avanza a la nervadura central lo cual es seguido de un ligero enrollamiento y coreacidad de la lámina foliar y finalmente la se necrosa en un color pajizo y de consistencia quebradiza.

Infecciones inducidas por *Oidium* sp. en *Cynaras colymus* en los inicios de la formación del signo es difícil la distinción ya que se confunde con los tricomas de color gris. A medida que avanza la infección la pulverulencia cambia a un gris amarillento, bajo estas condiciones las hojas afectadas se vuelven cloróticas y se necrosan tomando un color marrón claro el cual sólo es visible por el haz.

La oidiosis en dalia (*Dahlia variabilis* L.) se presenta con el signo polvoriento de apariencia cerosa distribuida en toda la parte aérea de la planta. Las pulverulencias necrosan el parénquima mostrando un color marrón a marrón claro. A medida que la infección avanza los bordes de las hojas se tiñen de color amarillo claro, seguido de una necrosis pajiza. (Roncal. 2007)

La oidiosis en manzano es inducida por *Podosphaera leucotricha* y en su fase imperfecta por *Oidium farinosum* (Bovey. et al. 1977)

Las pulverulencias de color gris claro se muestran en el tercio superior afectando al tejido cortical, meristemo apical, hojas en proceso de diferenciación y las completamente diferenciadas, las necrosis aparecen en los bordes y van avanzando progresivamente en la lámina foliar. (Roncal. 2007)

B. Relaciones Fisiológicas.

Las oidiosis tienen como fuente de inóculo a las solanáceas silvestres. Se desarrolla a 10-35 °C con un óptimo de 26 °C y humedad relativa del 70%. (Bovey. et al. 1977)

Las pulverulencias producidas son fácilmente desprendibles ya sea por acción del viento o lluvia, permitiendo estos factores muchas veces la diseminación de los patógenos infectando nuevas aéreas de cultivo. Como es el caso de *Oidium* sp. En *Lippia citridora* que se ve favorecida por la mínima dotación de agua a la planta principalmente en los meses de mayo a septiembre, pero éstas oidiosis son susceptibles a su enemigo natural, *Ampelomyces* sp. Que es un hongo de la familia

Sphaeropsidacea, quien tiene la capacidad de invadir el citoplasma celular del micelio del fitopatógeno.

En dalia (*Dahlia variabilis* L.) el patógeno que induce la oidiosis, prospera cuando los días presentan baja humedad relativa a la vez que el signo soporta la incidencia directa de los rayos del sol en los meses de junio a agosto en los valles de Cajamarca y Celendín.

Oidium farinosum (Fl) se presenta en ausencia de lluvias en los meses de mayo a septiembre, con una humedad relativa entre 55 a 60% y una temperatura de 15°C, en el valle de Cajamarca. (Roncal. 2007)

2.2.9. Cercospora sp.

División :Deuteromycota
Clase :Mitosporico
Orden : Moniliales
Familia :Dematiaceae
Género : Cercospora.
(Arias y Jeres. 2008)

2.2.10. Morfología.

El género *Cercospora* forma colonias de color gris oscuro por su cara superior, negras por su cara inferior, de borde a veces irregular, aterciopeladas, elevadas. Al microscopio, se observan conidios alargados septados, filiformes algo sinuoso, hialino, de base ensanchada, con cicatriz conidial marcada, conidióforos fasciculados, muy largos, oscuros y tabicados, de crecimiento definido, y el número de septos es de 9 por brazo; son de una coloración pardo-grisácea. Micelio de desarrollo lento, castaño grisáceo (Arias y Jeres. 2008)

El organismo causante de la mancha gris en *Physalis peruviana* L. *Cercospora* sp, produce largos conidios delgados, multicelulares, de oscuros a incoloros. Los conidióforos agrupados en racimos sobresalen de la superficie de la planta a través de los estomas y forman conidios una y otra vez sobre los nuevos ápices del micelio en proceso de crecimiento. Los conidios se desprenden con facilidad y a menudo son llevados a grandes distancias por el viento (Agrios. 2002).

2.2.11. Ecología de *Cercospora* sp.

A. Síntomas

En hojas infectadas por *Cercospora* sp. manifiestan pequeñas manchas necróticas de color marrón oscuro de aproximadamente 1 mm de diámetro con borde indefinido y halo clorótico, pudiéndose encontrar solitarias o coalesciendo y distribuidas por toda la hoja. Las manchas en estado avanzado de desarrollo llegan a medir hasta 10 mm, se necrosan y el centro se torna de color gris claro volviéndose quebradizo el tejido. La enfermedad provoca la abscisión de las hojas por lo que es común observar muchas con síntomas característicos en el suelo al pie de la planta afectada. Las manchas provocadas por *Cercospora* al principio aparecen a lo largo de los márgenes de las hojas, causando a menudo que las hojas se rican. Sin embargo, los síntomas son normalmente más severos y obvios a lo largo de todos los márgenes de las hojas. El hongo prefiere atacar a las hojas y plantas jóvenes más que a las adultas. En campos con infecciones graves sin embargo, tanto las hojas jóvenes como más adultas pueden ser atacadas. El patógeno también produce lesiones en los peciolos y tallos, caracterizadas por filos marrón oscuro y centros que van desde el tono bronceado hasta el gris. Las lesiones pueden juntarse y presionar los tallos, haciendo que las hojas mueran (Arias y Jeres. 2008)

Son comunes las lesiones de forma angular o redonda de 2 a 5 mm de color verde claro. Por el haz el borde de la lesión se torna amarillento y su parte central adquiere un color marrón de aspecto seco y quebradizo, estas áreas necróticas no presentan anillos concéntricos. En las lesiones de la enfermedad se manifiesta mediante crecimiento de micelio, más en el envés que en el haz. Se observa que generalmente la infección ocurre primero en las hojas más viejas y avanza hacia el follaje nuevo. Las infecciones severas ocasionan una defoliación y pérdida de frutos; es una enfermedad limitante de la producción (Silva. 2006)

Diferentes especies de *Cercospora* son capaces de producir una toxina, de color rojo, responsable de provocar síntomas de enfermedad; esta toxina, denominada cercosporina, desempeña un papel muy importante en la habilidad de *Cercospora kikuchii* para infectar la soja (*Glycine max* L.) y es responsable de la patogenicidad provocando muchos de los síntomas de la enfermedad. Se activa con la luz y provoca la muerte celular. Las plantas muy afectadas pierden gran cantidad de follaje lo que adelanta su maduración, sin el llenado correcto de vainas y las semillas disminuyen su germinación. Investigaciones han determinado la existencia de una relación directa entre la producción de cercosporina y la virulencia de las cepas (a mayor cantidad de toxina, mayor virulencia) y recientemente se ha reportado la existencia de algunas bacterias con distinta capacidad de detoxificar esta toxina (Lura. *et al.* 2009)

La mancha gris de hojas y cáliz es causada por el hongo *Cercospora* sp., esta enfermedad se presenta con mayor intensidad en épocas de alta humedad y es la principal enfermedad foliar de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) (Silva. 2006)

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación.

La investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología, edificio 2G de la Ciudad Universitaria de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, ubicados en las coordenadas 7°10'7"S 78°29'41"W a 2636 msnm.

3.2. Materiales.

3.2.1. Material Biológico.

- Inóculo de *Alternaria* sp, aislado de manchas foliares de granadilla (*Passiflora edulis* L.)
- Inóculo *Oidium* sp. obtenido de hojas de manzano
(*Malus communis* L.)
- Inóculo de *Cercospora* sp obtenido de hojas de tomatillo
(*Physalys peruviana* L.)

3.2.2. Solución Antagónica.

- Propóleos provenientes de las colmenas de las localidades de Cajamarca, Magdalena y Santa Bárbara.

3.2.3. Medio de cultivo.

- Medios de cultivo PDA (Dextrosa 20 g, papa 20 g, agar 18 g)

3.2.4. Material de vidrio.

- Beaker, cajas Petri, láminas porta y cubre objetos, probetas, pipetas, tubos de ensayo, vasos de diferente capacidad.

3.2.5. Equipo de esterilización y asepsia.

- Autoclave, cámara de flujo laminar, horno de esterilización, Incubadora, mecheros, pulverizadores manuales.

3.2.6. Equipo y material óptico.

- Lupa, Estereoscopio, Microscopio compuesto, Cámara fotográfica digital.

3.2.7. Desinfectantes.

- Alcohol 90%
- Hipoclorito de sodio al 5%,
- Agua destilada.

3.2.8. Otros materiales.

- Estiletes, jeringas hipodérmicas, algodón, bolsas de papel, jeringas, cinta masking, cinta adhesiva transparente, plumones, material de escritorio.

3.3. Metodología.

3.3.1. Selección de colmenas.

En los apiários ubicados en Cajamarca, Magdalena y Santa Bárbara se seleccionaron cuatro colmenas para la obtención de propóleos.

3.3.2. Identificación de especies vegetales.

Debido a que se trabajó con propóleo proveniente de diferentes localidades la diversidad botánica es muy amplia, identificándose especies vegetales como: eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.), ciprés (*Cupressus sempervirens* L.), mutuy (*Senna cajamarcae* H.S.Irwin & Barneby), molle (*Schinus molle* L.), pino (*Pinus* sp.), chilca (*Baccharis latifolia* – R&P. – Pers.), sauce (*Salix* sp.), penca (*Agave sisilana* Perriene.), mango (*Manguifera indiica* L.), palta (*Persea americana* Mill.), faique (*Acacia macracantha* Willd.), pájaro bobo (*Tessaria integrifolia* L.), plátano (*Musa paradisiaca* L.), pacaé (*Inga feuille* Willd.) y muña (*Mithostachys mollis* Griseb.). Estas plantas aportan la mayor parte de bálsamos y resinas que componen al propóleo.

3.3.3. Instalación de colmenas productoras de propóleos.

Las colmenas seleccionadas se dispusieron en condiciones de alta iluminación evitando zonas sombrías por vegetación circundante, en lo posible en un lugar donde la corriente del viento no golpee la piquera que debe estar preferencialmente dirigida al este.

3.3.4. Acondicionamiento y evaluación sanitaria de las colmenas.

Para incrementar la producción de propóleos se tuvo en cuenta: a) usar la base de la colmena más alta (2 cm), porque ésta deja entrar mayor cantidad de aire, a esta condición; las abejas responden incrementando la producción de propóleos, b) la entretapa fue remplazada por la trampa para propóleos; con la finalidad de generar mayor espacio para la producción de propóleos debido a que las abejas por instinto tienden a cerrar las aperturas que da condiciones adversas al desarrollo de la colmena.

La sanidad de la colmena incide directamente en la producción de propóleos. Para lograr este propósito realizamos evaluaciones periódicas, verificando homogeneidad en la postura de la reina, población y reserva de alimento; esta cualidad indica que las colmenas se encuentran en la capacidad de producir propóleos, miel, jalea real y acopio de polen. Colmenas que se encontraban sanitariamente débiles se realizaron tratamientos con ampicilina y abastecimiento de alimento líquido, hasta superar el cuadro sanitario.

3.3.5. Instalación de trampas.

Las trampas están constituidas por un sistema de mallas de polietileno que se ubicaron sobre los marcos de cada colmena en la cámara de miel; la trampa genera espacio libre y la circulación de corrientes de aire dentro de la colmena, razón que obliga a las abejas a sellar la malla con propóleos.

3.3.6. Monitoreo periódico de colmenas.

La actividad se realizó cada 15 días en el distrito de Magdalena, por estar geográficamente mas distanciado, cada 10 días los apiários de Cajamarca y el centro poblado de Santa Bárbara, en las visitas se evaluó la sanidad, reserva de alimento, y la cantidad de propóleos almacenado; las trampas que se encontraban selladas en un 70% eran retiradas para la extracción de propóleos.

3.3.7. Colecta, envasado y transporte de propóleos.

Las trampas una vez extraídas de la colmena eran sometidas a congelación para facilitar el desprendimiento de la resina. Otra forma de colecta consistía en utilizar la palanca universal apícola, realizando un raspado de las superficies de la colmena llámese marcos, cajas,

bases y tapa. El propóleo extraído se almacenaba en bolsa de polietileno y luego era trasladado al laboratorio de Fitopatología.

El propóleo colectado fue empacado en bolsas de papel y finalmente almacenado en un ambiente oscuro y alejado de la luz solar.

3.3.8. Características físicas del propóleo colectado.

Presentan colores variados desde marrones claros, amarillentos, rojizos hasta un negro brillante; de aroma penetrante, características que se reportan en la literatura para ser usados en el tratamiento de afecciones respiratorias. Otra cualidad fue la textura granular en forma de esferas pequeñas, de palatabilidad picante con gran elasticidad y plasticidad.

3.4. Preparación de la Solución de Propóleos.

3.4.1. Calidad del propóleo.

Esta característica está íntimamente ligada a la variabilidad de especies vegetales de las cuales las abejas recolectan las resinas y bálsamos, para obtener el producto final, así se asevera que a una mayor cantidad de especies mejor será el propóleo, razón por la cual desmenuzamos, mezclamos y homogenizamos los propóleos de las tres localidades, para así tener un producto de mejor eficacia (Eguizábal y Moromi. 2007)

3.4.2. La solución alcohólica de propóleos (SAP).

Se preparó utilizando 500 ml de alcohol de 70° por cada 300 g de propóleo. Una vez preparada la SAP, se envasó herméticamente en frascos plásticos estériles, para luego ser almacenados en un

ambiente oscuro y fresco; evitándose así que los componentes se volatilicen u oxiden en presencia de luz directa.

3.4.3. Purificación de la SAP.

Para liberar los componentes activos del propóleos, la solución fue agitada diariamente, durante 15 días. Pasado este tiempo de disgregación del propóleos la SAP se sometió a un proceso de eliminación de partículas residuales, primero dejando que éstas sedimentaran, seguidamente se trasiega a un envase de vidrio opaco estéril, finalmente se filtra y almacena en condiciones de baja humedad y en ausencia de luz.

3.4.4. Diluciones para ensayos de antagonismo.

Utilizando la solución matriz de la SAP, a partir de la cual se prepararon las siguientes diluciones 1/10 ello indica que se usaron una parte de propóleos por 9 de agua, 1/100 y 1/1000; con 4 repeticiones por dilución, cada una con su respectivo testigo (agua hervida fría); las evaluaciones se iniciaron a las 24 horas de instalados los tratamientos, tratando de identificar estructuras que indique el desarrollo o alteración fisiológica del inóculo fungoso. Reportando estas evaluaciones con la toma de fotografías y descripción de las estructuras encontradas.

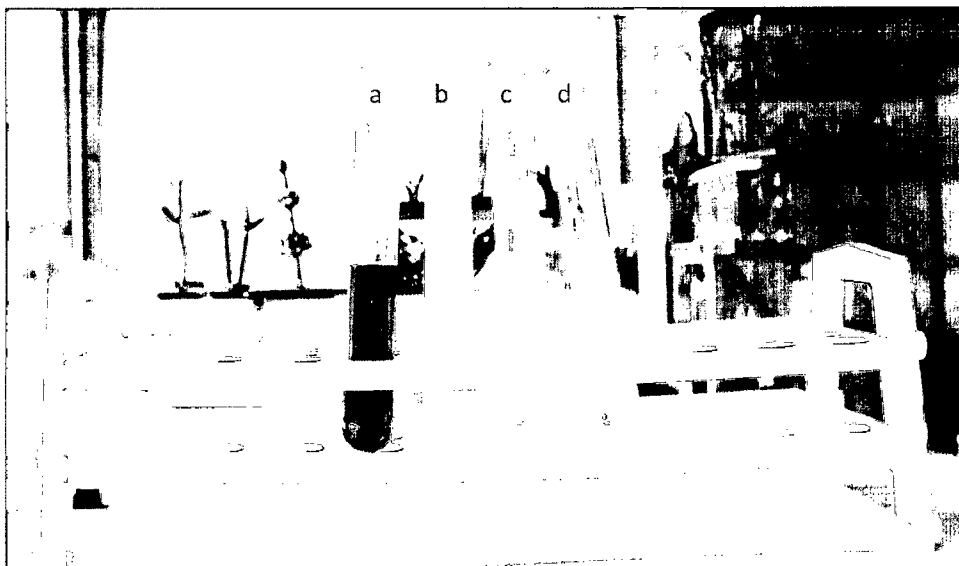


Fig. 1. Diluciones de la solución alcohólica de propóleos - SAP. a) Solución concentrada, b) Concentración 1/10, c) Concentración 1/100, d) Concentración 1/1000.

3.5. Tratamientos en estudio.

Se instalaron 3 concentraciones, para cada inóculo de hongo, realizándose 4 repeticiones por concentración teniendo un total de 48 muestras, sin incluir los testigos.

3.6. Antagonismo de diluciones de propóleos sobre el inóculo conidios de *Alternaria* sp., *Cercospora* sp. y *Oidium* sp.

De cada dilución se dispusieron 2 gotas en el centro de una lámina porta objeto, sobre ésta se dejaron las esporas inóculo y se cubrieron con la lámina cubre objetos, verificando la presencia de conidias al microscopio. Posteriormente cada porta objeto se dispuso dentro de una caja Petry la misma que contenía 5cc de agua destilada estéril, para proporcionar humedad relativa superior al 80% que facilita la germinación de las conidias

Para que el agua de la caja Petry no penetre entre la cubre y porta objeto, se dispusieron sobre un triángulo de plástico, de tal manera que la muestra quedó separada del contacto con el agua. En este estado se incubó a 18 a 22°C observándose cada 24 horas anotando y detallando el proceso de germinación o cualquier alteración morfológica de las células del inóculo. (Fig. 2)

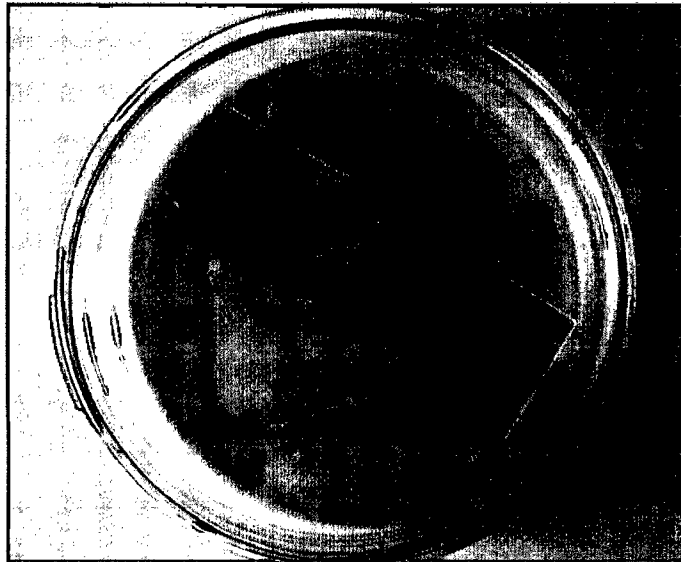


Fig. 2. Inóculo fungoso en condiciones adecuadas de hidratación.

CAPITULO IV

4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

El inóculo después de ser tratado con la solución concentrada de propóleos, y dispuestas en condiciones adecuadas de germinación en PDA a T° de 18°C, H°R superior al 75%, las esporas no germinaron. En la SAP concentrada las esporas presentes en el inóculo de los diferentes hongos sufren plasmólisis, se altera su forma original semejando una deshidratación; y al rehidratar los inóculos, estos no recuperaron su forma original, lo que estaría indicando que la solución concentrada tiene un efecto fungicida.

Tabla 1. Efecto antagónico de propóleos sobre inóculo de *Alternaria* sp.

| TRATAMIENTO <i>Alternaria</i> sp. MÁS PROPÓLEOS | Repeticiones a las 24 horas de instalación | | | | Repeticiones a las 48 horas de instalación | | | | Repeticiones a las 72 horas de instalación | | | | Alteración morfo - fisiológica | |
|---|--|---|---|---|--|---|---|---|--|---|---|---|--------------------------------|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | | |
| I (SAP concentrada) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | Sin desarrollo |
| II (SAP 1/10) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | Presencia de tubos germinativos |
| III (SAP 1/100) | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | Presencia de primeras hifas |
| IV (SAP 1/1000) | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | Tubos germinativos e hifas bien desarrollados |
| TESTIGO | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | Presencia de nuevas conidias apicales |

Leyenda: + Sin germinación y desarrollo de micelio. – Germinación y desarrollo de micelio.

En la tabla 1 se muestra los resultados de los tratamientos realizados para la cepa de *Alternaria* sp. donde para la solución concentrada el 100% de las muestras no manifestaron desarrollo alguno siendo positivas al antagonismo de propóleos. El tratamiento II el 100% de

las observaciones no presento resistencia al desarrollo de la cepa observándose un crecimiento normal del inóculo; para los tratamientos III y IV el antagonismo de la SAP sólo tuvo efecto hasta 48 horas después de haber hecho las aplicaciones sobre el inóculo, luego el desarrollo de éste se manifestó normalmente.

Tabla 2. Efecto antagónico de propóleos sobre inóculo de *Oidium* sp.

| TRATAMIENTO <i>Oidium</i> sp. MÁS PROPÓLEOS | Repeticiones a las 24 horas de instalación | | | | Repeticiones a las 48 horas de instalación | | | | Repeticiones a las 72 horas de instalación | | | | Alteración morfo - fisiológica |
|---|--|---|---|---|--|---|---|---|--|---|---|---|--------------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| I (SAP concentrada) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | Deshidratación al contacto |
| II (SAP 1/10) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | Sin desarrollo |
| III (SAP 1/100) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | Sin desarrollo |
| IV (SAP 1/1000) | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | - | Sin desarrollo |
| TESTIGO | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | Germinación de oidiospora |

Leyenda: + Sin germinación y desarrollo de micelio. – Germinación y desarrollo de micelio.

El efecto antagónico de la SAP para este inóculo tuvo la mejor respuesta puesto que prácticamente el 100% de todas las concentraciones manifestaron antagonismo a propóleos y observándose pérdida de turgencia en las paredes celulares de la oidiosporas.

Tabla 3. Efecto antagónico de propóleos sobre inóculo de *Cercospora* sp.

| TRATAMIENTO <i>Cercospora</i> sp. MÁS PROPÓLEOS | Repeticiones a las 24 horas de instalación | | | | Repeticiones a las 48 horas de instalación | | | | Repeticiones a las 72 horas de instalación | | | | Alteración morfo - fisiológica |
|---|--|---|---|---|--|---|---|---|--|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| I (SAP concentrada) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | Muestras deshidratadas |
| II (SAP 1/10) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | Germinación del conidióforo en su célula apical |
| III (SAP 1/100) | - | - | - | - | - | - | - | + | - | + | + | + | germinación de conidias |
| IV (SAP 1/1000) | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | - | Conidias y conidióforos viables sin germinar |
| TESTIGO | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | Germinación de conidias y conidióforos |

Leyenda: + Sin germinación y desarrollo de micelio. – Germinación y desarrollo de micelio.

En la solución concentrada el 100% de las muestras no se desarrollaron, en el tratamiento II el 100% de las muestras dieron negativo al antagonismo de propóleos, tratamiento III solo el 33% de las observaciones dieron positivo al antagonismos de la SAP y en el tratamiento IV la SAP manifestó en el 83% de las muestras antagonismo.

4.1.1. Evaluaciones obtenidas a las 24 horas

Alternaria sp. a concentraciones de 1/10 y 1/100 el comportamiento fue muy parecido. El patógeno mostro desarrollo de tubos germinativos de menor tamaño con relación al testigo, el cual mostraba un desarrollo micelial muy prominente incluso se evidencio la aparición de nuevas conidias apicales. Para la concentración de 1/1000 la característica más notable fue el tamaño de los tubos germinativos con mayor desarrollo, frente a las otras concentraciones, que manifestaron crecimiento limitado, posiblemente se deba al antagonismo que ejerce la SAP. Paralelo a esto se logró notar que los tubos germinativos mostraban una ligera deshidratación, ello a pesar que el medio en el que encontraban mantenía las condiciones para un buen proceso de crecimiento.

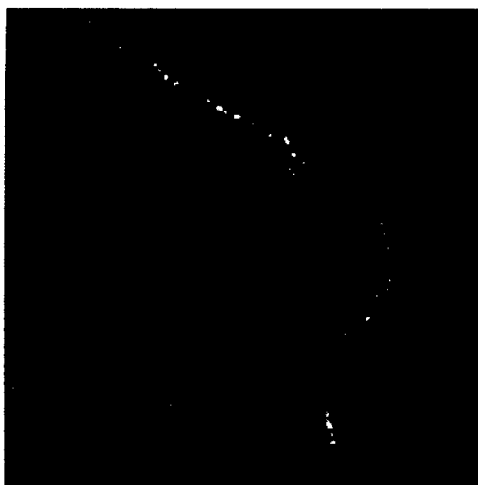


Fig. 3. y Fig. 4. Conídias de *Alternaria sp.* expuestos a concentración 1/10 (izquierda) y 1/100 (derecha) de la SAP, observar tubos germinativos con crecimiento y desarrollo indefinido, pero sin formación de conidias.

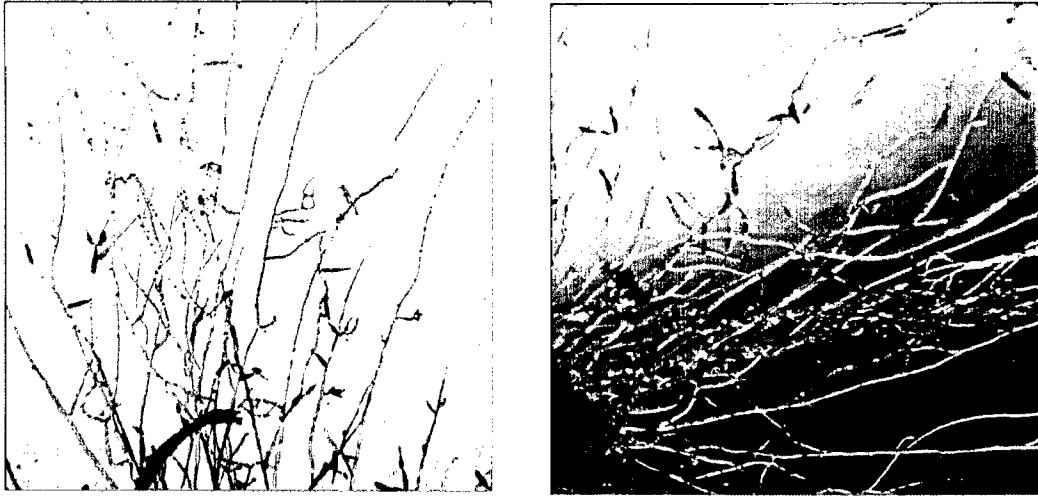


Fig. 5. y Fig. 6. Muestra testigo de *Alternaria* sp. nótese el prominente desarrollo de los filamentos del hongo con formación de conidios.

Oidium sp. el testigo manifestó un desarrollo de tubos germinativos hialinos de buena consistencia. Los tratamientos 1 en 10; 1 en 100; 1 en 1000 no manifestaron ningún tipo de desarrollo, pero las oidiosporas se mantenían hidratadas aparentando una viabilidad para su crecimiento.

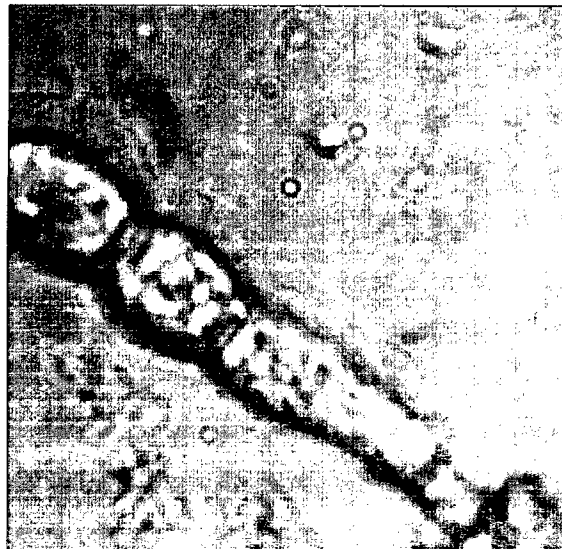


Fig. 7. Conidioforo y oidiosporas de *Oidium* sp. en tratamiento testigo.

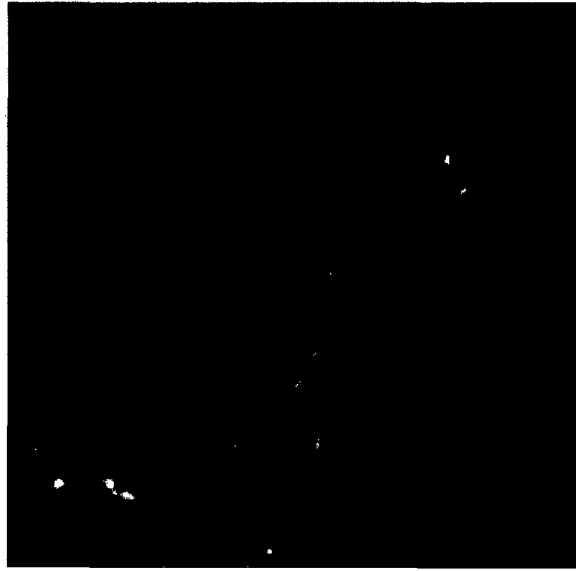
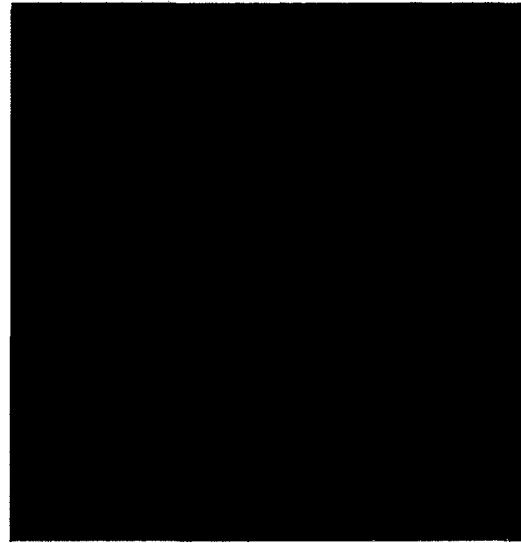


Fig. 8. Oidiosporas en proceso de germinación del tratamiento testigo.



Figs.9 y 10. Oidiosporas expuestas a propóleos en concentración de 1/10, apréciase el inicio y final de la lisis como consecuencia de la intoxicación celular.

En *Cercospora sp.* el comportamiento del patógeno se mostró interesante, al compararlo con el testigo el cual revelaba germinación de conidios y conidióforos pero, en la concentracione de 1/10 el

conidióforo sólo mostraba germinación en su célula apical. La explicación posible puede ser que al encontrar un antagonismo por parte de la SAP, las células del conidióforo desvían el potencial de germinación a una sola célula con lo cual el tubo germinativo se manifestó físicamente tosco y robusto con lo cual el hongo intenta compensar la limitación de crecimiento que supone el antagonico. Esta situación no es algo raro en los seres vivos, cuando se encuentran en situaciones que ponen en riesgo su existencia desvían la energía de órganos que no son indispensables para la supervivencia a zonas que mantendrán latente su capacidad de dar paso a una nueva generación.

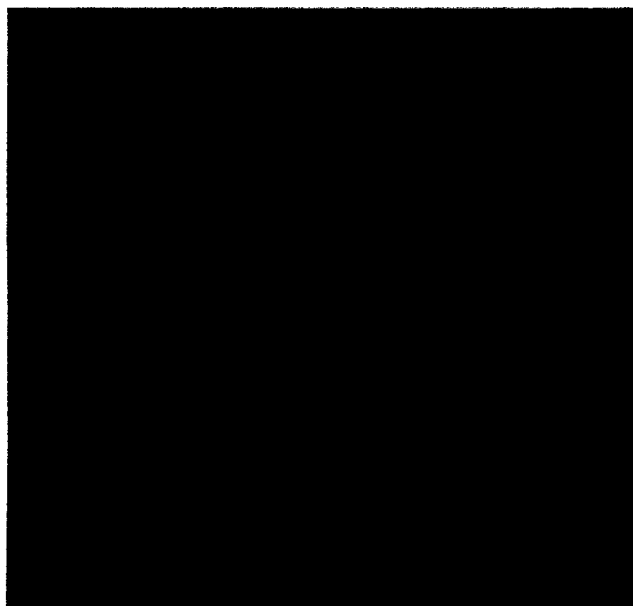


Fig. 11. Germinación en concentración 1/10 de conidioforo en su célula apical.



Fig. 12. Tubo germinativo de forma robusta en la parte basal y media de la conidia.



Fig. 13. Germinación de conidias en el testigo de color hialino, con desarrollo promisorio.

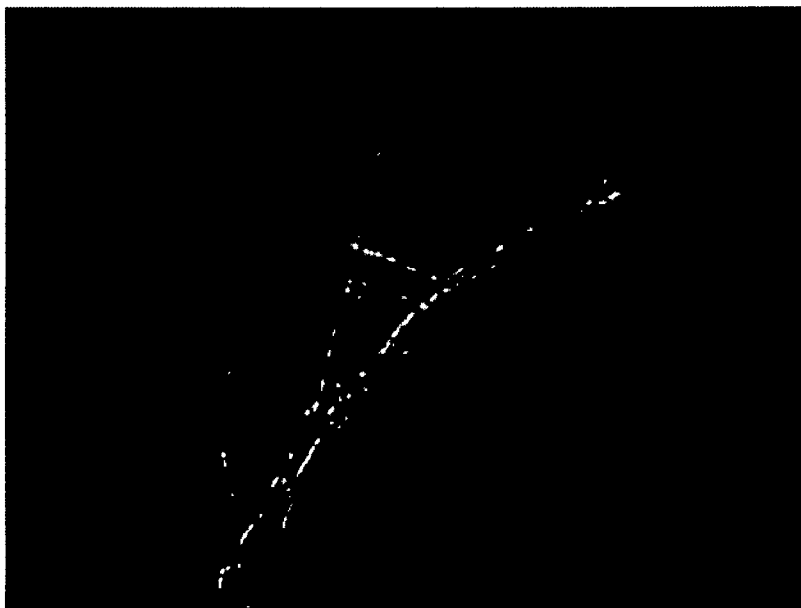


Fig. 13. Ramificación de los tubos de germinación en muestra testigo.

4.1.2. Evaluaciones obtenidas a las 48 horas.

Alternaria sp.

En ésta etapa el patógeno mantuvo el ritmo de crecimiento, mientras el testigo manifestó toda su capacidad para desarrollarse, en la muestra concentrada no hubo desarrollo alguno del patógeno. En la muestra con la dilución 1/10 se incrementó el número de tubos germinativos, pero no se pudo apreciar el desarrollo de los mismos presentando por el contrario una aparente resistencia al crecimiento ello debido a la presencia del propóleos como sustancia antagónica. En las concentraciones 1/100 y 1/1000 el comportamiento fue semejante; manifestando un leve aumento de la masa micelial, con la diferencia que en la muestra más diluida se revelaron una nueva generación de esporas, algunas de las cuales iniciaron la germinación.



Fig. 14 Desarrollo del tubo germinativo, no hay presencia de conidios terminales en concentración 1/100.



Fig. 15. Tubo germinativo sin presencia de conidio en concentración 1/1000.



Fig. 16. Efecto antagónico de propóleos concentrado en el inóculo de *Alternaria* sp.

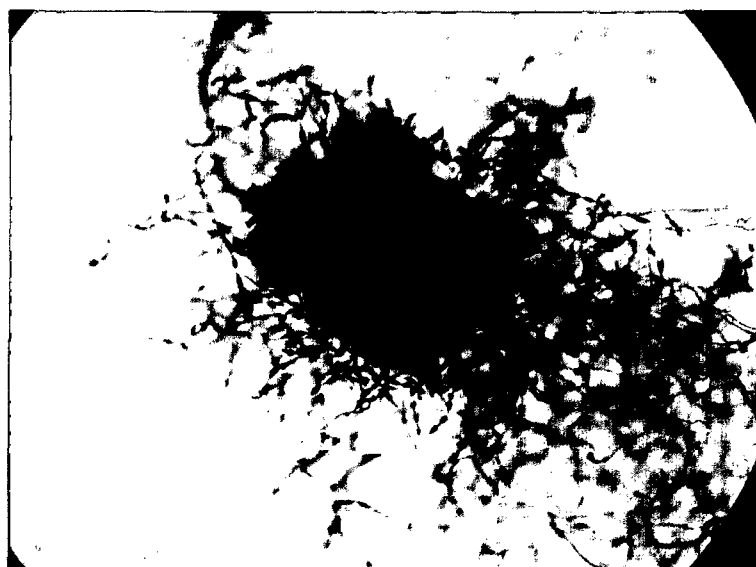


Fig. 17. Presencia de micelio del tratamiento testigo

***Oidium* sp.**

En éste patógeno el comportamiento se mostró igual al de las primeras observaciones, no hubo desarrollo alguno en las muestras que tenían la SAP, manifestado una deshidratación pronunciada, en

contraposición a este buen comportamiento antagónico, el testigo seguía con su evolución aumentando el su masa micelial.

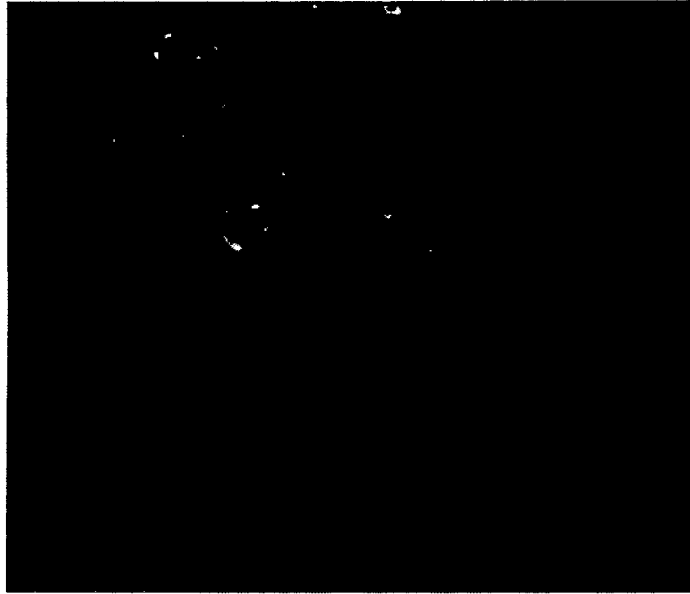


Fig. 18. Lisis de oidiosporas por efecto de propóleos concentrado.



Fig. 19. Lisis parcial de oidiosporas expuesto a concentración de la SAP 1/100.

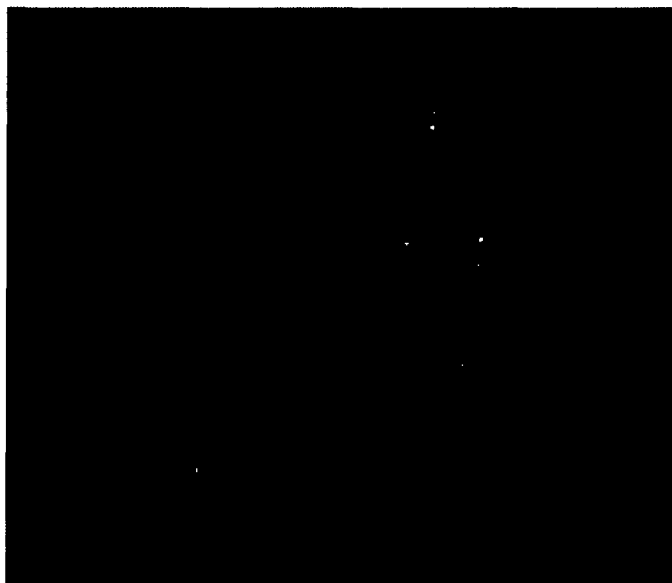


Fig. 20. Inhibición de la germinación de la oidiosporas en la SAP 1/1000,

Cercospora sp.

El testigo presento buenas condiciones de desarrollo, las conidias mostraban un alto desarrollo celular en su estructura, en contraposición a ello en las muestras a concentraciones 1/10 se presentó desarrollo de conidias con caracteres toscos y robustos, pero estas no continuaron su desarrollo. En las muestras 1/100 y 1/1000 se presentó mayor número de células germinadas formando tubos germinativos unicelulares robustos que limitaron su crecimiento y por tanto su desarrollo.

Durante el periodo de evaluación, los tubos germinativos no mostraron crecimiento y desarrollo de otras células, esta característica se debió a que estas diluciones mostraron permeabilidad para el ingreso a células del patógeno; aunque el efecto fue antagónico, la respuesta del inóculo fue la germinación de un tubo unicelular que no llegó a crecer y desarrollar como si sucedió en los inóculos testigo.

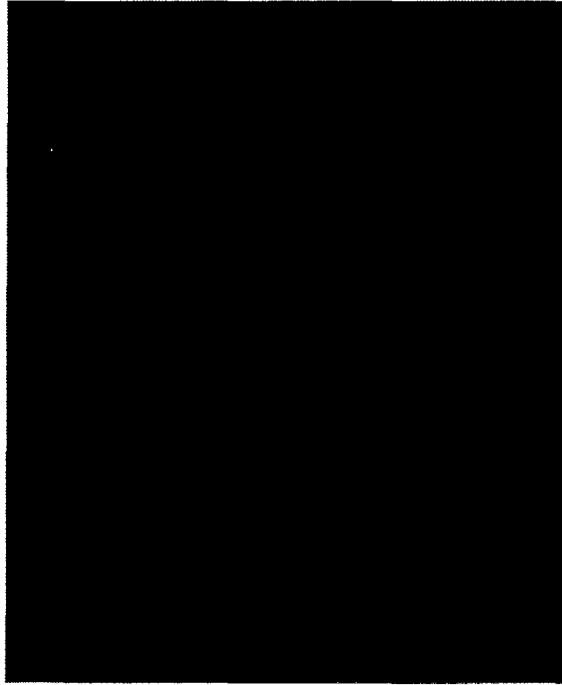


Fig. 21. Formación de conidia filiforme robusta en la célula apical del conidióforo expuesto a la concentración SAP 1/100.

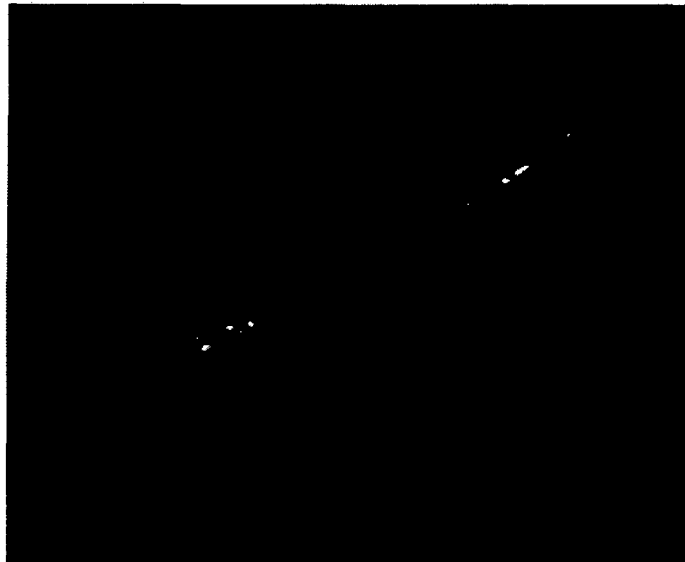


Fig. 22. Germinación lateral y basal de células del conidio en una concentración SAP 1/100.

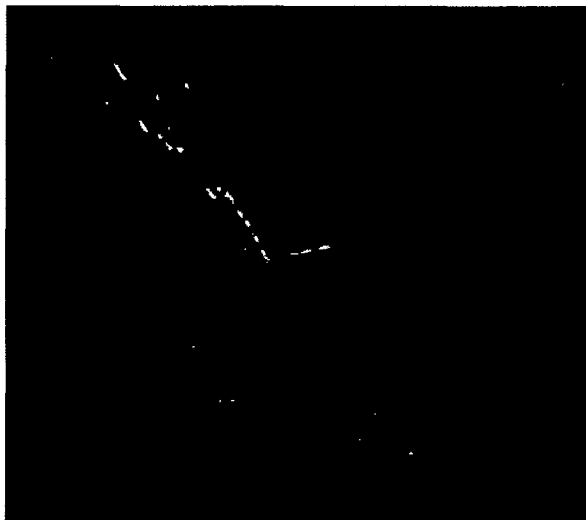


Fig. 23. Germinación de una conidia filiforme y su ramificación en tratamiento testigo.

4.1.3. Evaluaciones obtenidas a las 72 horas.

Alternaria sp.

En esta etapa el patógeno sometido a la muestra a la solución concentrada de la SAP, se presentó sin turgencia con la pared celular con bordes muy irregulares y ensanchados probablemente por la resistencia que esta membrana expresa ante la presencia de sustancias extrañas, estas características mostrarían un inóculo inviable. En la concentración 1/10 se observó un leve desarrollo del patógeno manifestándose con la aparición de nuevas conidias. En las concentraciones 1/100 y 1/1000 el crecimiento se estabilizó, pero las conidias mantenían buena turgencia, color marrón hialino y bordes de la pared celular se conservaban forma regular; evidenciando la viabilidad del inóculo, la SAP se manifiesta como fungistático.



Fig. 24. Tubo germinativo de *Alternaria* sp. sin desarrollo de conidias.



Fig. 25. Muestra testigo, en la cual se observó la aparición de nuevas estructuras de la cepa fungosa; estas conidias no se manifestaron en los tratamientos de la SAP.

***Oidium* sp.**

Este patógeno no presentó desarrollo en ninguno de las concentraciones, mientras que en el testigo las odiosporas germinaron dando paso una nueva generación de la cepa.



Fig. 26. Oidiosporas inviables, la pared celular se presenta irregular sin turgencia. Muestra 1/1000.

El inoculo de *Oidium* sp. se muestra susceptible, a los componentes de propóleos, las oidiosporas se deshidratan, pierden su morfología natural; sometidos a hidratación, no responden. De igual manera ocurre con conidióforos e hifas; este soma fungoso no presenta melanina, son hialinos, transparentes, indicador que son hongos vulnerables a productos de contacto como el propóleos

***Cercospora* sp.**

Esta tercera evaluación mostró presencia de nuevas conídias en la muestra a concentración 1/10, en las concentraciones 1/100 evidencio desarrollo del tubo germinativo pero este no prospero deteniendo su desarrollo y 1/1000 no presento cambios, no se encontró desarrollo micelial y el crecimiento se había detenido. Con lo cual se afirma que la dilución más concentrada es menos efectiva y por el contrario las diluciones 1/100 y 1/1000 mostraron acción fungistática esta característica debido a que la membrana celular del

patógeno es más permeable a estas concentraciones, permitiendo que los compuestos del propóleos actúen a nivel intracelular.



Fig. 27. Muestra testigo conidios con marcado desarrollo en células apicales y medias.



Fig. 28. Muestra testigo, conidióforos en desarrollo celular en todo el cuerpo del inóculo.

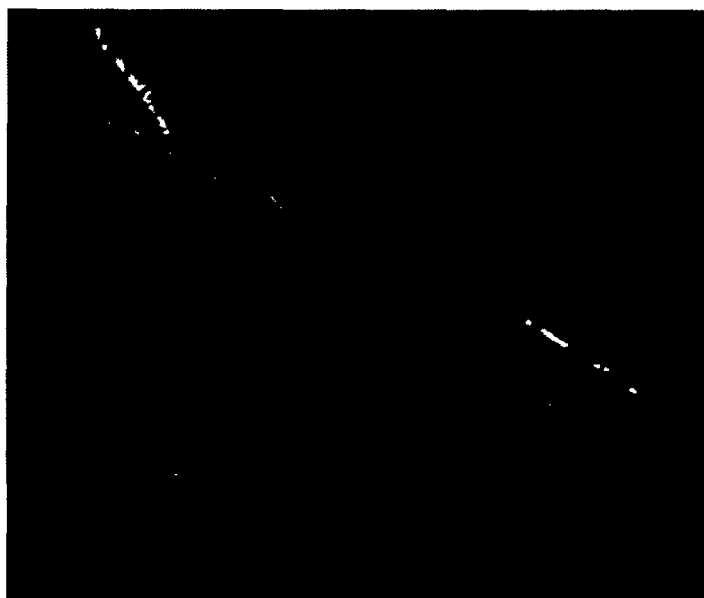
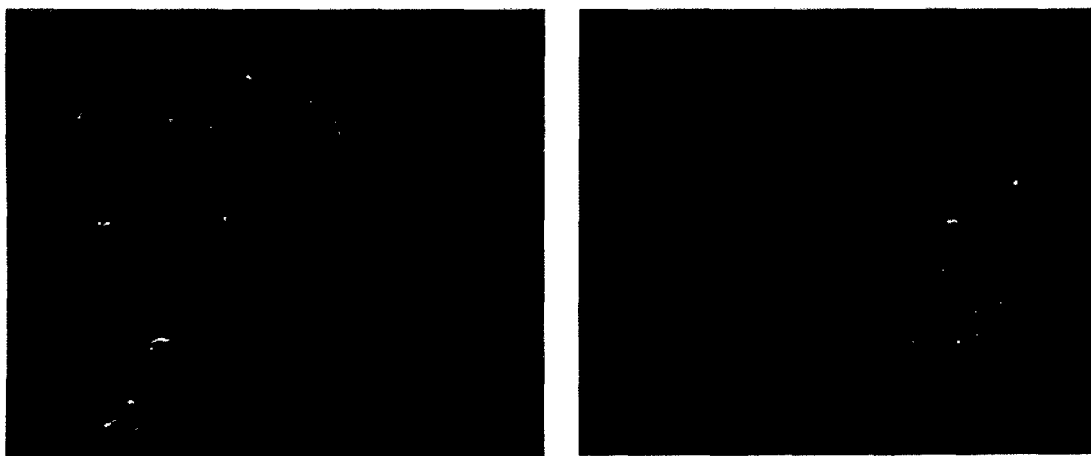


Fig. 29. Muestra 1/100, conidióforos germinado trascurridas las 72 horas no presento mayor desarrollo. Tubo germinativo tosco y solo presente en la célula apical.



Figs. 30 y 31. Muestra 1/1000, conidios sin germinar pasadas 72 horas de ser expuestas a la SAP. Para esta concentración el antagonico se comportó como fungistático.

Las células del conidióforo de *Cercospora* sp., la intoxicación celular se manifestó cuando se sometió a hidratación, se obtuvieron nuevas esporas filiformes; éstas se mostraron susceptibles a propóleos concentrado debido a que el producto letal ingresa con facilidad en cada una de las células por no tener alta concentración de quitina y carecer de la capa de melanina (Alexopoulos y Mins. 1988).

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCUSIONES

Los propóleos concentrados manifiestan actividad antagónica contra el inóculo de *Alternaria* sp. *Oídium* sp. y *Cercospora* sp.

En *Alternaria* sp. La concentración que tuvo mejor comportamiento antagónico fue la de 1/100 y 1/1000 en donde a las 72 horas se detuvo en desarrollo del inóculo, en concentración 1/10 el crecimiento se manifestó con cierta resistencia en comparación al testigo, la actividad antagónica tuvo carácter fungistático.

La Solución alcohólica de propóleos en *Cercospora* sp. reveló comportamiento antagónico en las concentraciones 1/100 y 1/1000, debido a que estas disoluciones no presentaban resistencia al atravesar la pared celular y manifestándose en el inóculo con el desarrollo de tubos germinativos de conídias y conidióforos en su célula apical de, mostrando morfología rudimentaria y tosca.

Solución alcohólica de propóleos mostró comportamiento fungicida al inóculo de *Oidium* sp. en todas sus concentraciones.

5.2. RECOMENDACIONES

En el transcurso de la investigación se vio la posibilidad de aplicar la Solución Alcohólica de Propóleos a cultivos infectados para evaluar su antagonismo en condiciones controladas.

CAPITULO VII:
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrios, C. 1996. Fitopatología. 2ª Ed. Limusa. México. 279,403 p

Alexopoulos, C. y Mims, C. 1985. Introducción a la micología. Omega. Barcelona. 145 p

Arias, J. y Jeres, A. 2008. Elaboración de un Atlas para la Descripción Macroscópica y Microscópica de Hongos Fitopatógenos de Interés en Especies de Flores de Corte Cultivadas en la Sabana de Bogotá. Tesis Micblgo. Indus. Bogotá. Colombia. Pontificia Universidad Javeriana. 142 p

Azcon, J. Talon, M. 1993. Fisiología y Bioquímica Vegetal. Int. McGraw – Hill. España. 581 p

Bedascarrasbure, E. et al. 1999. El Propóleos: un valioso producto apícola. PROAPI no. 1:8.

Bovey R. 1989. La defensa de las plantas cultivadas. Ed. Omega. Barcelona. 912 p

Carrillo, L. 2002. Los Hongos de los Alimentos y Forrajes. UNSA. Salta. Argentina. p 25-30, 81 – 85.

Eguizábal, M. Moromi, H. 2007. Actividad *in vitro* del extracto etanólico de propóleo peruano sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus casei*. Odontol Sanmarquina 10(2):18 – 20.

Farré, R. Frasquet, I y Sánchez, A. 2004. El Propolis y la Salud. *Ars Pharmaceutica* 45(1):21 – 43.

Lozina, L. et al. 2010. Estandarización y Caracterización Organoléptica y Físico-Química de 15 Propóleos Argentinos. *Latin American Journal of Pharmacy* 29(1): 102 – 110.

Lozina, L. et al. 2006. Eficacia del Propóleos sobre *Malassezia pachydermatis*. Correlación de distintas Técnicas *in Vitro*. *Acta Farm. Bonaerense* 25(4): 560 – 563

Pérez, C. Jimeno, F. 1987. El propóleos de las abejas. *Hojas Divulgadoras* 7(87):1 – 12.

Quintero, M. et al. 2008. Efecto de propóleos sobre *Candida albicans*. *Revista Iberoamericana de Micología* no. 25:22 – 26.

Rao, G. Singh, M. Singh, H. 1992. Fungitoxic evaluation of essential oil extracted from higher plants against some sugarcane pathogens in vitro. *Tropical Science* no. 32: 377-382

Rodriguez, A. 1995. Bases para la Implementación de Sistemas Ecológicos de Producción. Uruguay. CARITAS. p 198 – 204

Rojas, A. y Hurtado, Y. 1996. *El Dulce Mundo de las Abejas*. 2a Ed. Martínez Compañón. Cajamarca. Perú. 169 p

Roncal, M. y Roncal, R. 2010. Morfología y Especificidad Patogénica de *Oidium* spp., en Plantas Cultivadas y Espontáneas de Cajamarca. *Fiat Lux* 6(10): 10 – 21.

Roncal, M. y Roncal, R. 2007. Morfología y Especificidad Patogénica de *Oidium* spp., en Plantas Cultivadas y Espontáneas de Cajamarca. UNC. Cajamarca. Perú. 39 p

Saiz, M. Caridad, L. Serrano, J. 2009. Actividad antitumoral del propóleo. Departamento técnico dietético INTERSA. Disponible en:

http://www.mundial siglo21.com/propoleo_art_02.pdf

Sánchez, J. y Acevedo, R. 1999. Propóleos de abejas (*Apis mellifera*) en el control de *Sclerotium cepivorum*, Agente Causal de la Pudrición Blanca del Ajo. Resúmenes de los Trabajos Presentados en el XVI Congreso Venezolano de Fitopatología.

Silva, L. 2006. Diagnóstico de la Problemática Actual de Enfermedades en el Cultivo de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) en el Departamento de Antioquia. Tesis Micblgo. Agric. Y Vet. Bogota. Colombia. Pontificia Universidad Javeriana. 51 p

Sosa, A. et al. 2000. Propóleos: alternativa en el control biológico de patologías fungosas de las plantas cultivadas. UNNE. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Misiones. Argentina.

Sosa, A. et al. 2003. Métodos de recolección de propóleos su incidencia en rendimiento y calidad. Agrotecnia no. 10: 10-14.

Wiese, M. 1986. Compendio de Enfermedades del Trigo. Trad. NG de Defranceschi. Uruguay. Hemisferio Sur. 42 – 43 p

ANEXOS



Fig.31. Apiario de colecta de propóleos en la localidad de Santa Barbara – Cajamarca.



Fig.32. Apiario para colecta de propóleos en la localidad de Tres Molinos – Cajamarca

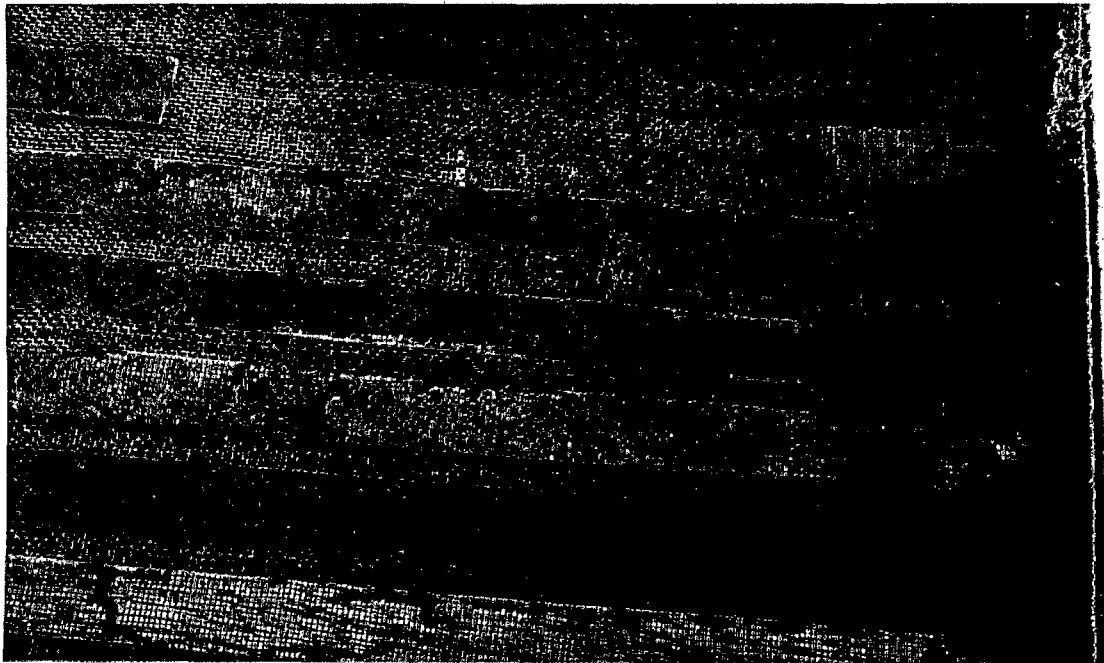


Fig. 33. Instalación de trampas de propóleos.



Fig.34. Almacenamiento de propóleos en la trampa.



Fig.35. Acumulación de propóleos en trampa y cabezales de marcos.



Fig.36. Acumulación de propóleos en cabezales de marcos.



Fig.37. Colecta de propóleos almacenados en cabezales de marcos.



Fig.38. Acumulación de propóleos en cobertura térmica de la colmena.