

**HONGOS FITOPATÓGENOS ASOCIADOS A LAUREL DE CERA (*Morella*
pubescens) H&B Willd-Wilbur**

**CLARA ELENA YEPEZ QUIÑONES
LUIS GUILLERMO SOLIS ALCIBAR**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROFORESTAL
PASTO – 2015**

HONGOS FITOPATÓGENOS ASOCIADOS A LAUREL DE CERA (*Morella pubescens*) H&B Willd-Wilbur

**CLARA ELENA YEPEZ QUIÑONES
LUIS GUILLERMO SOLIS ALCIBAR**

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Agroforestal

**PRESIDENTE
CLAUDIA MILENA QUIROZ OJEDA I. AF. M. Sc.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROFORESTAL
PASTO - 2015**

“Las ideas y conclusiones aportadas en este Trabajo de Grado son Responsabilidad de los autores”.

Artículo 1 del Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966, emanado del honorable Concejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación

Firma del Presidente del Jurado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

San Juan de Pasto, Noviembre de 2015

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	8
MATERIALES Y MÉTODOS	9
VARIABLES EVALUADAS	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
CONCLUSIONES	30
BIBLIOGRAFÍA.....	31

HONGOS FITOPATÓGENOS ASOCIADOS A LAUREL DE CERA (*Morella pubescens* H&B Willd-Wilbur)

PHYTOPATHOGENIC FUNGI ASSOCIATED WITH LAUREL (*Morella pubescens* H&B Willd-Wilbur)

Elena Yepez Q.²

Guillermo Solís A.²

Claudia Quiroz.³

RESUMEN

El laurel de cera (*Morella pubescens*) es una especie leñosa de gran importancia para las comunidades primordialmente en procesos ecológicos, uniéndose a estas propiedades un potencial económico e industrial que se basa en la extracción y comercialización de cera (Barrera, 2003); el aspecto fitosanitario ha sido poco estudiado, sobre todo en lo que a enfermedades se refiere. Teniendo en cuenta lo anterior, en esta investigación se realizó el reconocimiento, aislamiento e identificación de los hongos asociados al laurel de cera; posteriormente se comprobó la patogenicidad de estos por medio de los postulados de Koch, además, se evaluó su distribución utilizando un diseño experimental irrestrictamente al azar DIA combinado en el espacio con tres repeticiones. Se identificaron seis hongos de los cuales se encontraron en hoja *Cercospora* sp., *Pestalotia* sp., *Alternaria* sp. y *Fumago* sp. y en semilla *Trichothecium* sp., y *Nigrospora* sp., comprobándose la patogenicidad en cinco géneros *Cercospora* sp., *Pestalotia* sp., *Alternaria* sp., *Trichothecium* sp., y *Nigrospora* sp., Asimismo se determinó el mayor porcentaje de severidad de los patógenos fue para *Cercospora* sp., con 62%, seguido de *Alternaria* sp., con 50% y por último *Pestalotia* sp.,

1 Artículo presentado a la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Nariño, como requisito para optar el título de Ingeniero Agroforestal.

2 Egresados, Programa de Ingeniería Agroforestal. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño, 2015; E – Mail: ceyopezq@gmail.com, guille-ok@hotmail.com.

3 Docente. I. AF. M. Sc. Fitopatología. Programa Ingeniería Agroforestal, Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño. Pasto – Colombia. E – Mail: cmqo@hotmail.com.

con 39%. En cuanto a semilla el mayor porcentaje de contaminación fue para *Nigrospora* sp., con 90% seguido por *Trichothecium* sp., con 70%. Con relación a la distribución de los patógenos, *Fumago* sp., y *Trichothecium* sp., indicaron diferencia significativa entre localidades y *Cercospora* sp no presento diferencia significativa. Finalmente teniendo en cuenta los resultados, se elaboró un plan de manejo para los patógenos encontrados que causan enfermedades en el laurel.

Palabras claves: enfermedades, hongos, patógenos, severidad.

ABSTRACT

The laurel of wax (*Morella pubescens*) is a woody species of great importance for the communities primarily in processes, ecological, joining these properties an economic and industrial potential that is based on the extraction and commercialization of wax (barrera, 2003); the phytosanitary aspect has been little studied, especially in case of diseases. Taking into account the above, in this research It has been made recognition, isolation and identification of fungi associated with the laurel of wax; It was later found the pathogenicity of these by means of koch's postulates, In addition the distribution of the pathogenic ones was evaluated using an experimental design irrestrictamente at random day combined in the space with three repetitions. We identified six fungi of which were found in sheet (*Cercospora* sp., *Pestalotia* sp., *Alternaria* sp. and *Fumago* sp.) and in seed (*Trichothecium* sp and *Nigrospora* sp). Comprobación de la patogenicidad en cinco géneros (*Cercospora* sp., *Pestalotia* sp., *Alternaria* sp., *Trichothecium* sp., y *Nigrospora* sp., Also was determined to the highest percentage of severity of pathogens to *Cercospora* sp., 62%, followed by *Alternaria* sp., 50% and lastly *Pestalotia* sp., 39%. And seed the highest percentage of pollution was to *Nigrospora* sp. 90% and the lower *Trichothecium* sp. 70%. With regard to the distribution of pathogens; *Fumago* sp., and *Trichothecium* sp., pointed out significant differences between locations and *Cercospora* sp. do not present significant difference. Finally given the results It was developed a management plan for the found pathogens that cause diseases in the laurel.

Keywords: diseases, fungi, pathogens, severity.

INTRODUCCIÓN

El laurel de cera es una especie leñosa, la cual crece de manera natural en los potreros, taludes de carretera, cerca de los ríos y quebradas. Es un arbusto pequeño, sin embargo en algunos sitios alcanza alturas hasta de siete metros. Su origen es holártico, o sea, de la parte norte del continente americano (Parra, 1998). Según Muñoz (1994), crece desde el bosque montano alto hasta el montano bajo, en altitudes comprendidas entre 1700 y 2900 m, a temperaturas que oscilan entre los 16 y 20 °C, obteniéndose los mejores rendimientos del arbusto entre los 18 a 20 °C. Los suelos más apropiados para el cultivo del laurel son los arcillosos, arenosos, sin exceso de humedad y con un subsuelo fácil para el crecimiento de la raíz.

En Colombia se encuentra en la cordillera central (Nariño, Cauca y Antioquia); su importancia radica en ser una especie óptima para la protección de cuencas hidrográficas y la conservación de suelos, además sus raíces fijan nitrógeno, lo cual la hace una especie ecológica valiosa. Así mismo la cera que se obtiene de los frutos, tiene importancia industrial y es utilizada en el proceso de fabricación de panela, velas, jabones y cosméticos (Muñoz, 2004).

El laurel de cera, es una especie forestal que tiene especial interés en la zona norte del departamento de Nariño, puesto que es considerada un mitigador de impactos ambientales, por adaptarse a condiciones marginales de suelo y colonizar sustratos altamente degradados, también su sistema radicular extenso, la densidad de la copa y la resistencia de las ramas a los fuertes vientos son las principales características morfológicas que presenta para ser usada en el control de la erosión (Muñoz y Luna, 2003). Sus frutos son alimento de avifauna y de ellos se extrae cera que es utilizada para la producción de betún, jabón, barniz, así como en el proceso de fabricación de panela, además se utiliza como ornamental para jardines y parques; según Muñoz y Luna (1993), entre otros usos de esta especie se encuentran, la obtención de leña, carbón, madera, productos medicinales, sombra, división de lotes y demarcación de linderos, barreras rompevientos, refugio de avifauna silvestre y reciclaje de nutrientes (Luna, 2006).

Según Muñoz y Luna (1999), el conocimiento del laurel de cera es incipiente; aunque, se considera que esta especie es propicia para cultivarla en diferentes sistemas de producción, ya sea silvopastoriles (árboles y pastos) o silvoagrícolas (cultivos y árboles).

En el estudio realizado por Aguilar y Cueva (2001), en Ecuador, se mencionan a *Fusarium* sp., *Phytium* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Phytophthora* sp como agentes causales del mal del talluelo en los almácigos de esta especie, pero se puede observar que en cuanto a enfermedades, solo se reportan patologías en la raíz y sus agentes causales únicamente se han identificado hasta género. Sin embargo, aún falta hacer el reconocimiento de las patologías que afectan a las hojas, tallos y la semilla del laurel de cera, especialmente aquellas causadas por hongos fitopatógenos.

Por tal razón, se hace necesario ampliar la información relacionada con esta especie, en cuanto a enfermedades se refiere, ya que el aumento de la población de una especie vegetal es directamente proporcional a la incidencia de sus plagas y enfermedades.

El objetivo de la presente investigación fue hacer el reconocimiento e identificación de los hongos fitopatógenos asociados al laurel de cera (*Morella pubescens*), y realizar un plan de manejo y prevención para estos patógenos.

MATERIALES Y MÉTODOS

LOCALIZACIÓN

El muestreo del material vegetal se realizó en las veredas de Botana, Daza y en el corregimiento de Obonuco en el municipio de Pasto localizado al occidente del Meridiano de Greenwich a 77° 18' 58'' de longitud oeste y 1° 10' 11,4'' de latitud Norte, a una altitud de 2820 m, temperatura promedio de 12° C, precipitación media anual de 800 a 1000 mm, humedad relativa 70 a 80% con 900 horas sol promedio año (IDEAM, 2001) Según Holdridge, pertenece a la zona de vida bosque húmedo montano bajo (bh –MB).

El aislamiento, caracterización y diagnóstico, se realizaron en el laboratorio de sanidad vegetal y en el invernadero a cargo del grupo de investigación GRISAV, de la Universidad de Nariño; situada en el municipio de Pasto (Nariño), a una altitud de 2800 m, con una temperatura promedio de 12 a 16 °C, con una precipitación de 966 mm/año (Achicanoy y Cabrera, 2000).

METODOLOGÍA

Toma de muestras

Se hizo en individuos de la especie evaluada, ubicados en los arreglos agroforestales de regeneración natural y árboles dispersos; donde, se realizaron tres parcelas de 5 x 5 m y en cada una de ellas se seleccionaron al azar tres individuos y de estos se tomaron muestras de hoja, ramas, brotes, tallos y frutos, en los cuales eran evidentes las patologías. Las muestras fueron puestas en bolsas de plástico debidamente marcadas, las cuales se sellaron y se trasladaron al laboratorio para su posterior procesamiento y análisis.

Aislamiento e identificación de hongos

Para el aislamiento de los hongos, las muestras fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 3% durante 3 min y se lavaron dos veces con agua destilada estéril por 2 min, para obtener muestras libres de contaminantes externos; posteriormente, las muestras se secaron con toallas de papel estériles y se colocaron en cámara húmeda debidamente desinfectada; con fin de evitar la evaporación del agua y así conservar la humedad, para permitir que los hongos se desarrollen y esporulen (Castaño Zapata y del Rio, 1997).

Seguidamente, en cámara de flujo laminar y en condiciones de absoluta asepsia, se realizaron las siembras de los tejidos enfermos, en los medios de cultivos extracto de hojas de laurel, agar avena (140g de hojas de laurel + 40g de avena + 15g de agar-agar / 1 litro de agua destilada estéril) y jugo V8 (200g de vegetales: tomate, zanahoria, apio, remolacha, lechuga, espinaca, berros y perejil + 15g de agar-agar mezclado en 1 litro de agua destilada estéril); para la siembra se cortaron trozos de 4 mm² de tejido entre sano y enfermo y se transfirieron con pinzas estériles a las cajas de Petri con los medios de cultivo mencionado

anteriormente; se sembraron cuatro trozos por caja y las cajas se incubaron durante 10 días, a 26°C, con el fin de promover el desarrollo y esporulación de los hongos. Este mismo procedimiento se utilizó para la siembra de las semillas (Castaño Zapata y del Rio, 1997).

De los dos medios utilizados una vez observada la respuesta en cuanto a crecimiento de los hongos se decidió utilizar el medio de cultivo extracto de hojas de laurel, agar avena (LAA) para favorecer el proceso de esporulación de los patógenos, puesto que en este medio los hongos presentaron un rápido desarrollo del micelio.

Pasado el periodo de incubación se procedió a realizar la purificación de los patógenos de acuerdo a la metodología descrita por Castaño (1998), donde, se toman partes del micelio del hongo y se transfieren a cajas de Petri con el medio seleccionado. Procedimiento que se realizó hasta obtener cultivos puros de los hongos aislados.

Para la identificación de los hongos se tomó parte del micelio con un asa recta y se trasladó el material a láminas portaobjetos y se tiñó con una gota de azul de laftofenol y se cubrieron con láminas cubreobjetos, para ser observadas las estructuras del hongo en el microscopio, por medio del objetivo 40 X (Castaño Zapata y del Rio, 1997).

La identificación de los hongos se realizó considerando los siguientes criterios: aspecto del micelio (algodonoso, aterciopelado, denso, polvoso), forma de la colonia, coloración y pigmentación, presencia de pigmentos y presencia de fructificaciones, tomando como base las claves taxonómicas propuestas por Barnett y Hunter (1972) y Sañudo *et al.*, (2001). (Evans *et al.*, 1981).

Desarrollo de las pruebas de patogenicidad

Estas pruebas se realizaron con el fin de comprobar mediante los postulados de Koch, que los hongos aislados eran los causantes de enfermedades en el laurel de cera.

Para las pruebas de patogenicidad, se utilizó un total de 120 plántulas de laurel de cera, de seis meses de edad sanas, empleándose 20 plántulas por cada hongo inoculado y 20 para testigos. Para la prueba con semilla; esta se obtuvo de una casa comercial garantizando su

certificación, utilizándose 100 semillas por cada hongo inoculado con un testigo de 100 semillas sanas previamente desinfestadas. Antes de la inoculación las plántulas y las semillas se mantuvieron durante 3 a 4 días en un ambiente de alta humedad, con el fin de favorecer el proceso.

Para la preparación del inóculo se realizó un raspado de las esporas y micelio de los cultivos puros de los hongos; estas estructuras se mezclaron en 100 ml de agua destilada estéril, se agitó y se aplicó Tween 80 para facilitar la dispersión de esporas y su respectivo conteo. Posteriormente de la mezcla se tomó 1 ml del inóculo y se realizó el conteo de las esporas en cámara Neubauer, hasta obtener la concentración de 1×10^6 esporas/ml de agua (Castaño Zapata y del Rio, 1997; Hartung *et al.*, 1981).

La inoculación de los hongos se hizo por aspersión manual directa sobre los tejidos foliares y las semillas; una vez las plántulas fueron inoculadas, se mantuvieron en el invernadero dentro de una cámara humedad y las semillas dentro de un recipiente plástico por espacio de 15 días, junto con los testigo que se mantuvieron bajo las mismas condiciones; se realizaron observaciones periódicas hasta ver la aparición de los síntomas asociados a los hongos inoculados. Al cabo de ese tiempo, se tomaron muestras de tejido sano y enfermo, se desinfestaron y se sembraron en el medio extractos de hojas de laurel, agar avena (LAA), donde se aislaron nuevamente los patógenos estudiado, lo cual permitió corroborar el diagnóstico (Botero, 2001; Bruna y Tobar, 2004), completando los postulados de Koch.

VARIABLES EVALUADAS

Severidad de las enfermedades: Se entiende la severidad como el porcentaje de tejidos enfermos en una planta, medido en una escala de 1 a 5 (Tabla 1) según Jiménez y Gómez (2009). En la presente investigación se determinó la severidad para los hongos aislado de la parte foliar.

Tabla 1. Escala de severidad

Grado	Descripción
0	0 % de afectación en hojas
1	1-10 % de todas las hojas afectadas con síntomas de manchas irregulares necrosadas
2	11- 20 % de todas las hojas afectadas con síntomas de manchas irregulares necrosadas
3	21- 30 % de todas las hojas afectadas con síntomas de manchas irregulares necrosadas
4	31-40 % de todas las hojas afectadas con síntomas de manchas irregulares necrosadas
5	41-100% de todas las hojas afectadas con síntomas de manchas irregulares necrosadas

Fuente: Jiménez y Gómez, 2009.

Para obtener el grado porcentual de severidad se utilizó la fórmula general planteada por Vanderplank, 1963.

$$S(\%) = \frac{\Sigma i}{N (Vmax)} \times 100$$

Dónde:

S = Porcentaje de severidad.

Σi = Sumatoria de los grados observados.

N = Número de plantas muestreadas.

Vmax = Valor máximo de la escala.

Porcentaje de semilla contaminada: Se registró el número de semillas contaminadas por cada patógeno inoculado, evaluándose el porcentaje de contaminación mediante la fórmula (Bautista- Baños *et al.*, 2002):

$$\text{Semillas contaminadas (\%)} = \frac{\text{Semillas contaminadas}}{\text{Total de semillas inoculadas por patógeno}} \times 100$$

Análisis estadístico: para determinar la distribución de los patógenos se utilizó un diseño experimental irrestrictamente al azar DIA combinado en el espacio con tres repeticiones. Los datos fueron transformados mediante la fórmula $Y = \text{Log } x+1$ por presentar efectos multiplicativos y presentar ceros. (Little, 1994).

Además, se realizó un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias de Tukey al 5% de probabilidad, el procesamiento se realizó por medio del paquete estadístico InfoStat software, versión 2013.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de hongos asociados al laurel

Se identificaron seis géneros de hongos asociados al laurel de cera, cuatro presentes en la parte foliar (*Cercospora* sp., *Pestalotia* sp., *Alternaria* sp. y *Fumago* sp.) y dos presente en semillas (*Trichothecium* sp. y *Nigrospora* sp.), en las muestras obtenidas tanto en Botana, Daza y Obonuco; Según Agrios, (1997); Farfán *et al.*, (2006), los hongos mencionados anteriormente se han reconocidos como hongos fitopatógenos de plantas agrícolas, incluyendo malezas, plantas ornamentales y de cultivo y otro tipo de arbustos y árboles forestales.

Caracterización

El género *Cercospora* sp., se caracterizó por presentar conidios alargados, cilíndricos, filiformes que forman varias septas y conidióforos oscuros en racimos (Figura 1. a); según Agrios (1997), los conidióforos se agrupan en racimos y sobresalen de la superficie de la planta a través de los estomas y forman conidias una y otra vez. De acuerdo con Cabrera (2003), los conidióforos son fasciculados, muy largos, oscuros y tabicados, de crecimiento definido, y el número de septos es de 9; son de una coloración pardo-grisácea; Macroscópicamente presenta un micelio de desarrollo lento, color blanquecino de

consistencia algodonoso y después el medio se torna de color café oscuro coincidiendo con lo reportado por (Álvarez *et al.*, 2003; Cabrera *et al.*, 2006).

Pestalotia sp., microscópicamente presento conidias septadas con 2-3 flagelos en la parte distal y hacia la base un solo flagelo, células con centro de apariencia oscura, en la parte distal y basal células claras (Figura 1. b); Barnett y Hunter (1988), afirma que presenta conidias septadas, con 3 flagelos, acérvulos oscuro; cirros negros, irrumpentes que se forman en condiciones húmedas. En cultivo, el hongo presento un micelio algodonoso halino, color blanquecino-crema con crecimiento al ras de la superficie del medio; de igual manera Barnett y Hunter (1998), señalan que el crecimiento micelial es color blanco, con pústulas negras (acérvulos) que son masa de conidias.

En cuanto a *Alternaria* sp., es un patógeno que se caracterizó por presentar conidias fragmosporas (varios fragmentos) transversales y longitudinales, presentan forma ovoide u obclavada, con superficie lisa y son feogramas (oscuras) (Figura 1. c); al respecto Agrios (1997), afirma que los conidios son grandes, alargados y oscuros, o bien multicelulares y en forma de pera y presentan septas tanto transversales como longitudinales y de acuerdo con Alexopoulos (1996), la célula conidiogena es integrada, terminal o intercalar, generalmente simpodial. Los conidios, son muy característicos por su tabicación longitudinal, transversal u oblicua, son del tipo dictiospóreo y presentan forma ovoide u obclavada, con superficie lisa o rugosa, generalmente se forma en cadenas acrópetas. De igual forma Romero (1988), afirma que los conidióforos pueden ser simples o ramificados, individuales o agrupados según la especie. Macroscópicamente presenta micelio con tonalidad gris.

El género *Fumago* sp., microscópicamente presento conidias de forma irregular pluriceldadas, con septas transversales como longitudinales; conidióforos oscuro pluriceldados (Figura 1. d).

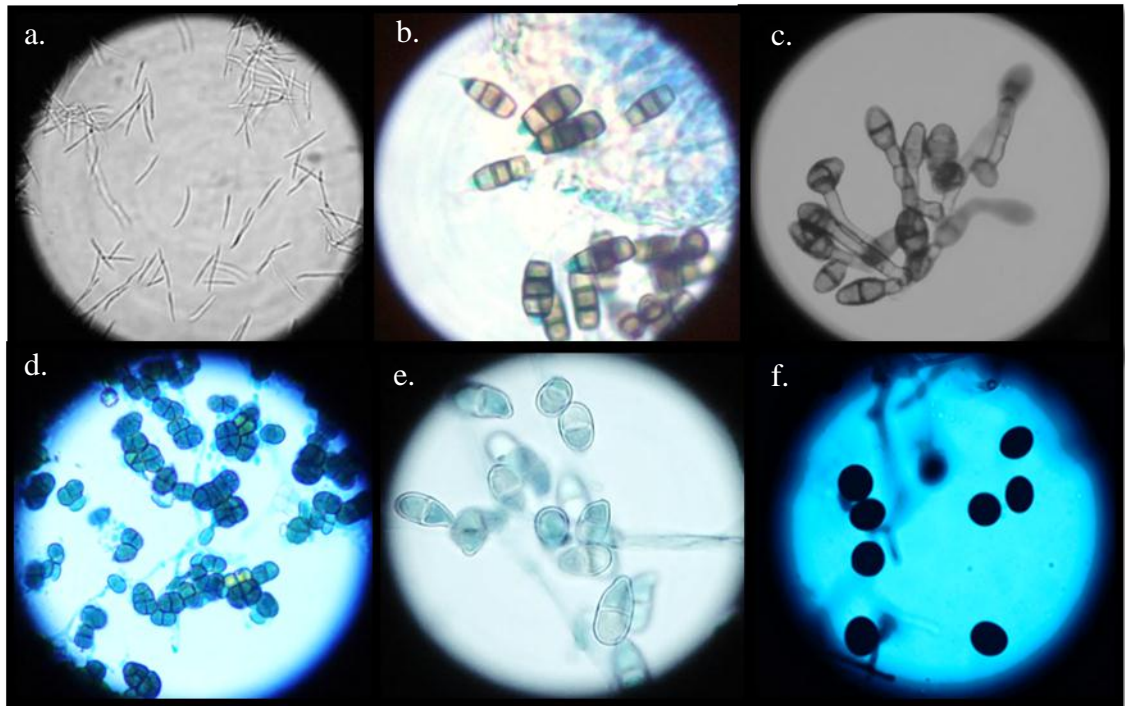
Se observó como una capa fina polvorosa de color negro que es el micelio del hongo, el cual se desarrolló sobre los órganos de la planta del laurel (hojas, tallos y ramas), que posteriormente forma una costra; al respecto Agrios (1997), afirma que se puede encontrar

en todos los tipos de plantas, incluyendo arbustos y árboles. *Fumago* sp no es un organismo parásito, sino un saprofito obligado que vive de la mielecilla, un depósito azucarado dejado por ciertos insectos chupadores, en particular escamas y áfidos. El desarrollo del hongo es tan abundante que proporciona a la hoja una apariencia negruzca que interfiere en la fotosíntesis con el porcentaje de luz que llega a la planta; asimismo presenta un crecimiento micelial de color negro que forma una película superficial en hojas y tallos principalmente.

Referente a *Trichothecium* sp., microscópicamente presento conidias planas, granulosas ovoides o elipsoides, haliana, uniseptada de forma transversal, con una pequeña curvatura donde inserta a los conidióforos; los cueles, son largos, visibles y sin ramificaciones que llevan los conidios (Figura 1. e). Al respecto Germain y Summerbell (1996), afirman que presenta hifas hialinas septadas, conidióforos y conidios visibles. Conidióforos largos y sin ramificaciones que llevan los conidios. Los conidios son de dos células, suaves, paredes ligeramente gruesas, van de ligeramente coloreado a hialino con forma de pera. Su punto de unión al conidióforo es prominentemente truncado y están organizados formando racimos alargados. Asimismo Fernández (1974), señala que *Trichothecium* sp forma un micelio hialino y septado. Los conidióforos surgen sobre el fieltro micelial y son erectos, reunidos en grupos y llevan en el extremo las conidias. Éstas son piriformes, uniseptadas. Macroscópicamente presenta un micelio color crema con un crecimiento radial.

El género *Nigrospora* sp., presento conidias solitarias, negras y opacas y los conidióforos blanquecinos (Figura 1. f); de acuerdo con Webster (1952), las conidiosporas son solitarias, esféricas a subesféricas, en vista lateral ovoides, lisas, negras, opacas, densas en KOH. Según Sáenz y Gutiérrez (2003), tienen conidióforos cortos, con células conidiógenas hialinas, infladas, están formadas por esporas solitarias, esféricas, algo deprimidas en los polos, de 10-20 μm de tamaño, de color negro y superficie lisa. Este hongo se caracteriza por presentar un micelio blanquecino que posteriormente por la compactación de la conidias y conidióforos torna de color oscuro; coincidiendo con lo afirmado por (Malvick, 1991).

Figura 1. Hongos aislados de *M. pubescens* **a.** *Cercospora* sp. **b.** *Pestalotia* sp.
c. *Alternaria* sp **d.** *Fumago* sp. **e.** *Trichothecium* sp. **f.** *Nigrospora* sp.



Fuente: esta investigación, 2015.

Prueba de patogenicidad en los géneros foliares

Las pruebas de patogenicidad, demostraron que los hongos de los géneros foliares si son causantes de las enfermedades encontradas inicialmente en el laurel de cera; los resultados en cuanto a síntomas fueron similares o iguales a los presentados en campo.

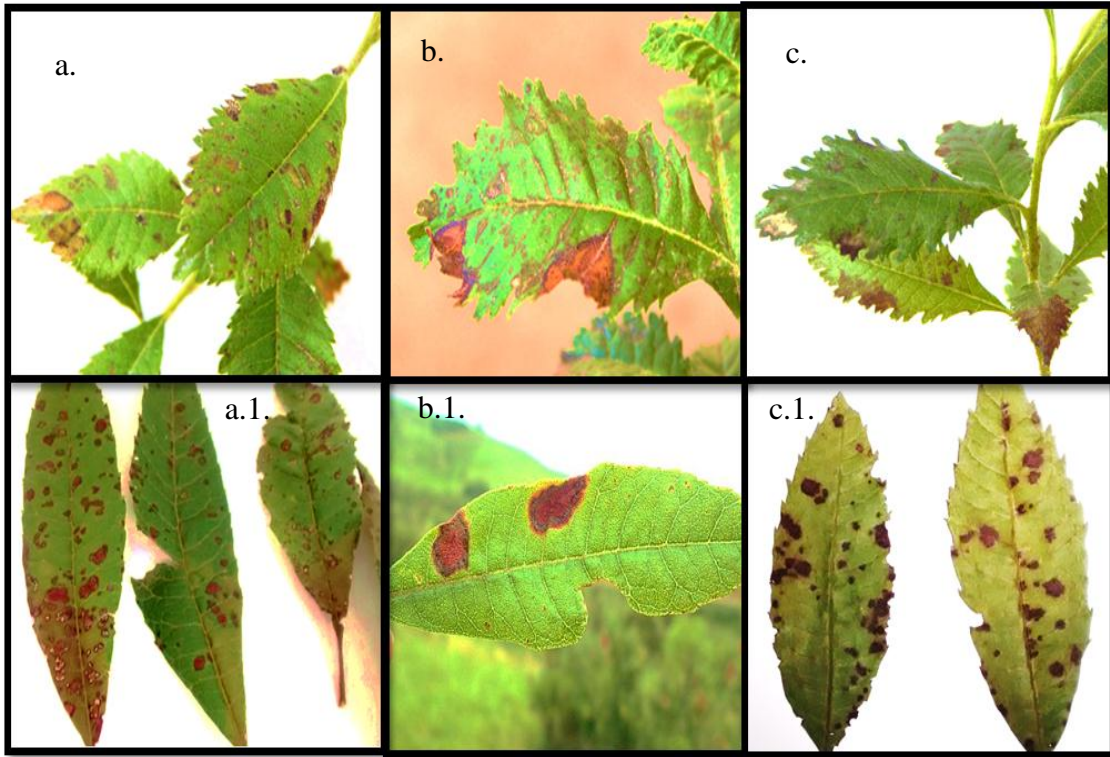
Referente a *Cercospora* sp., es un patógeno que inicio los síntomas a los cinco días después de la inoculación, el cual empezó con un punteado de color marrón oscuro, después coalescieron formando lesiones necróticas irregulares en los bordes y otras circulares e internamente en la lámina foliar, tanto por la haz como por el envés de la hoja de color

marrón claro brillante; similares a las observadas en las diferentes zonas de investigación, donde se presentaron lesiones necróticas circulares e irregulares de color marrón claro en toda la hoja y centros de color crema (Figura 2. a., a.1.); coincidiendo con lo reportado por Almodóvar (2008), en roble plateado donde se mostraron manchas circulares color marrón claro con bordes de color rojizo y centros de color crema en *Cercospora*.

De igual manera el género *Pestalotia* sp., a partir de los cinco días de inoculadas las hojas sanas manifestaron síntomas de la enfermedad, donde inicialmente se observaron unas puntuaciones color marrón y lesiones necróticas de diferentes tamaño en el borde de la hoja, pero con el centro más claro y alrededor de ésta un halo oscuro; lo cual coincide con lo observado en campo (Figura 2. b., b.1). Según Áreas y Gonzales (2008), en (*Manguifera indica*) y (*Terminalia catapa*) los síntomas causados por *Pestalotia* se presentaron en las hojas como pequeñas manchas de forma circular, de color café rojizo a marrón, que posteriormente pasan a rojo; asimismo Castro (2003), describió los síntomas de la enfermedad como manchas foliares de centro castaño claro, rodeado por áreas concéntricas de color castaño oscuro y por su parte Muñoz *et al.*, (2007), afirma que *Pestalotia* sp es un patógeno oportunista, que coloniza tejido afectado.

Con respecto a *Alternaria* sp., inicio los síntomas a los tres días después de la inoculación, con puntuaciones diminutas de color café oscuro, que posteriormente cuando coalescen pasan a una coloración castaño claro; estas lesiones necróticas se presentaron de forma circulares dentro de la lámina foliar y en los bordes tanto por la haz como por el envés de la hoja y a medida que avanzan la edad de las lesiones, estas fueron creciendo coincidiendo con los síntomas observados en campo (figura 2. c., c.1.) y lo reportado por Agrios (1978), que observó manchas foliares que varían de café oscuro a negro, a menudo son numerosas y cuando se extienden casi siempre forman anillos concéntricos que adquieren la forma de un blanco. De acuerdo a Morales (2002), en arboles de olmo (*Ulmus parvifolia*) los síntomas de esta enfermedad son manchas foliares necróticas de color castaño oscuro, de apariencia concéntrica que luego se hacen irregulares, al coalescer varias manchas, las hojas toman una apariencia tostadas

Figura 2. Síntomas de los resultados de las pruebas de patogenicidad y en condiciones naturales **a.**, **a.1.** *Cercospora* sp. **b.**, **b.1.** *Pestalotia* sp. **c.**, **c.1.** *Alternaria* sp

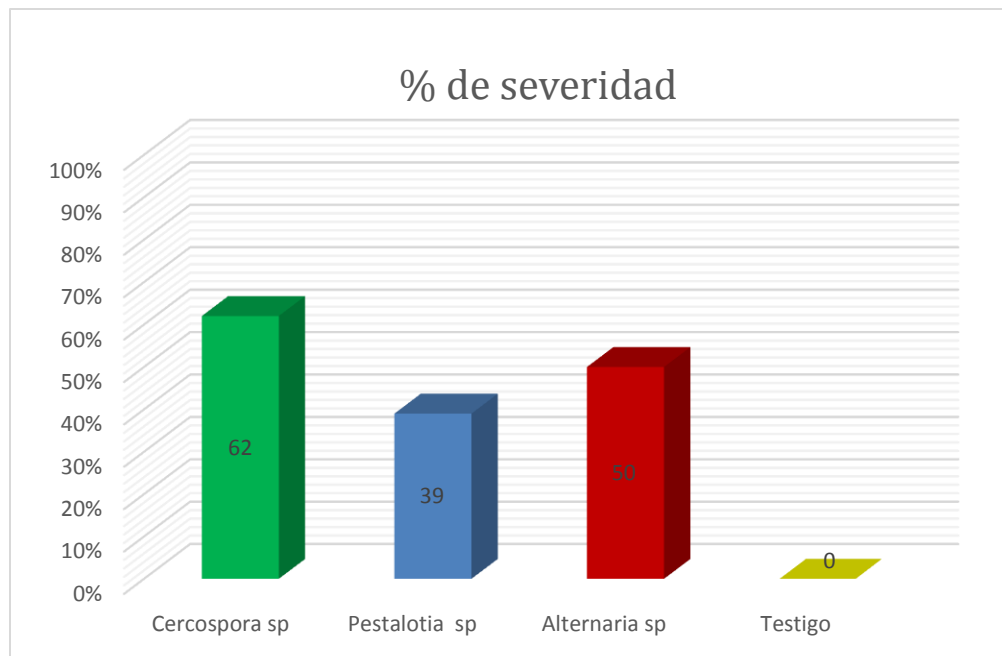


Fuente: esta investigación, 2015.

Severidad de las enfermedades causadas por hongos asociados al laurel de cera

Una vez calculada la severidad de los síntomas ocasionadas por los hongos inoculados en las plántulas del laurel de cera se encontró que el patógeno con mayor severidad fue *Cercospora* sp., con 62%, seguido de *Alternaria* sp., con 50% y por ultimo *Pestalotia* sp., con 39% con respecto al testigo donde las plántulas no presentaron ningún tipo de síntomas.

Figura 3. Porcentajes de severidad de los patógenos foliares.



Fuente: esta investigación, 2015.

De acuerdo a lo anterior se puede decir que la especie *M. pubescen* es más susceptible al hongo *Cercospora* sp., que a *Alternaria* sp. y *Pestalotia* sp. Al respecto Almodóvar (2008), reporta que algunos hospederos comunes de *Cercospora* sp son: almendro (*Terminalia catappa*), roble plateado (*Tabebuia argentea*), mahoe (*Hibiscus elatus*) y almácigo (*Bursera simaruba*). De acuerdo con Sosa (1999), en un estudio de especies forestales, los arboles de *Tabebuia Rosea* fueron más susceptible a *Cercospora* sp con una severidad del 2.5% y los pinos fueron la especie menos dañada con respecto a la severidad de la enfermedad. Para *Alternaria* sp Acosta *et al.* (2009), afirma que es uno de los géneros más frecuente en Pino, Cedro y Caoba; además García (2005), afirma que en *Quercus obtusata* se consideran *Alternaria tenuissima* como hongos fitopatógenos de gran importancia por los daños que causa al follaje.

Asimismo *Pestalotia* sp., se considera como patógeno de enfermedades en coníferas y según Muñoz *et al.* (2007) provocan la formación de pequeños chancros en los ramillos de distintas especies de pino, teniendo la capacidad de colonizar sus hojas, alcanzado

severidad de 10%; de igual modo Farfán *et al.* (2006), constataron que *Pestalotia* sp es la causante de la “enfermedad de las costras o clavo del fruto de guayaba” y la severidad de la enfermedad fue mayor en el sistema guayaba x café. Asimismo Flores *et al.* (2010) señalaron que *Pestalotia* fue unas de las principales enfermedades presentes en las plantaciones de Teca (*Tectona Grandis* L.F) causando marchitamiento del follaje.

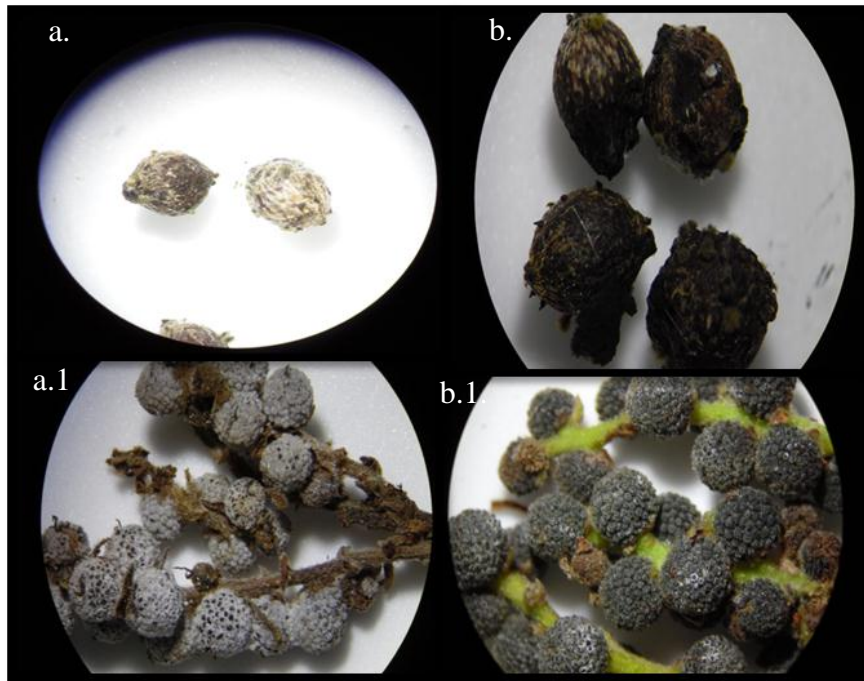
Prueba de patogenicidad en semilla

Las pruebas de patogenicidad, demostraron que los hongos de los géneros en semillas si causan las enfermedades encontradas inicialmente en el laurel de cera; cuyos resultados fueron similares o iguales a los signos observados en campo.

El género *Trichothecium* sp., inició los signos a los seis días después de la inoculación, los cuales empezaron con la aparición de un micelio color blanquecino que recubrieron casi toda la semilla, semejante a lo examinado en campo, donde el micelio recubría la totalidad de la semilla (Figura 4. a., a.1); según Fernández (1974), el tejido infectado comienza por oscurecerse para posteriormente desarrollar un micelio, primeramente blancuzco y que más tarde se vuelve negro.

De igual forma *Nigrospora* sp., inició los signos a los cuatros días de la inoculación, los cuales comenzaron con aparición de micelio de consistencia algodonosa color oscuro, esa tonalidad oscura se forma por las estructura de conidióforos y conidias (Figura 4. b., b.1). En cuanto a esto Marín y Jiménez (1981), afirman que las especies de *Nigrospora* causan infecciones en granos, presentando manchas necróticas puntuales que miden alrededor de 3 mm y son de color café rojiza.

Figura 4. Signos de los patógenos sobre semillas inoculadas de *M. pubescens* y en condiciones de campo **a., a.1.** *Trichothecium* sp. **b., b.1.** *Nigrospora* sp.

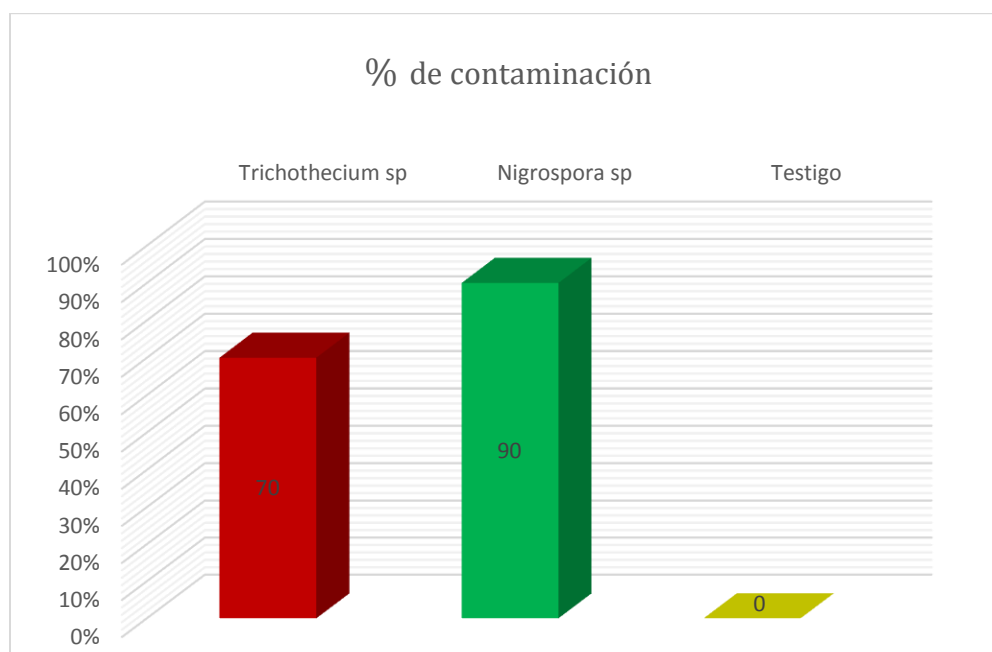


Fuente: esta investigación, 2015.

Porcentaje de semillas contaminadas

En cuanto al porcentaje de semillas contaminadas que también se derivó de las pruebas de patogenicidad; se obtuvo como resultado, que el mayor porcentaje de contaminación fue para *Nigrospora* sp., con 90%, continuado por *Trichothecium* sp., con 70%; con relación al testigo, el cual no presentó ningún tipo de signos asociados a los patógenos.

Figura 5. Porcentaje de contaminación de los patógenos en las semillas



Fuente: esta investigación, 2015

Referente a los resultados obtenidos anteriormente se puede decir que las condiciones a las que fueron sometidas las semillas (Temperatura de 25°C y Humedad relativa más del 90% en cámara humedad), favoreció el desarrollo de *Nigrospora* sp., con relación a *Trichothecium* sp., al respecto Barnett y Hunter (1972), señala que el género *Nigrospora* sp es una especie distribuida en el suelo asociadas al detrimento de plantas y semillas y obtienen los nutrientes necesarios para su desarrollo del material descompuesto. Por otro lado Correa, *et al.* (2012) identificaron a *Nigrospora* sp como un hongo fitopatógeno asociado a semilla sexual de las especies *Acacia mangium* Willd, *Tectona grandis* L y *Gmelina arborea* Roxb.

De acuerdo con Fernández (1974), *Trichothecium* sp., causa daños en los conos de las coníferas y algunos huéspedes son árboles de castaños y pinos; de igual forma Mathur y Singh (1993), afirma que es un patógeno llevado externamente en la semilla y pueden causar deterioro de la calidad de la misma y mortandad pre o post-emergencia de plántulas;

por otra parte Sánchez (2006), señala que *Trichothecium roseum* es una especie patógena muy común especies forestales, que se ha encontrado asociado a podredumbre de semillas de Abies, Betula, Castanea, Fagus, Fraxinus, Pinus sylvestris y Quercus.

Distribución de los hongos fitopatogenos asociado al laurel de cera

Con relación a la distribución de los patógenos según el análisis de varianza, se observó diferencias significativas para *Fumago* sp. ($p = 0.0476$) y para *Trichothecium* sp. ($p = 0.0189$) entre localidades, no hay diferencia entre arreglo ni en la interacción localidad por arreglo. Para el caso de *Cercospora* sp no se observó diferencia significativa entre localidades, arreglo ni en la interacción localidad por arreglo.

Tabla 1: Distribución de los patógenos

Localidades	<i>Cercospora</i> sp	<i>Fumago</i> sp	<i>Trichithecium</i> sp
Vereda Botana	88.67 A	27.50 A B	66.33 B
Vereda Daza	38.00 A	83.00 B	38.67 A
Corregimiento de Obonuco	45.50 A	11.00 A	66.33 B

*Letras distintas indica diferencias significativas ($=0.05$).

Fuente: esta investigación, 2015.

Para el caso *Fumago* sp., la prueba de Tukey muestra que la distribución es mayor en Daza y en Botana, en comparación con Obonuco donde la distribución de los patógenos se consideró menor. Lo anterior se debe a la presencia de una gran cantidad de insectos chupadores del orden hemíptera que secretan sustancias azucaradas, donde este hongo se desarrolla; encontrándose en las hojas, ramas y fuste de los árboles del laurel en las localidades tanto en Daza y Botana. Según Agrios (1978), este hongo es más abundante en

climas cálidos y húmedos; en este caso Tamayo (2007), indica que *Fumago* se encuentra asociada a la presencia de insectos secretores de sustancias azucaradas que se depositan sobre la superficie de tallos, hojas y frutos, que favorecen el crecimiento del hongo; coincidiendo con lo que afirma Castro B (2000), que *Fumago* sp., en los cítricos se presenta por ataque previo de insectos que secretan sustancias pegajosas; especialmente en épocas de mayor crecimiento vegetativos de los árboles.

De igual forma la prueba de Tukey muestra que la distribución de *Trichothecium* sp., fue menor en Daza y mayor en Botana y Obonuco. Esto se debe a que en Botana y Obonuco los frutos del laurel de cera se encontraban en plena maduración, lo cual favoreció la presencia del hongo al presentar un medio propicio para que esté se desarrolle, por el contrario, en la localidad de Daza los árboles se entraron en estado de fructificación, permitiendo que el hongo se desarrollara en menor cantidad, puesto que los frutos se encontraban en su mayoría verde. De acuerdo con Gómez (2001), los frutos maduros son más susceptibles al ataque de hongos, porque proporcionan el sustrato para el crecimiento del patógeno, debido a que son atraídos por la cantidad de azúcares que estos presentan. De igual manera los factores ambientales determinan el desarrollo celular fúngico, entre los que predominan luz, humedad, temperatura ambiental, altitud y precipitación pluvial (Guzmán, 2004; Rodríguez del Valle, 1983; Betancourt, 1985).

Asimismo la distribución de *Cercospora* sp., indica que no existen diferencias estadísticas entre localidad, arreglo ni en la interacción localidad por arreglo de acuerdo a la prueba de Tukey. El desarrollo del patógeno y la manifestación de la enfermedad estuvieron ligados a la favorabilidad ambiental (Alta humedad relativa, temperatura y alta luminosidad) de cada localidad; las cuales fueron similares. Según Agrios (1997), señala que *Cercospora* sp., es favorecida por temperaturas altas, por lo que es más destructivo en verano y meses cálidos. Aun cuando necesite de agua para penetrar a sus hospedantes, al parecer sólo un rocío abundante sería suficiente para producir infecciones numerosas. Igualmente Almodóvar (2008), afirma que en ambientes húmedos y cálidos, estrés ambiental y exceso de humedad en el follaje o en el medio de crecimiento favorecen al desarrollo de *Cercospora*.

Para el caso de *Alternaria* sp., *Pestalotia* sp., y *Nigrospora* sp., no fueron sometidas a análisis de varianza debido a que no se presentaron suficientes datos en las diferentes localidades y arreglo, a consecuencias de la poca presencia de los síntomas y signos en los arboles del laurel de cera asociado a los agentes causales.

Plan de manejo y prevención para los hongos fitopatógenos asociados a *M. pubescens*

Teniendo en cuenta los hongos aislados e identificados de hojas y semillas del laurel de cera y haber comprobado previamente su patogenicidad, se elaboró el un plan de manejo para las enfermedades ocasionadas por estos patógenos, con el fin de prevenir su aparición y/o disminuir la severidad de las mismas.

Para la realización del plan de manejo se tuvo en cuenta los principios del manejo integrado de enfermedades en plantas, en el cual se contempla el uso de varias estrategias o métodos preventivos y curativos, entre estos: físicos, mecánicos, químicos, y culturales (Jarvis, 1998). Para el caso de las medidas curativas estas deben aplicarse dependiendo de la época en la cual aparezcan las enfermedades, ocasionadas por los hongos patógenos. Referente a *Cercospora* sp aplicar en épocas secas, con relación a *Pestalotia* sp, *Alternaria* sp, *Fumago* sp., *Trichothecium* sp., y *Nigrospora* sp.; aplicar en periodos lluviosos; debido a que presentan mayor favorabilidad en esos tiempo.

Por tratarse el laurel de cera de una especie forestal, se recomienda hacer uso de las siguientes medidas de manejo y control de enfermedades:

Control físico: los métodos físicos contribuyen a erradicar el patógeno o a reducir su cantidad y comprenden medidas que utilizan temperaturas altas o bajas y, el uso de las radiaciones (Pérez, 2010).

Este tipo de tratamiento aplicado a las semillas puede responder a numerosas funciones: eliminar diferentes patógenos de las semillas, proteger a las semillas en la siembra contra hongos del suelo; en pre y post emergencia y posteriormente, cuando la plántula emerge, la protege por un tiempo limitado contra hongos que ocasionan enfermedades foliares. Además de eso, el tratamiento garantiza la obtención de un buen establecimiento del material vegetal, especialmente en semilleros y viveros, y evita la diseminación de los organismos patógenos (Willian, 1991).

Por lo tanto para tratar la semilla del laurel de cera, la cual resulto contaminada con *Nigrospora* sp. y *Trichothecium* sp., esta se la debe tratar con agua hirviendo, sumergiéndola durante un periodo de 1 a 2 min., cuando se vaya a establecer semilleros de este forestal. La temperatura del agua a ese tiempo garantiza la eliminación de los estructuras reproductivas de los hongos, dejando las semillas desinfectadas y garantiza la viabilidad de las mismas (Garijo, 1991).

Control cultural: el control cultural trata básicamente de evitar la entrada del patógeno en el área y cuando ya esté presente, impedir que encuentre las condiciones favorables de infección, multiplicación y diseminación (Lopes, 2001).

Para el caso del laurel de cera, afectado en su parte foliar por *Cercospora* sp., *Pestalotia* sp., *Alternaria* sp. y *Fumago* sp. y en semillas por *Trichothecium* sp y *Nigrospora* sp dentro de las medidas culturales para manejar estos hongos y las enfermedades que causan, se recomienda:

-Realización de poda sanitaria, como se observó que los síntomas se presentan en arboles de laurel de cera de diferentes edades, se recomienda hacer esta práctica en el momento mismo en que estos se muestren, así mismo, una vez realizada la poda, se debe recolectar y eliminar las partes afectadas, para disminuir la fuente de inóculo de las enfermedades.

-También se puede hacer poda de ventilación para mejorar la aireación e iluminación en los agroecosistemas donde se haga uso del laurel, ya que en plantaciones densas las severidades de las enfermedades causados por los hongos anteriormente mencionados es mayor (Agrios, G.N. 1997).

Con respecto a *Fumago* sp., además de lo anteriormente indicado, el control de la enfermedad, se puede realizar mediante el empleo de agua y jabón neutro, para lo cual se debe disolver una cucharada sopera de jabón bruto en un litro de agua hirviendo y se deja entibiar para luego fumigar, proceso que se repite cada 15 días hasta que desaparezca el patógeno por completo (MEGA, 2002).

Referente a *Trichothecium* sp., y *Nigrospora* sp., los cuales atacan en el estado de fructificación del laurel de cera, es necesario también hacer podas de sanidad, con el fin de disminuir las fuentes de inóculo, así como destrucción del material infectado. Además se debe utilizar semillas libres de patógenos, ya que esto garantiza la obtención de plántulas de laurel de cera sanas o en condiciones óptimas para su traslado a vivero o campo.

Control químico: El control químico de enfermedades de plantas hace referencia al uso de sustancias tóxicas, de síntesis química, con acción biocida, con el objetivo de matar a los patógenos que afectan las especies vegetales. Se trata de uno de los tipos de control de mayor difusión ya que da buenos resultados en el corto plazo. En lo que ha fungicidas se refiere estos constituyen el principal grupo de productos químicos utilizados para el manejo de las enfermedades de plantas, los cuales pueden actuar como preventivos o curativos, ya que pueden permanecer en la superficie de la planta o pueden ingresar a la misma, moverse dentro e incluso alcanzar el sistema vascular y trasladarse por éste (Mondino, 2011).

El control químico para los patógenos, en algunos casos no es generalizado, y depende de la especie de hongo fitopatógeno que se vaya a controlar, por lo tanto, para los hongos que causan enfermedades en el laurel de cera, se recomienda utilizar los siguientes productos químicos:

- ***Cercospora sp.***

Según Romero (1988), señala que las especies de *Cercospora* se pueden manejar con aspersiones foliares de Benomil, utilizándose dosis de 500 g disueltos en 100 L de agua, cuya aplicación debe hacerse a la aparición de los primeros síntomas, y repetir las aplicaciones cada 15 días mientras la enfermedad este presente. Benomil es un fungicida curativo y erradicante. También, se puede utilizar fungicidas a base del i.a Chlorothalonil, en dosis 25 a 40 cc/ L agua, cuyo modo de acción es preventivo.

- ***Pestalotia sp.***

Para el control de este hongo MAGA (2002), señala que se realice aplicaciones de fungicidas preparados con oxiclورو de cobre, en una solución de 300 g del producto por 100 L de agua, el cual debe aplicarse cada 15 días, si la infección inicial es bastante severa. El Tiabendazol, en dosis 20cc/L agua, también es utilizado para el manejo de enfermedades ocasionadas por *Pestalotia*, obteniéndose buenos resultados por su modo de acción que es sistémicos, dando una protección adicional a los tejidos expuestos o nuevos.

- ***Alternaria sp.***

Según Mendoza (1996), se pueden realizar aspersiones foliares preventivas con Mancozeb, dosis comercial, a partir de la aparición de los síntomas y dependiendo de la prevalencia de la enfermedad; con respecto a este patógeno, Agrios (1988), indica que la aplicación de fungicidas es efectiva si se comienza al inicio del período vegetativo, antes de que las lesiones se multipliquen. De igual manera, son efectivas las aspersiones con Sulfato de Cobre Pentahidratado, en dosis de 1.5 ml / L de agua.

- ***Fumago sp.***

MAGA, 2002, indica que la mejor manera de controlar este hongo es combatiendo las poblaciones de los insectos, especialmente los chupadores, para ello recomienda aplicar

productos como el Ometoato, Dimetoato o Malathión en dosis de 80, 100 y 125 mililitros de ingrediente activo en cada 100 litros de agua, respectivamente.

- ***Trichothecium sp.* y *Nigrospora sp.***

ENTREVISTA con Molina, 2015, recomienda aplicar fungicidas compuestos a base de Carboxín + Captan, en dosis comercial, siendo el modo de acción de este producto preventivo + curativo, de la misma manera Cymoxanil + Mancozeb o Azoxystrobin+ Ciproconazole, siendo este último un fungicida preventivo, curativo y antiesporulante, que se debe aplicar en dosis de 0,4 Kg/ L de agua, por un periodo de 20 a 25 días.

CONCLUSIONES

Se aislaron e identificaron seis hongos asociados al laurel de cera, encontrándose en la parte foliar a *Cercospora sp.*, *Pestalotia sp.*, *Alternaria sp.*, y *Fumago sp.*, y en semilla a *Trichothecium sp.* y *Nigrospora sp.*, además se comprobó la patogenicidad mediante los postulados de Koch a *Cercospora sp.*, *Pestalotia sp.*, *Alternaria sp.*, *Trichothecium sp.* y *Nigrospora sp.* Para los cuales se realizó un plan de manejo que incluye un control físico, cultural y químico.

El mayor porcentaje de severidad de los patógenos en los géneros foliares de laurel de cera lo obtuvo *Cercospora sp.*, con 62%, seguido de *Alternaria sp.*, con 50% y *Pestalotia sp.*, con 39%; en semilla el mayor porcentaje de contaminación fue para *Nigrospora sp.* con 90% y el menor *Trichothecium sp.* con 70%.

La distribución de los patógenos indica que hubo diferencia significativa para *Fumago sp.* ($p = 0.0476$) y *Trichothecium sp.* ($p = 0.0189$) entre localidades, para el caso de *Cercospora sp.* no se presentó diferencia significativa.

AGRADECIMIENTOS

Al culminar esta etapa de nuestra vida universitaria queremos agradecer a Dios, a nuestros padres y familiares quienes fueron las personas que nos impulsaron a salir adelante; a

nuestra directora de Tesis Claudia Milena Quiroz Ojeda, Docente, I AF, Facultad de Ciencias Agrícolas, a nuestros Jurados, Luis Alfredo Molina Valero y Gloria Cristina Luna Cabrera, de igual manera a Alexander Apraez I AF y a Daniel Marino Rodríguez, docente de la Facultad de Ciencias Agrícolas, por su ayuda en el desarrollo de este trabajo, y a todos nuestros amigos y demás personas que nos brindaron su apoyo, colaboración y acompañamiento en este proceso.

BIBLIOGRAFÍA

ACHICANOY, R.; CABRERA, E. 2000. Aproximación sociológica de la zona rural del municipio de pasto. Pasto. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Humanas. Pág. 66.

ACOSTA, S; ALVARADO, Y; CABALLERO, I. 2009. Micobiota de plantas donadoras y hongos filamentosos contaminantes del establecimiento in vitro de cinco especies forestales. Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central ‘Marta Abreu’ de Las Villa

AGRIOS, G. 1997. Plant Pathology. 4th ed. San Diego, California, Academic Press. 635p.

AGRIOS, G.N. 1988. Fitopatología; enfermedades de las plantas. Trad. por Manuel Guzmán Ortiz. 2a. reimp. México D.F., LIMUSA. p. 20, 200-355.

AGRIOS, G. N. 1978. Plant pathology. Academic Press. New York. USA. 703 p.

AGUILAR. H y CUEVA. K 2001. Estudio de la distribución, ecológica, fenológica, silvicultura y aprovechamiento del laurel de cera (*Morella pubescens*) en Ecuador, Universidad Nacional de Loja. Facultad de Ciencias Agrícolas. Tesis de Ingeniería Forestal, Loja, Ecuador

ALEXOPOULOS, C. 1996. Introductory mycology. Cuarta edición. Editorial Jhon Wiley and Sons, Inc.

ALMODÓVAR, W. 2008. Manejo Integrado de Enfermedades en Viveros de Árboles en Puerto Rico. Servicio de Extensión Agrícola Colegio de Ciencias Agrícolas. Universidad de Puerto Rico. Recinto de Mayagüez.

ALVAREZ, R. CABRERA DE ALVAREZ, M. SOSA DE CASTRO, N. 2003. Manchas Foliare de la Hortensia (*Hydrangea Sp.*) en el Nordeste de la Argentina. Facultad de Ciencias Agrarias - UNNE - Catedra de Fitopatología. Argentina.

ÁREAS, C. y GONZALES, S. 2008. Estudio de la composición florística y sanidad forestal de la arboleda del sector sur del campus principal de la Universidad Nacional Agraria, Managua. Facultad De Agronomía. Departamento De Protección Agrícola Y Forestal, pag 37.

BARNETT, H.L. y HUNTER, B. B. 1998. Illustrate Genera of Fungi. Fourth Ed. Minnesota. APS PRESS The American Phytopathological Society. 218 p.

BARNETT, H. y HUNTER, B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3th edition. Minneapolis: Burgess Publ. Co. p. 241.

BARRERA, E. 2003. Evaluación de un medio de cultivo para la propagación in vitro del laurel de cera (*Myrica pubescens* H. & B. K. ex Willd).

BAUTISTA - BAÑOS, S.; J. C. DÍAZ PÉREZ AND B. B. BARRERA y NECHA. 2002. Postharvest fungal rots of sapote mamey *Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn. Postharvest Biology and Technology 24: 197 – 200.

BETANCOURT, S. TORRES-BAUZA L. J., RODRÍGUEZ-DEL VALLE N. 1985. Molecular y cellular events during the yeast to mycelium transition in *sporothrix schenckii*. J Med Vet Mycol 23: 207-218.

BOTERO, J. 2001. Interacción biológica de organismos relacionados con *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal de la Antracnosis en tomate de árbol. Manizales, 184 p. Trabajo de grado (Máster en Fitopatología). Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

BRUNA, A. y TOBAR, G. 2004. Determinación de *Phytophthora nicotianae*, causante del Cancro del tallo del tomate en Chile. En: Agricultura Técnica. No. 64.

CABRERA, M. ALVAREZ, R. SOSA DE CASTRO, N. SOSA, A. 2003. Patógenos de *Chrysanthemum* sp. En cultivos de las provincias de Corrientes y Chaco. Cátedra de Fitopatología y Química Orgánica y Biológica, Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE. Argentina.

CABRERA, M. RAIMONDO, M. ALVAREZ, R. CÚNDOM, M. GUTIÉRREZ, S. 2006. Actualización del conocimiento sobre los microorganismos presentes en follaje de soja del NEA.

CASTAÑO, J. 1998. Detección de microorganismos en semillas y tratamiento químico de semillas. En: Prácticas de Laboratorio de Fitopatología. Segunda edición. Manizales: Pág. 27 Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Fitotecnia Escuela Agrícola Panamericana. Departamento de Protección Vegetal. pág. 79-80.

CASTAÑO ZAPATA, J. Y DEL RIO M, 1997. Luis. Manual para el diagnóstico de hongos, bacterias, virus y nematodos fitopatógenos.1ed. Manizales: Centro Editorial Universidad de Caldas, Zamorano Academic Press, 210 p.

CASTRO, B.; TIMMER, L. Y MULLER, G. 2000. Enfermedades de los cítricos en Colombia. Colombia: Produmedios. pp. 68-70.

CASTRO, S. N. 2003. Ocurrencia de *Pestalotia* sp. Causando lesiones necróticas en Jazmín de cabo (*Gardenia augustas*) en corrientes argentina, universidad nacional del nordeste. (En línea). Consultado 10 de jul 2008. Disponible en <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt/2003/comunicaciones/05-Agrarias/A-019.pdf>

CORREA, E. PATERNINA, J. ESPITIA, M. RODRÍGUEZ, A. URANGO, N. 2012. Identificación de Hongos Asociados a Semillas de *Acacia mangium* Willd., *Tectona grandis* L. f. y *Gmelina arborea* Roxb. Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias Agrícolas, Montería – Córdoba. Pag 2.

ENTREVISTA con Molina, 2015. Docente de la Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño. 21 de Octubre. Pasto-Nariño.

EVANS, H. 1981. Pod rot of Cacao caused by *Moniliophthora* (*Monilia*) *roreri*. *Phytopathological Pappers* N° 24. Kew, England. Common wealth Mycological Institute 44 p.

FARFÁN, P. D., INSUASTY, O. & CASIERRA, F. 2006. Distribución espacio temporal y daño ocasionado por *Pestalotia* spp. en frutos de guayaba. *Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 7: 89-98

FERNÁNDEZ DE ANA, F.J. 1974. El *Trichothecium roseum* en la destrucción de los frutos forestales. *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Recursos Naturales* 1: 179-185.

FLORES, T. CRESPO, R. CABEZAS, F. 2010. Plagas y Enfermedades en Plantaciones de Teca (*Tectona Grandis* L.F) en la Zona De Balzar, Provincia del Guayas. Departamento de

Protección Forestal. Unidad de Investigación Científica y Tecnológica, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, pag 21.

GARCÍA, J. 2005, Algunas Enfermedades Foliares de Tres Especies de Quercus en el Parque Estatal “Sierra De Tepetzotlán”, Estado de México. Universidad Autónoma Chapingo; pag 57.

GARIJO, C. 1991. Técnicas y criterios de intervención para el control de las plagas y enfermedades polífagas más importantes de los cultivos hortícolas en invernaderos. Phytoma España nº 34. 39-44.

GERMAIN, H. y SUMMERBELL, S. 1996. Identifying Filamentous Fungi –A Clinical Laboratory Handbook, Star publishing Company. Belmont California.

GOMEZ, P. L. M. 2001. Desarrollo de un estudio epidemiológico en Botrytis cinerea, agente causal del moho gris en mora de castilla Rubus glaucus Benth., en los municipios de Manizales y Villa María. Manizales. HAUSBECK M. K. y G. W. MOORMAN. 1996. Managing Botrytis in greenhouse grown flower crops. Plant Diseases, 80: 1212-1219.

GUZMÁN, G. 2002. Observaciones sobre la ecología de los Hongos, en especial de los micromicetos. En: Actualidades en Micología Médica. Luis J. Méndez Tovar, Rubén López Martínez y Francisca Hernández Hernández editores. UNAM. México. 69-86.

HARTUNG, J.S.; BURTON, C.L. y RAMSDELL. 1981. Epidemiological studies of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. En: Phytopathology. No. 71. p. 449-453.

INIFAP. 2008. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. 2008. Guía Para La Prevención Y Control De Plagas Y Enfermedades Del Cultivo Del Mango,

En El Estado De Colima. Universidad de Colima (Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (F.C.B. y A.). pag. 58.

INSTITUTO DE HIDROLOGÍA METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES (IDEAM). 2001. Reporte técnico estación meteorológica Botana, Pasto, Nariño.

JARVIS, W. 1998. Control de Enfermedades en vegetales de Invernadero. Edición en español. Traducción J.M. Mateo Box. Mundi-Prensa, España. 334pp.

JIMÉNEZ, E. GÓMEZ, J. 2009. Identificación Y Descripción De Síntomas De Los Principales Patógenos Asociados Al Cultivo De Marañón (*Anacardium Occidentale* L.) Orgánico Y Convencional, En León, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria.

LOPES, C. 2001. Controle de Doencas Bacterianas (Mesa redonda). Controles químico e culturais de Bacterioses de plantas. (CNP/Embrapa). Fitopatologia Brasileira (suplemento). 26:264 (Resumen).

LUNA, C. 2006. La investigación participativa sobre Laurel de cera (*Morella pubescens*), una estrategia de educación ambiental en la zona andina del departamento de Nariño - Colombia. Centro Nacional de Educación Ambiental. 12p.

MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT); República de China; OIRSA (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria, GT). 2002. La cochinilla rosada (*Maconellicoccus hirsutus* Green). In Seminario Proyecto regional de fortalecimiento de la vigilancia fitosanitaria en cultivos de exportación no tradicionales -- Vifinex- (Guatemala). Seminario. Guatemala. 88 p.

MALVICK, D.K. 1991. Corn ear and kernel rots. Plant disease. 205 p.

MARÍN, S. J Y JIMÉNEZ, D. R. 1981. Enfermedades del arroz en las marismas del Guadalquivir. Bol. Serv. Plagas, 7:3-56,1981. Consultado 18 de Marzo 2014. Disponible en línea <http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/plagas/bsvp-07-01-003-056.pdf>.

MATHUR, B. Y SINGH, L. 1993. Patología. PARTE I: PRINCIPIOS. Consejo de Investigación Agrícola de la India Nueva Delhi, India, y el Instituto de Patología de Semillas del Gobierno Danés, Dinamarca. Pag. 184

MONDINO, P. 2011. Control químico de enfermedades de plantas. Curso de fitopatología. Pag 2.

MORALES, L. 2002. Diagnóstico De Las Enfermedades Foliaras Que Afectan Árboles Del Campus De La Universidad Autónoma Chapingo". Pág. 46.

MUÑOZ, J. y LUNA, C 1999. Guía para el cultivo, aprovechamiento y conservación del laurel de cera *Myrica pubescens* H. & B. ex Willdenow. Santafé de Bogotá, Convenio Andrés Bello, 36 p.

MUÑOZ, L.; PÉREZ, FV.; COBOS, SP.; HERNÁNDEZ, AR.; SÁNCHEZ, PG. 2007. Sanidad Forestal: Guía en Imágenes de Plagas, Enfermedades y Otros Agentes Presentes en los Bosques. 2da. Ed. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. 575 p.

MUÑOZ, J. 2004. Laurel de Cera: una especie promisoriosa de los Andes. Quito, Ecuador: SOBOC Grafic, p. 5.

MUÑOZ, J. 1994. Estudio agroeconómico del Laurel (*Myrica pubescens*) en la zona norte del departamento de Nariño. Pasto, Colombia: Universidad de Nariño.86 p.

MUÑOZ, J. y LUNA, C. 2003. El Laurel de Cera una Especie Promisoriosa de los Andes. Quito – Ecuador.

MUÑOZ, J. y LUNA, C. 1993. Análisis de la producción de Laurel de Cera (*Myrica pubescens*), y de la comercialización de la cera en algunos municipios del departamento de Nariño. Pasto: Universidad de Nariño, p. 35.

ORTIZ, G. QUIÑONES, H. VALDÉS, R. GOMEZ, E. HUERTAS, D. 2014. Patogenos Del Zapallo *Cucurbita Moschata* Duch. En Tres Localidades Del Valle Del Cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia. Pag 6.

PABÓN, J. CASTAÑO, J. 2012. Identificación de Hogos y Bacterias en granos de Arveja (*Pisum sativum* LINNEO). Tesis de Magister. Programa de maestria en Fitopatología. Facultad de ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas. Manizales Caldas.

PARRA, C. 1998. Taxonomía del genero *Myrica* (Muricaceae) en Colombia. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Santa Fe de Bogotá, Colombia.

PEREZ, A. 2010. Cultivo de Kiwicha en la Sierra Central. Estación Experimental Agraria Santa Ana Huancayo INIA MINAG. Serie Folleto N° 6 – 10. Lima – Perú.

PINEDA, J.B.; COLMENÁREZ, O.; MENDEZ N.; GUTIÉRREZ, L. 2007. Niveles de inóculo de hongos fitopatógenos asociados a la semilla de arroz (*Oryza sativa*). Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2007, 24: 481-500. Consultado 6 de Marzo 2014. Disponible en línea <http://www.scielo.org.ve/pdf/rfaz/v24n3/art06.pdf>.

RODRÍGUEZ DEL VALLE, N., ROSARIO, N., TORRES-BLASINI. 1983. Effects of pH temperatura, aeration and carbon source on the development of the mycelial or yeast forms of *Sporothrix schenckii* from conidia. Mycopathologia. 82:83-88.

ROMERO, C.S. 1988. Hongos fitopatógenos. Patronato Universitario. Univ. Aut. Chapingo. Chapingo, México.

SAENZ, C. Y GUTIERREZ, M. 2003. Esporas atmosféricas en la Comunidad de Madrid. Instituto de Salud Pública. 83: 1 - 51.

SAÑUDO, B.; ARTEAGA, M.; VALLEJO, W.; AREVALO, R. Y BURBANO, E. 2001. Fundamentos de Micología Agrícola. Editorial Universitaria, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. 201 p.

SÁNCHEZ, M. 2006. Material Vegetal de Reproducción: Manejo, Conservación y Tratamiento. Estado Fitosanitario Etiología y Control de Enfermedades de Semilla. Pag, 162.

SOSA, A. 1999. Estudio de tres procedencia de semilla de especies forestales promisorias para reproducción de plantas de óptima calidad con fines de reforestación, en Barbara, Villanueva, Guatemala. Escuela central de agricultura. Instituto de ciencia y tecnología agrícola. Instituto nacional de bosque. Pag, 21.

TAMAYO, M., P. J. 2007. Enfermedades del aguacate. Politécnia. 4: 51-70.

VANDERPLANK, J. 1963. Plant diseases: epidemiology and control. New York. Academia press. 69 p.

WEBSTER, J. 1952. Spore projection in the Hyphomycete *Nigrospora sphaerica*. New Phytologist 51(2):229-235.

WILLIAN, R. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales. Organización de las Naciones. Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia 502 p