



**IDENTIFICACIÓN DE HONGOS ASOCIADOS A LESIONES DE FRAILEJONES  
(*Espeletia* spp.) EN PARÁMOS DE CUNDINAMARCA**

**MARÍA ALEJANDRA GAITÁN NARANJO**

**TRABAJO DE GRADO**

Presentado como requisito para optar el título de Microbióloga Industrial

**DIRECTOR**

Amanda Varela Ramírez, Ph. D.

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL  
BOGOTÁ, D.C  
2018**

**IDENTIFICACIÓN DE HONGOS ASOCIADOS A LESIONES DE FRAILEJONES  
(*Espeletia* spp.) EN PARÁMOS DE CUNDINAMARCA**

**MARÍA ALEJANDRA GAITÁN NARANJO**

---

**Concepción J. Puerta Bula, Ph.D.**  
Decana académica  
Facultad de Ciencias

---

**Marcela Franco Correa, Ph.D.**  
Directora de carrera  
Microbiología Industrial

**IDENTIFICACIÓN DE HONGOS ASOCIADOS A LESIONES DE FRAILEJONES  
(*Espeletia* spp.) EN PARÁMOS DE CUNDINAMARCA**

**MARÍA ALEJANDRA GAITÁN NARANJO**

---

**Amanda Varela Ramírez, Ph.D.**  
**Directora**

---

**Ivonne Gutiérrez Rojas, Ph.D.**  
**Jurado**

**Agradecimientos:**

Doy gracias a Dios por haberme permitido llegar a estar a este punto y darme salud para lograr mis objetivos.

Agradezco a la Pontificia Universidad Javeriana por el apoyo para el desarrollo del proyecto. A mi familia por su apoyo incondicional, amor y cariño durante todo el proceso. A mi tutora Amanda Varela y al profesor Jose Salvador Montaña por sus enseñanzas y consejos. A mis compañeros del Laboratorio de Ecología de Suelos y Hongos Tropicales por su ayuda, amabilidad y compañerismo.

Agradecimientos por ayuda financiera a los proyectos:

Diagnóstico y plan de manejo de las especies de frailejones dentro del territorio CAR, ID 7693. Convenio 1836 de 2017 CAR-PUJ.

Hongos mutualistas de micangios en escarabajos Scolytinae asociados a la afectación de frailejones de los páramos Cruz Verde y Chingaza (Cundinamarca), ID7180, financiado por la PUJ.

## Tabla de contenido

### Resumen

<b>1. Introducción</b> .....	<b>5</b>
<b>2. Marco teórico</b> .....	<b>6</b>
2.1 Hongos .....	<b>6</b>
2.2 Páramo .....	<b>7</b>
2.3 Frailejones .....	<b>8</b>
<b>3. Marco geográfico</b> .....	<b>9</b>
<b>4. Objetivos</b>	
4.1 General .....	<b>9</b>
4.2 Específicos .....	<b>9</b>
<b>5. Metodología</b> .....	<b>9</b>
5.1 Área de estudio.....	<b>10</b>
5.2 Toma de muestras.....	<b>10</b>
5.3 Caracterización de lesiones.....	<b>10</b>
5.4 Procesamiento muestras.....	<b>10</b>
5.5 Aislamiento y purificación de hongos asociados a las lesiones.....	<b>10</b>
5.6 Identificación y caracterización de hongos asociados a las lesiones.....	<b>11</b>
5.7 Pruebas de patogenicidad.....	<b>11</b>
<b>6. Resultados</b> .....	<b>12</b>
6.1 Aislamiento e identificación de hongos asociados.....	<b>12</b>
6.2 Pruebas de patogenicidad.....	<b>13</b>
<b>7. Discusión</b> .....	<b>16</b>
<b>8. Conclusiones</b> .....	<b>19</b>
<b>9. Recomendaciones</b> .....	<b>19</b>
<b>10. Bibliografía</b> .....	<b>19</b>
<b>11. Anexos</b> .....	<b>26</b>

## Resumen

Los frailejones cumplen un papel fundamental en todos los procesos de captación, almacenamiento y regulación de flujos hídricos que ocurre en el ecosistema de páramo. Estas plantas se han visto afectadas por organismos como hongos, bacterias e insectos, lo que pone en peligro sus poblaciones y perjudica los servicios ecosistémicos que estas brindan. Aunque se han identificado los hongos asociados a ciertos síntomas descritos en frailejones, aún se desconoce sobre estos aspectos en lesiones reportadas recientemente. Teniendo en cuenta esto, el objetivo de este trabajo fue identificar los hongos asociados a cuatro lesiones (homosis, homaposis, abdosis y mertesis) presentes en frailejones (*Espeletia* spp) de páramos de Cundinamarca, para ello se recolectaron hojas de frailejones con afectación, las cuales se desinfectaron y se sembraron en agar PDA. Los morfotipos de hongos obtenidos fueron identificados por medio de claves taxonómicas y técnicas de biología molecular. A partir de las muestras se obtuvieron 33 morfotipos de hongos correspondientes a 18 géneros distintos. Para determinar si los hongos eran los posibles causantes de las afectaciones se montaron pruebas de patogenicidad. De los morfotipos evaluados solo *Fusarium avenaceum*, *Curvularia* sp y *Epicoccum nigrum* reprodujeron una de las lesiones (homosis), lo que sugiere que podrían estar implicados en la afectación de esta especie de frailejón.

**Palabras clave:** Frailejón, afectación, triangulo de la enfermedad, hongos fitopatógenos y endófitos, capacidad patogénica.

### 1. Introducción, justificación y planteamiento del problema:

Los hongos cumplen un papel fundamental en las interacciones entre el suelo y la planta, siendo tanto beneficiosos como perjudiciales para esta [1]. Aquellos hongos que generan enfermedades en las plantas se denominan fitopatógenos; la capacidad patogénica de estos organismos se debe a que poseen características como: un gran poder de supervivencia, un crecimiento rápido y estructuras de resistencia [2]. A pesar de que se han estudiado las afectaciones generadas por este tipo de organismos en plantas de importancia económica, poco se sabe, sobre estos aspectos en plantas silvestres pertenecientes al ecosistema de páramo como los frailejones.

Los páramos son ecosistemas únicos. En todo el continente sólo Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú y Costa Rica cuentan con páramos tropicales ubicados, casi todos, en la cordillera de los Andes. En Colombia, los páramos ofrecen diversos servicios ambientales como la biodiversidad única que albergan, los paisajes, los suelos, y su capacidad de retener y almacenar agua [3]. Las formaciones vegetales juegan un papel diferenciado en el mantenimiento de la humedad y las fuentes de agua en el ecosistema; en los páramos se encuentran especies de plantas como los frailejones las cuales tiene un papel central en el ciclo hidrológico que ocurre allí [4].

Los frailejones además de verse afectados por actividades antrópicas como la ganadería extensiva, agricultura, turismo no controlado, entre otras, han sufrido daños causados por organismos como: polillas, hongos e insectos del orden Lepidoptera y Coleoptera. Algunos de los síntomas más comunes en los frailejones son: cambio de color en las hojas, manchas, pudriciones en el pseudotallo y entorchamiento [5]. Estas afectaciones ponen en riesgo las poblaciones de las diferentes especies de frailejones ya que su tasa crecimiento es muy lenta (de 1 a 4 cm por año) y en casos muy severos se ha registrado que los individuos afectados tienen menos probabilidades de sobrevivir y en muchos de los casos llegan a morir después de 3 a 9 meses; perjudicando de esta manera tanto la integridad y estabilidad ecológica de los páramos como los servicios ecosistémicos que estos brindan, como por ejemplo, el servicio de regulación hídrica [6] [7].

Un factor que podría favorecer la aparición y generación de enfermedad por parte de los hongos y los insectos es el cambio climático dado que es posible plantear que los aumentos en la temperatura y la concentración de dióxido de carbono modifican las interacciones que hay entre las plantas, herbívoros y hongos, de una manera que aún no se conoce [8] [9].

El ataque o la acción combinada de las polillas, los escarabajos y los hongos afectan la abundancia o el crecimiento de los frailejones al aumentar las tasas de mortalidad y reducir su área foliar, generando consecuencias negativas en la provisión del recurso hídrico por parte del ecosistema de páramo, debido a que estas plantas son las encargadas de la regulación y mantenimiento de fuentes hídricas mediante la captación de agua proveniente de procesos de condensación [9] [10]. Teniendo en cuenta esta problemática y que aún se desconocen aspectos importantes relacionados con el daño, se han desarrollado diferentes investigaciones para determinar los agentes bióticos (hongos e insectos) asociados a los frailejones con afectación [11] [12] [13] [14]. Aunque en un estudio previo ya se identificaron los hongos asociados a cuatro lesiones (moteado negro, burbuja deformante, pérdida de pubescencia y clorosis) [15], aún se desconoce sobre estos aspectos en otro tipo de afectaciones, las cuales se trabajarán en esta investigación. La importancia de identificar estos hongos radica en que aún desconoce si estos son fitopatógenos, habitantes naturales de las hojas u oportunistas que toman ventaja de las condiciones causando enfermedad [6] [16] [17].

Como la afectación de plantas endémicas como los frailejones podrían generar un desbalance sin precedentes en los páramos, afectando la calidad y oportunidad de los servicios ecosistémicos que este brinda. Este trabajo busca en un principio identificar los hongos asociados a cuatro lesiones reportadas (homosis, homaposis, mertesis y abdosis) en los frailejones (*Espeletia* spp.), con el objetivo de analizar la relación entre los hongos y la afectación. A partir de la información generada se espera que en un futuro se puedan establecer estrategias de manejo y control.

## 2. Marco teórico

### 2.1 Hongos

Los hongos pueden ser perjudiciales o beneficiosos para las plantas; pueden encontrarse como endófitos, saprófitos, en asociaciones simbióticas (micorrizas) o como fitopatógenos [18]. Los hongos endófitos son microorganismos que colonizan el interior de los tejidos de la planta hospedera; estos hongos usualmente toman nutrientes y protección de la planta y algunos de ellos en retribución pueden desempeñar un papel mutualista, ya que pueden beneficiarla al inducir su crecimiento, al aumentar su tolerancia al estrés y al producir metabolitos secundarios que le brindan protección y resistencia contra herbívoros y/o microorganismos fitopatógenos [19].

La relación entre los hongos endófitos y su planta hospedera puede ir desde el mutualismo hasta la patogénesis [20, 21, 22]. En estas relaciones ambos organismos producen metabolitos secundarios potencialmente tóxicos. El hongo endófito produce factores de virulencia, como exoenzimas y metabolitos fitotóxicos, mientras que la planta produce defensas, tanto mecánicas como bioquímicas [23]. En consecuencia, para que ambos organismos coexistan se establece entre ellos una relación de antagonismo balanceado.

Los hongos saprófitos ayudan al reciclaje de la materia orgánica, liberando nutrientes que pueden ser utilizados por las plantas y los hongos micorrícicos forman asociaciones mutualistas con las raíces de las plantas mejorando la toma de nutrientes como el fósforo, aumentando la tolerancia a condiciones de estrés abiótico, la calidad del suelo, la fijación de N<sub>2</sub> [24] y la diversidad y productividad de las plantas en un ecosistema determinado [25, 26].

Por otro lado, los hongos fitopatógenos son microorganismos que atacan cualquier órgano o tejido de la planta generando enfermedad, los síntomas más frecuentes son marchitamiento, clorosis, necrosis, manchas foliares y alteraciones en el crecimiento. Los síntomas son las alteraciones fisiológicas y morfológicas que causa el microorganismo en la planta y están directamente relacionados con la naturaleza del agente causal y la especie de planta afectada [27]. Estos hongos pueden penetrar la planta por penetración directa; con ayuda de estructuras como apresorios, haustorios, por enzimas líticas (cutinasas, pectinasas, celulasas entre otras), o por aperturas naturales [28]. Dentro de los hongos fitopatógenos se encuentran: *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Nigrospora* sp., *Aspergillus* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp, entre otros. La gran mayoría de los hongos producen esporas para su reproducción o diseminación, las esporas son estructuras propagativas microscópicas constituidas por una o pocas células, estas pueden diseminarse por el viento, lluvia o por vectores como insectos [29] [30].

La generación o no de enfermedad por parte de un hongo depende de tres elementos: hospedero susceptible, agente causal y condiciones ambientales propicias para la infección. El hospedero puede ser susceptible cuando su información genética determina aptitud para hospedar determinado patógeno, lo cual puede ser acentuado o expresado al darse determinadas condiciones ambientales con deficiencias o desordenes nutricionales; un microorganismo se establece como patógeno en una determinada planta, si esta le confiere un nicho ecológico óptimo. El patógeno (hongo), por su parte puede poseer o no la capacidad de infectar una planta, característica que le confiere su constitución genética [31] [32].

Tradicionalmente, el triángulo de la enfermedad se compone de los tres elementos mencionados anteriormente. Sin embargo, algunos autores proponen incluir un cuarto factor (tiempo). Generalmente, se requiere de un determinado periodo de tiempo para que el patógeno esporule, infecte la planta y produzca lesiones o síntomas característicos; puede que la enfermedad no se desarrolle en el primer instante en que los tres parámetros estén alineados favorablemente, pero ocurrirá después de cierta duración [33] [34].

Cuando se piensa que un microorganismo (hongo) puede ser la causa de una enfermedad y no existen estudios previos que lo comprueben, se implementa una metodología basada en los postulados de Koch (pruebas de patogenicidad) para verificar o no la hipótesis de que el o los microorganismos son los responsables de la enfermedad [34]. Dichos postulados se los puede resumir así: 1) Hay una relación muy estrecha entre la enfermedad y el microorganismo fitopatógeno, es decir el fitopatógeno debe estar asociado con la enfermedad en todas las plantas enfermas que se examinen. 2) Se debe aislar y obtener un cultivo puro del microorganismo en estudio y anotar sus características (morfológicas, bioquímicas entre otras). 3) El microorganismo en estudio y desarrollado en cultivo debe ser inoculado en plantas sanas de la misma especie de donde se aisló. Las plantas inoculadas deber reproducir los mismos síntomas (lesiones) de la enfermedad. 4) El microorganismo fitopatógeno debe ser re aislado otra vez en cultivo y sus características deberán ser exactamente igual a las del paso dos [35].

Las enfermedades infecciosas causadas por hongos cada vez se reconocen más como una amenaza para las plantas, debido a los cambios de temperatura y humedad relacionados con la variabilidad y el cambio climático. Los hongos fitopatógenos son un grupo ecológico de difícil manejo ya que las relaciones entre las diversas especies que inciden sobre numerosas plantas, hacen que las interacciones planta- patógeno se vean influenciadas por múltiples factores [36] y aunque se ha estudiado el efecto de estos hongos sobre diferentes plantas, muy poco se sabe sobre estos aspectos en plantas silvestres, como los frailejones, probablemente debido a la regulación existente dentro del ecosistema (páramo) donde se encuentra [37] [9].

## **2.2 Páramo**

Los páramos, como ecosistemas de alta montaña presentes únicamente en la zona neoequatorial del planeta, son valorados por su gran diversidad biológica, cultural y paisajística [38]. Cuentan con un suelo cubierto de pajonales, humedales y turberas con presencia de especies particulares como los frailejones y resultan ser un corredor biológico para la fauna de la región [39].

Debido a sus condiciones climáticas y a sus características edáficas y de vegetación, cumplen funciones ambientales fundamentales, especialmente aquellas relacionadas con el recurso hídrico [40]; este ecosistema tiene la capacidad de interceptar, almacenar, y regular los flujos hídricos superficiales y subterráneos, aportando los servicios de abastecimiento de agua para el 70% de la población de Colombia [39]. Además, dada la característica humífera de su suelo, la descomposición de la materia orgánica es muy lenta, lo cual favorece la fijación de carbono atmosférico, a través de la necromasa adherida a las plantas [41].

En el continente americano sólo Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú y Costa Rica tienen páramos tropicales, de los cuales la mayoría se ubican sobre la cordillera de los Andes. Los páramos de Colombia se distribuyen en la cordillera occidental, en la Cordillera Central y en la Cordillera Oriental, además del páramo del nevado de Santa Marta [42].

En Colombia se han realizado varias aproximaciones al conocimiento sobre la distribución y extensión del ecosistema paramuno. Para el año 2002 Rangel determinó que los páramos colombianos abarcaban



aproximadamente el 2.6% de la superficie del país [43] y para el año 2016 el Instituto Humboldt estableció que hay 21,86 millones de ha en humedales, a las cuales se suman otros 8,9 millones de ha en áreas con potencial medio y bajo, cubriendo así un 26% del territorio continental colombiano [44].

### 2.3 Frailejones

Una de las formas de vida mejor adaptadas a las condiciones de la alta montaña tropical, es quizás el frailejón; algunas especies tienen un amplio rango de distribución y otras, en ocasiones, conforman densas poblaciones que se acomodan mejor en el páramo bajo, hábitat que comparten con ericáceas y chusques [45]. Los frailejones pertenecen a la familia Asteraceae, subtribu (*Espeletinae*), tribu (*Heliantheae*), contiene cerca de 142 especies agrupadas en ocho géneros: *Carramboa*, *Coespeletia*, *Espeletia*, *Espeletiopsis*, *Libanothamnus*, *Paramiflos*, *Ruilopezia* y *Tamania*, de estos los más importantes y con mayor diversidad de especies son: *Espeletia*, *Espeletiopsis* y *Libanothamnus* [46].

El género *Espeletia* ocupa una variedad de hábitats, presenta un amplio rango de distribución y se encuentra restringido a las cordilleras altas de Ecuador, Colombia y Venezuela. Se desarrolla usualmente a elevaciones de 3.000 m o más y es el más conspicuo de las compuestas (*Composita*); sus hojas e inflorescencias en la mayoría de las especies se encuentran fuertemente cubiertas por un indumento que va del blanquecino al amarillento. Este género comprende 17 especies [47] [48].

Los frailejones más que cualquier otro grupo de plantas, simbolizan y caracterizan el páramo, pues constituyen uno de los componentes principales en las comunidades de la alta montaña [49] y se encuentran dentro de las formas que tienen mayor éxito en el poblamiento de los ambientes y climas más extremos, debido a su diversidad de arquitecturas, patrones de crecimiento y estrategias reproductivas, lo que les permite configurar una gran diversidad de interacciones ecológicas y formaciones vegetales [50].

Estas plantas son especies claves para la conservación de los páramos y su biodiversidad, ya que ofrecen una serie de bienes y servicios. Los frailejones pueden ser un hábitat para otras especies, ya que sus hojas muertas pueden cumplir el papel de la hojarasca de los bosques montanos y son importantes para algunas aves de montaña (como *Carduelis spinenscens*), las cuales se alimentan de sus semillas [51]. Dentro de los servicios ecosistémicos que ofrecen uno de los más importantes es su papel en el proceso de regulación hídrica que ocurre en los páramos [40] [52].

Los frailejones, en su mayoría endémicos, se han visto afectados tanto por actividades humanas como la ganadería extensiva, agricultura (cultivos de papa y cebolla), minería de oro y carbón y turismo no controlado, como por organismos (polillas, hongos y escarabajos). Esta situación podría comprometer a mediano y largo plazo la función de captación, regulación y suministro del agua para el consumo en las ciudades colombianas ubicadas en las regiones de influencia de estos ecosistemas [9] [53] [54].

Los hongos responsables de la afectación podrían ser hongos oportunistas que entran por las heridas provocadas por insectos; o pueden ser habitantes naturales de las hojas, que frente al debilitamiento de la planta por la herbívora o a cambios en aspectos climáticos o suelo, crecen rápidamente y se convierten en patógenos para la planta [9].

El primer reporte de afectación de las especies de frailejones se obtuvo para el año 2009; para esta época los investigadores realizaron una salida de campo a la cuenca alta de la Quebrada Calostros ubicada en el Parque Natural Nacional Chingaza, con el fin de realizar una georreferenciación de las zonas de frailejones (*Espeletia grandiflora* y *Espeletia uribei*) afectadas; se encontró que la enfermedad en los frailejones podría estar asociada a dos especies de artrópodos y una especie de hongo (*Colletotrichum acutatum*) [55].

En vista de las posibles afectaciones generadas por estos organismos para el año 2011 se creó un comité científico para monitorear el estado y la afectación de los frailejones en los páramos de los Andes. Con los estudios realizados se encontró que el daño no solo se presentaba en el páramo de Chingaza sino también en los páramos de Sumapaz, Guerrero, Cocuy, el Almorzadero y el Mosco [56]. Algunos de los síntomas descritos para las plantas afectadas por hongos son: cambio en el color de las hojas (clorosis), entorchamiento, pudrición y manchas foliares [6] [16] [55].

Algunos investigadores como Mora [11], Gonzales [12], Nonsoque [13], Bermúdez [14], Franco [57], Avellaneda [58], Bernal [59] y Prieto [15] han reportado la presencia de hongos fitopatógenos como *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Nigrospora* sp. y *Fusarium* sp., en individuos sanos y enfermos de *E. argentea* y *E. grandiflora* en el Parque Natural Nacional Chingaza. Los resultados obtenidos en estos estudios indican que las afectaciones se presentan en todos los rangos elevacionales y que no hay una relación de la afectación con las características fisicoquímicas del suelo [60].

Adicionalmente asociados a los frailejones también se han encontrado en gran abundancia hongos pertenecientes a los géneros: *Penicillium* sp., *Paecilomyces* sp., *Acremonium* sp., *Beauveria* sp y *Mucor* sp, los cuales podrían ser implementados como potenciales controladores de otros hongos fitopatógenos y de plagas de insectos [12] [13].

### 3. Marco geográfico

El área geográfica en la cual se realizó la investigación comprende el páramo del Parque Natural Nacional Chingaza, Guacheneque, Guerrero, Iguaque-Merchán y Sumapaz. El PNN Chingaza se encuentra ubicado al nororiente de la capital de la República de Colombia, entre los departamentos de Cundinamarca y Meta [61]. El parque cubre elevaciones desde los 800 hasta los 4200 m en donde “la mayoría del territorio esta sobre los 3300 m, siendo el ecosistema paramuno dominante, la temperatura media del páramo oscila entre los 4.25 °C a 10.35 °C [62].

El páramo de Rabanal es la cuna del nacimiento del río Bogotá, siendo uno de los abastecimientos hídricos más importantes para la capital, rodeada de espectáculos naturales como el pozo de la nutria y fauna y flora del bosque alto andino. Este páramo cubre elevaciones desde los 3000 a 3400 m [63] [64].

El páramo de Guerrero se ubica hacia las zonas altas de los municipios de Carmen de Carupa, Tausa, Zipaquirá, Subachoque, Cogua, Pacho, San Cayetano y Susa, principalmente. Bordea el margen occidental de la Sabana de Bogotá y sirve de umbral entre esta Sabana y la vertiente del Magdalena. Comprende elevaciones de hasta 3700 m [65] [66].

Iguaque es un pequeño espacio de páramo y bosque andino ubicado en una de las zonas más intervenidas de la Cordillera Oriental. Recorre un trecho de 8 Km y cubre los municipios de Tunja, Villa de Leyva y Arcabuco en el departamento de Boyacá. En sus bosques nace el agua que abastece gran parte de estos municipios y comprende elevaciones que van desde los 2400 a 3800 m [67].

El Parque Nacional Natural Sumapaz abarca aproximadamente el 43% del complejo de paramos más grande del mundo, el complejo de Cruz Verde – Sumapaz, el cual según datos del Instituto Alexander von Humboldt (2012), tiene una extensión total de 333.420 ha [67]. Este parque cubre elevaciones desde los 1.600 hasta los 4.000 m y tiene una temperatura media que oscila de 2 °C a 19 °C [68].

## 4. Objetivos

### 4.1 Objetivo general

Identificar los hongos asociados y posibles causantes de lesiones como homosis, homaposis, mertesis y abdosis en frailejones (*Espeletia* spp.) de páramos de Cundinamarca

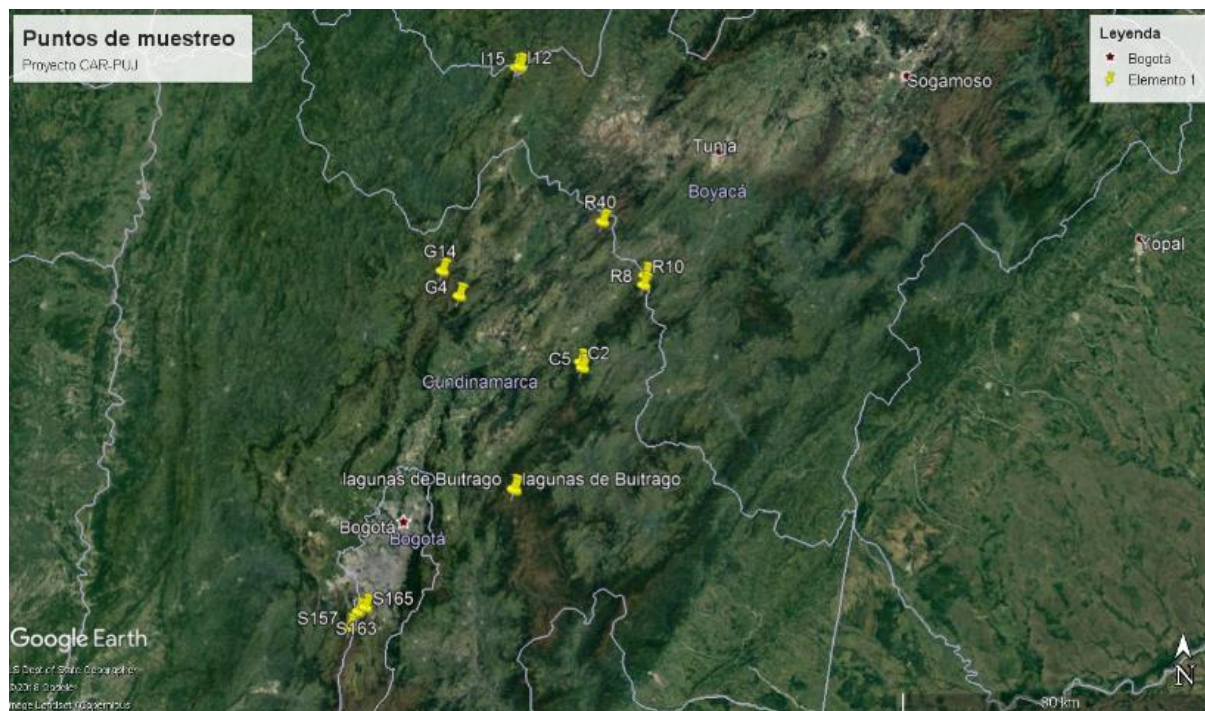
### 4.2 Objetivos específicos:

- Identificar los hongos asociados a homosis, homaposis, mertesis y abdosis en frailejones (*Espeletia* spp.)
- Evaluar por pruebas de patogenicidad si los hongos fitopatógenos asociados a las lesiones son los posibles causantes de estas.

## 5. Metodología

### 5.1 Área de estudio

El estudio se realizó en los páramos del Parque Natural Nacional Chingaza, Sumapaz, Guacheneque, Rabanal y Iguaque Merchán. En la figura 1 se muestra la ubicación de los puntos donde se muestreó:



**Figura 1.** Puntos de muestreo en los diferentes páramos. Cada punto está representado con un código, los códigos G4 y G14 corresponden a puntos ubicados dentro del páramo de Guerrero., R8, R10 y R40 en el páramo de Rabanal., C5, C2 en el Parque Natural Nacional Chingaza, S157, S165, S163 en Sumapaz y I15, I12 en Iguaque Merchán. Adicional a los puntos ya descritos se tiene un punto sin código cerca de las lagunas de Buitrago ubicadas en el Parque Natural Nacional Chingaza.

### 5.2 Toma de muestras

De las áreas donde se observó afectación en los frailejones se seleccionaron de 1 a 4 individuos de *Espeletia grandiflora*, *Espeletia argentea*, *Espeletia arbelaezii*, *Espeletia boyacensis* o *Espeletia miradorensis*, que presentaban lesiones en sus hojas, estas se recolectaron (aproximadamente 2 de cada frailejón) y se almacenaron en bolsas plásticas con cierre hermético a 4 °C hasta el momento del procesamiento en el Laboratorio de Ecología de Suelos y Hongos Tropicales (LESYHT) de la Pontificia Universidad Javeriana.

### 5.3 Caracterización de lesiones

Para la caracterización de las lesiones se tuvo en cuenta la especie de frailejón afectada y la clase de síntoma que presentaba, como es el caso de: ablandamiento y debilitamiento de hojas nuevas con pudrición (mertesis), embombamiento de la hoja con coloración rojiza-amarilla (abdosis) y aparición de manchas de color oscuro o pardo con amarillamientos (homosis –homaposis) [69]. Se realizó un registro fotográfico de cada una de las lesiones descritas.

### 5.4 Procesamiento muestras

Se realizaron cortes de 4 x 2 cm a las hojas que presentaban la lesión, y posteriormente cuatro cortes de 1 x 1 cm, luego de esto se llevó a cabo un proceso de desinfección (para eliminar conidios de hongos presentes en la superficie de la hoja que no estaban relacionados directamente con la lesión estudiada), para ello los trozos de hojas se sumergieron en etanol al 70% por 2 min, en hipoclorito de sodio al 2.5%,

por 2 min y se realizaron tres lavados con agua destilada por 1 min [70]. Las muestras se secaron con gasa estéril para prevenir el crecimiento bacteriano y se sembraron en cajas con agar PDA (Agar papa dextrosa) suplementado con cloranfenicol (1%). Las cajas se incubaron a 25 °C por 7 días.

De igual manera, se realizaron aproximadamente cuatro cortes de 1 x 1 cm de las hojas afectadas sin ningún tipo de desinfección, para de esta manera aislar hongos presentes en la superficie de la hoja que pueden ser eliminados mediante este proceso y se sembraron en cajas de Petri con agar PDA, estas se incubaron a 25 °C por 7 días. Pasado el tiempo de incubación se revisó el crecimiento de los hongos en las cajas y se procedió con el aislamiento de los distintos morfotipos de hongos para así poder identificarlos.

### **5.5 Aislamiento y purificación de hongos asociados a las lesiones**

Se realizó una siembra directa de los hongos obtenidos en cajas de Petri con medio PDA suplementado con cloranfenicol (1%) y se incubaron a 25 °C con el fin de purificar los hongos. Posteriormente se realizó la descripción de la morfología (macro y microscópica) de las colonias.

### **5.6 Identificación de los hongos asociados a las lesiones**

La identificación de los hongos se realizó por medio de las claves taxonómicas de Barnett y Hunter [71], Domsch y Gams [72], Nelson *et al.* [73] y de técnicas moleculares. La extracción del ADN genómico se llevó a cabo siguiendo el protocolo de extracción de hongos del Laboratorio de Ecología de Suelos y Hongos Tropicales (LESYHT).

La biomasa seca recolectada se sumergió en nitrógeno líquido para llevar a cabo la ruptura mecánica de la pared celular del hongo. Luego se suspendió en 2 ml de buffer de lisis, se tomaron 700 µl de la suspensión y se transfirieron a un tubo eppendorf donde se adicionó la misma cantidad de fenol: cloroformo: alcohol isoamílico (25:24:1) con el fin de realizar lavados. Posteriormente se transfirió el sobrenadante a un tubo eppendorf nuevo donde se adicionaron dos volúmenes de etanol; la suspensión se almacena en una nevera de -20°C durante 24 h. Después de esto la muestra se centrifugó y se descartó el sobrenadante; el procedimiento continuó con el pellet correspondiente al DNA del hongo. Se llevó a cabo un lavado con etanol al 70% y se descartó el sobrenadante. El pellet se conservó adicionando 40 µL de agua MilliQ estéril a 4°C. El ADN se cuantificó por medio de Nanodrop, el blanco utilizado fue agua MilliQ estéril. Para determinar la pureza del DNA se tuvo en cuenta que la relación 260/280 estuviera entre 1.8 a 2 [74].

El DNA extraído se amplificó por medio de PCR con los primers específicos ITS4 e ITS5 [75], los cuales amplifican regiones entre los genes ribosomales 5.8S y 18 S. Las condiciones de amplificación fueron 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1,5 mM de dNTP Mix (Promega® Madison, WI, USA), 0,5 mM de cada primer, 1,5 U de GoTaq Flexi (Promega®) DNA polimerasa, 50 ng DNA; en un volumen final de 25 µL. Se llevaron a cabo 40 ciclos de denaturación a 94 °C por 1 min, anillaje a 53 °C por 1 min e elongación a 72 °C por 1 min. Los productos amplificados se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, teñido con Syber Safe 1X. Las secuencias obtenidas con cada primer fueron ensambladas y editadas mediante la plataforma MUSCLE y el programa Jalview 2.10.5, construyéndose secuencias consenso que luego fueron comparadas con una base de datos utilizando el algoritmo BLAST [76].

### **5.7 Pruebas de patogenicidad**

Para las pruebas de patogenicidad se implementó una metodología alterna a la propuesta por Castaño & Del Rio [77] y Hartung *et al.* [78]; para ello se tomaron sacabocados de 0.5 mm de diámetro de una parte del agar PDA con las cepas de hongos aisladas previamente.

La inoculación se realizó directamente en un fragmento de hoja sana (aproximadamente 5x5 cm) que se sometió a lavados de desinfección con etanol al 70% por 2 min; con hipoclorito de sodio al 2.5% por 2 min y a tres lavados con agua destilada por 1 min; el trozo de hoja se colocó dentro de una cámara húmeda. El control del ensayo correspondió a una hoja sin inocular que también se sometió al proceso de desinfección anteriormente descrito. Posterior a la inoculación se incubó a 25 °C y se realizaron observaciones diarias durante 10 días para detectar la aparición de síntomas y así comprobar que estos eran iguales o diferentes a los observados en las muestras. Finalmente, se realizó el reaislamiento del

hongo para comprobar si este presentaba las mismas características en cultivo que el que se aisló inicialmente [79].

## 6. Resultados

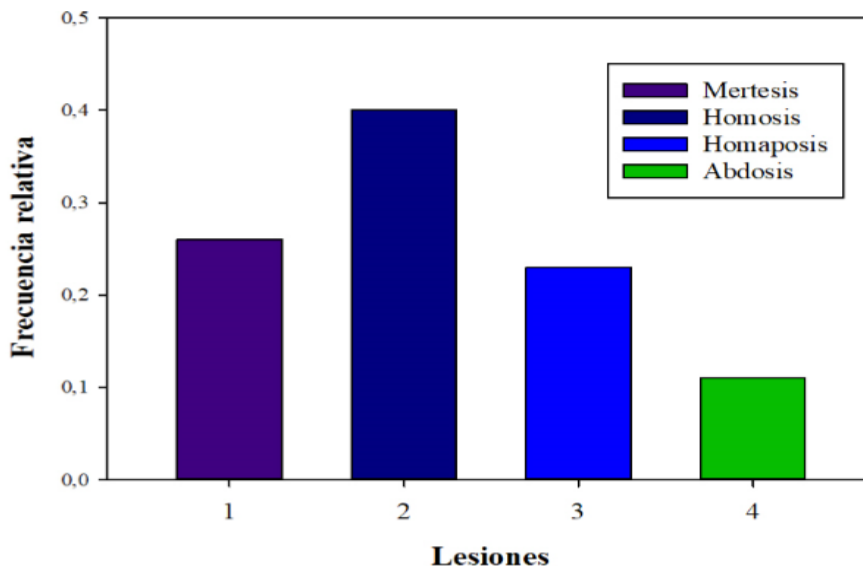
### 6.1 Aislamiento e identificación de hongos asociados a las lesiones

Se recolectaron y procesaron un total de 35 muestras de hojas de frailejones (*Espeletia* spp.) que presentaban abdososis, mertesis, homosis o homaposis (figura 2).



**Figura 2.** Lesiones presentes en las hojas de los frailejones. (A) homaposis, manchado pardo u oscuro jaspeado con amarillamientos, (B) mertesis, debilitamiento y ablandamiento de hojas con posterior pudrición, (C) homosis, mancha foliar oscura o negra que se extiende por toda la hoja, (d) abdososis, embobamiento sutil de la hoja con enrojecimiento o amarillamiento.

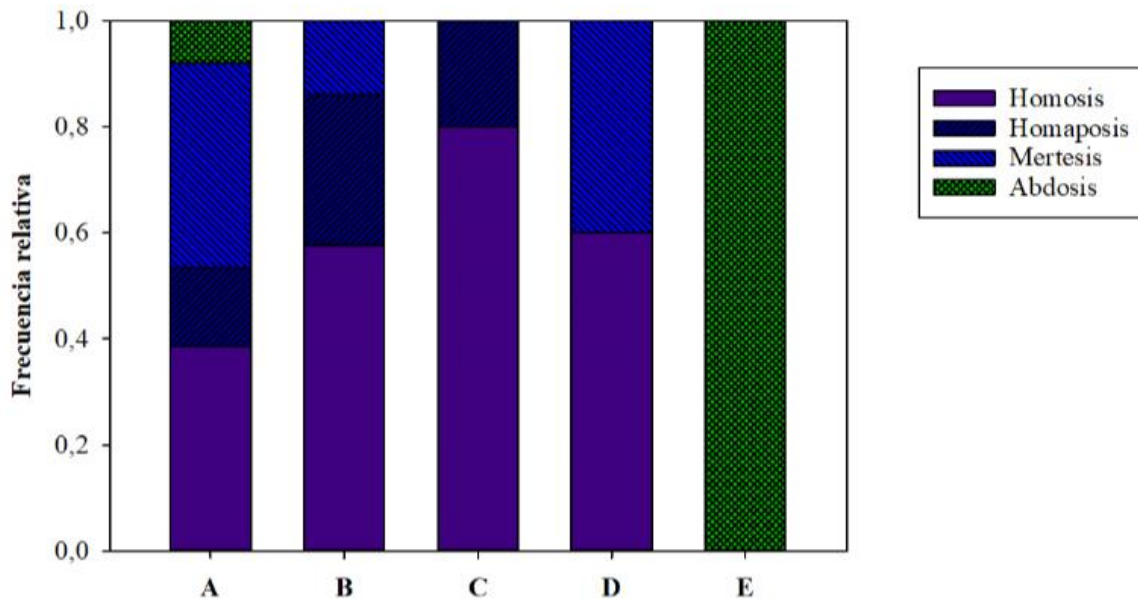
De las 35 muestras recolectadas la lesión que se presentó con mayor frecuencia fue homosis, seguida por mertesis, homaposis y abdososis (figura 3). Las especies de frailejones con afectación que se recolectaron correspondían a *Espeletia grandiflora*, *Espeletia argentea*, *Espeletia arbelaezii*, *Espeletia boyacensis* y *Espeletia miradorensis*.



**Figura 3.** Frecuencia relativa de las lesiones estudiadas en hojas de *E. grandiflora*, *E. argentea*, *E. arbelaezii*, *E. boyacensis* y *E. miradorensis* recolectadas de los páramos de Chingaza, Rabanal, Guerrero, Iguaque Merchán y Sumapaz.

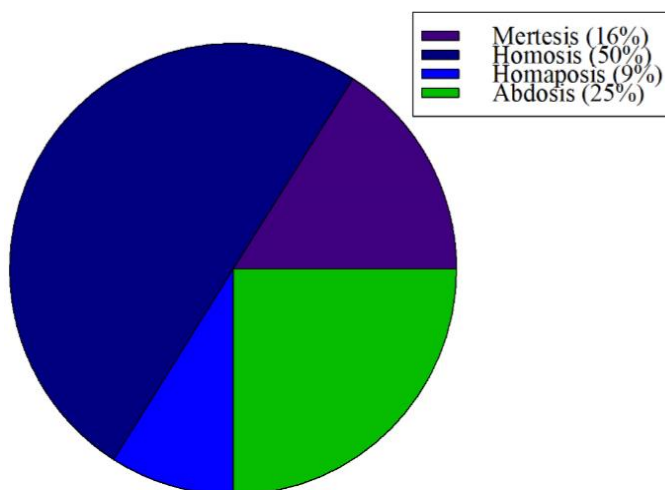
Teniendo en cuenta el número de muestras recolectas por especie de frailejón y el tipo de lesión que presentaban se estimó la frecuencia relativa de las afectaciones con respecto a la especie (figura 4). Las

lesiones más frecuentes en *E. grandiflora*, *E. argentea*, *E. arbelaezii* y *E. boyacensis*. De las cuatro lesiones la más frecuente fue homosis y la menos frecuente abdosis, encontrándose esta última únicamente en *E. grandiflora* y *E. miradorensis*. Las dos especies en las que se presentaron la mayoría de las lesiones estudiadas fueron *E. grandiflora* y *E. argentea*.



**Figura 4.** Frecuencia relativa de las lesiones con respecto a la especie de frailejón. (A) *Espeletia grandiflora*, (B) *Espeletia argentea*, (C) *Espeletia arbelaezii*, (D) *Espeletia boyacensis*, (E) *Espeletia miradorensis*.

A partir de las muestras vegetales con afectación se aislaron un total de 33 morfotipos de los cuales el 16% se recuperaron de mertesis, el 50% de homosis, el 9% de homaposis y el 25% de abdosis (figura 5).



**Figura 5.** Distribución porcentual de los hongos asociados a las lesiones. Los hongos fueron aislados en medio PDA de hojas de *E. argentea*, *E. arbelaezii*, *E. boyacensis*, *E. boyacensis* y *E. miradorensis* con afectación.

Por medio de morfología macroscópica, microscópica (anexo A) y claves taxonómicas y técnicas de biología molecular (anexo A) se lograron identificar los 33 morfotipos de hongos (tabla 1). Se encontraron 18 géneros diferentes, siendo *Fusarium* y *Penicillium* los géneros de los cuales se obtuvo

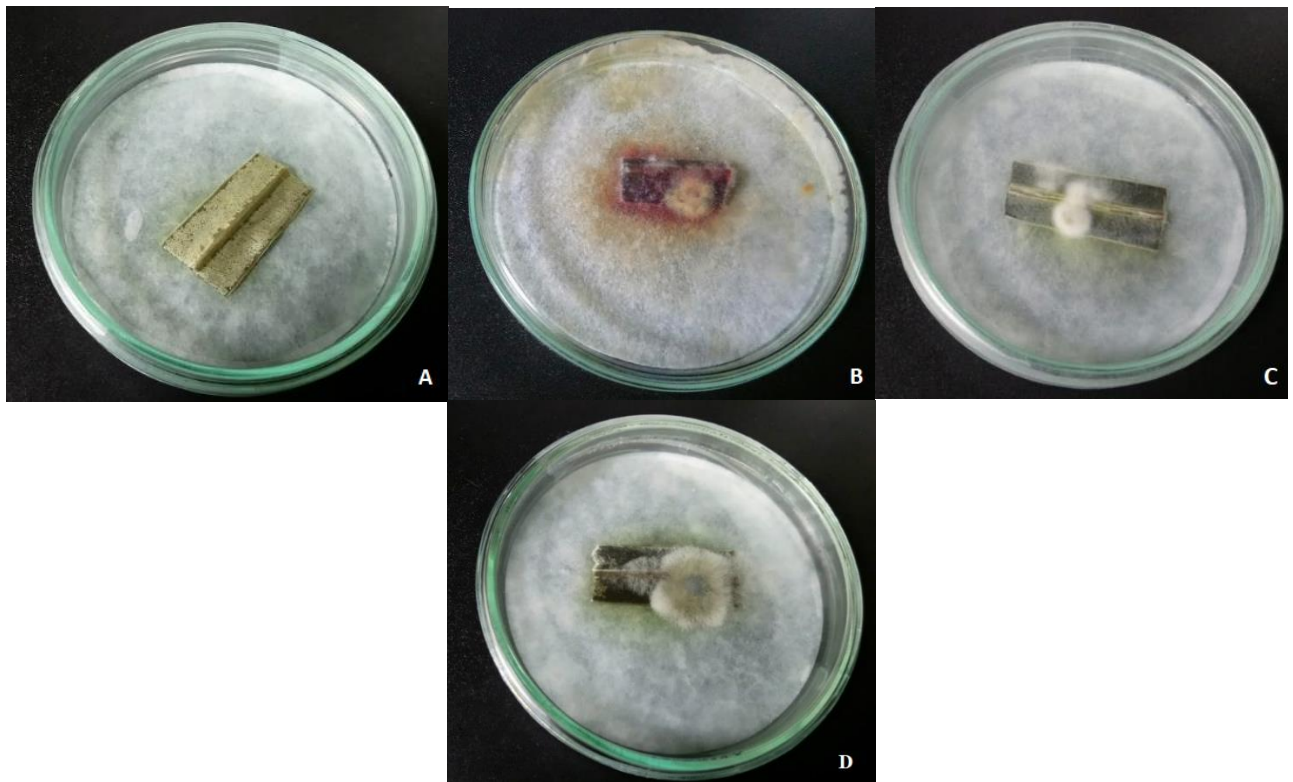
más número de especies. De los 33 hongos se identificaron 27 hasta especie y 5 hasta género (anexo b y c). La lesión de la que aisló la mayor cantidad y variedad de morfotipos fue homosis.

**Tabla 1.** Hongos asociados a las lesiones en hojas de frailejones

<b>Lesión</b>	<b>Hongos asociados</b>
<b>Homaposis</b>	<i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Chaetomium</i> sp. <i>Trichoderma gamsii</i>
<b>Mertesis</b>	<i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Trichoderma viridescens</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Penicillium cairnsense</i>
<b>Homosis</b>	<i>Preussia africana</i> <i>Nigrospora</i> sp. <i>Chaetomium globosum</i> <i>Fusarium avenaceum</i> <i>Syncephalastrum racemosum</i> <i>Pleospora herbarum</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Curvularia</i> sp. <i>Pyrenophora dematioidea</i> <i>Xylaria feejensis</i> <i>Epicoccum nigrum</i> (2 morfotipos) <i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Mucor hiemalis</i> <i>Stemphylium vesicarium</i> <i>Fusarium equiseti</i>
<b>Abdosis</b>	<i>Penicillium glabrum</i> <i>Epicoccum</i> sp (2 morfotipos) <i>Penicillium charlessi</i> <i>Trichoderma gamsii</i> <i>Spegazzinia lobulata</i> <i>Annulohyphoxylon stygium</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Aporospora terricola</i>

## 6.2 Pruebas de patogenicidad

Con el objetivo de determinar si los hongos eran los posibles causantes de las afectaciones se montaron 30 pruebas de patogenicidad con los morfotipos previamente aislados. De los hongos evaluados en el ensayo *Fusarium avenaceum*, *Curvularia* sp. y *Epicoccum nigrum* reprodujeron una de las afectaciones estudiadas (homosis) en hojas de *Espeletia argentea* (figura 6). En los demás ensayos no se observó el desarrollo de abdosis, homaposis o mertesis en hojas de las diferentes especies de frailejones.



**Figura 6.** Pruebas de patogenicidad en hojas de *E. argentea*. (A) control sin inocular. (B, C, D) homosis en un trozo de hoja inoculado con *Fusarium avenaceum*, *Curvularia* sp y *Epicoccum nigrum*, respectivamente.

## 7. Discusión

Si bien las lesiones producidas por hongos pueden variar según la especie de planta hay ciertas características relevantes que permiten que estas puedan ser identificadas sin problema en los individuos afectados [80]; las lesiones descritas en este estudio fueron homosis, homaposis, mertesis y abdoisis (figura 2). De las cuatro lesiones evaluadas la más frecuente y la que estuvo asociada con mayor número de morfotipos de hongos fue homosis (figura 3-5). Dado que la mayoría de los hongos se encontraban asociados a homosis y algunos de ellos correspondían a géneros potencialmente fitopatógenos como *Fusarium*, *Curvularia*, *Nigrospora* entre otros, es probable que esto influyera en la frecuencia con la que se presenta la lesión, al haber más organismos que podrían generarla y diseminarla a otros frailejones sanos [81]. En vista de que los frailejones se distribuyen más o menos homogéneamente, se puede esperar una diseminación rápida de los agentes biológicos involucrados en la afectación, lo que puede llevar a la infección de la mayoría de los individuos [82].

Lesiones como homosis pueden generar cambios en la estructura del frailejón como alteraciones en el color de las hojas, manchas, necrosis y posterior muerte, reduciendo sus poblaciones y por lo tanto afectando los servicios ecosistémicos que brindan, como, por ejemplo, el servicio de regulación hídrica [40] [53] [54]. Para determinar el impacto de estas afectaciones en las poblaciones de frailejones habrá que realizar estudios enfocados en determinar la incidencia, severidad y distribución de este tipo de daños y en monitoreos a mediano plazo de la dinámica de estas.

En este estudio se encontró que la frecuencia con la que se presentan las lesiones en cada especie de frailejón varía (figura 4). Mientras que homosis se encontró en *E. argentea*, *E. boyacensis*, *E. arbelaezii* y *E. grandiflora*, abdoisis únicamente en *E. argentea* y *E. miradorensis*. La prevalencia y frecuencia de una afectación en una especie u otra podría estar relacionado con factores como estado del entorno físico (temperatura, humedad o lluvias) y rango de distribución de la especie, duración del periodo de infección (tiempo), prevalencia del patógeno y naturaleza, edad o madurez de la planta y susceptibilidad inherente



a la enfermedad [83]. Las especies de frailejones en las que más se han descrito y reportado afectaciones son *E. argentea* y *E. grandiflora* [9] [53] [54] [69], lo que concuerda con lo encontrado, puesto que estas especies presentaron la mayoría de las lesiones estudiadas. Estos resultados muestran que estas dos especies podrían ser más susceptibles a ser afectadas por agentes patógenos o que, debido a que son especies generalistas y su rango de distribución es más amplio, la probabilidad de presentar este tipo de lesiones sea más alta [9] [82].

A partir de las lesiones encontradas en las hojas de frailejones con afectación se aislaron e identificaron 33 morfotipos de hongos correspondiente a 18 géneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Curvularia*, *Pyrenophora*, *Preussia*, *Epicoccum*, *Chaetomium*, *Spegazzinia*, *Stemphylium*, *Annulohyphoxylon*, *Trichoderma*, *Pleospora*, *Syncephalastrum*, *Xylaria*, *Aporospora*, *Mucor* y *Stemphylium*.

Dependiendo de la forma en la que se asocian o interactúan con la planta estos hongos pueden ser clasificados como endófitos saprofitos, oportunistas, fitopatógenos o antagonistas. *Chaetomium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Annulohyphoxylon*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Syncephalastrum*, *Xylaria*, *Preussia* y *Aporospora* contienen en su mayoría hongos oportunistas o saprofitos; sin embargo la especie de *Xylaria* identificada en este estudio se conoce como fitopatógena; *Epicoccum* y *Trichoderma* son géneros que contienen principalmente especies con potencial biocontrolador; y géneros como *Nigrospora*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Pleospora*, *Pyrenophora* y *Stemphylium* se ubican dentro de la categoría de fitopatógenos. Varios de los géneros ya mencionados reciben también la denominación de endófitos [84] [85] [86] [87].

Las especies identificadas pertenecientes a los géneros de *Penicillium*, *Aspergillus* y *Trichoderma* podrían tener un papel fundamental en el control de patógenos (hongos e insectos), debido a que pueden secretar enzimas o metabolitos secundarios que inhiben el desarrollo de estos [88]. En estudios posteriores se debería evaluar el potencial de estos hongos como biocontroladores, ya que esto podría ser un primer acercamiento al desarrollo de una posible estrategia de control frente a organismos que afectan a los frailejones.

Géneros de hongos endófitos y saprófitos como *Annulohyphoxylon*, *Aporospora* y *Preussia* no habían sido reportados en hojas sanas o afectadas de frailejones en otros estudios [12] [13] [14]. Aunque no se conocen como fitopatógenos y por el contrario pueden llegar a tener actividad antagonista es importante determinar si pueden estar implicados en el desarrollo de alguna de las afectaciones ya descritas [89] [90]. El desarrollo de ensayos donde se inoculen estos hongos en hojas de frailejones completamente sanos, hojas sometidas a algún tipo de estrés (temperaturas altas) y hojas provenientes de frailejones de diferentes edades (juvenil -maduro), podrían ayudar a dilucidar estos aspectos, ya que sea reportado que el estado bajo el cual se encuentra la planta influye sobre la capacidad de estos hongos para generar algún tipo de enfermedad [91].

De los hongos que se evaluaron en las pruebas de patogenicidad solo *Fusarium avenaceum*, *Curvularia* sp. y *Epicoccum nigrum* reprodujeron una de las lesiones (homosis) en *Espeletia argentea* (figura 6). Esto indica que estos hongos podrían ser los posibles causantes de esta lesión en particular. *F. avenaceum* y *Curvularia* sp. han sido reportados como hongos fitopatógenos capaces de colonizar un amplio rango de hospederos y generar enfermedad en variedad de géneros de plantas [92] [93]. La capacidad de estos hongos para producir afectaciones como la observada en este estudio posiblemente está asociada a la producción de metabolitos secundarios fitotóxicos, enzimas y formación de estructuras especializadas [94] [23]. Es posible que la colonización y dispersión de estos hongos se haya visto favorecida por insectos que causan herbivoría en frailejones debilitados y sanos, ya que estos pueden transportar esporas o partes del talo del hongo en su cuerpo, patas o aparato bucal [95]; el daño causado por insectos ya ha sido reportado, pero solo para *E. grandiflora*, *E. killipii*, *E. uribei* y *E. argentea* [9][53][69].

De estos hongos cabe mencionar que, a pesar de que *Epicoccum nigrum* no es considerado un hongo fitopatógeno, en este estudio y según lo reportado por Mahadevakumbar y colaboradores puede generar algún tipo de afectación en plantas [96]. Medina *et al.* para el año 2010 planteó que estos hongos que viven naturalmente dentro de las hojas podrían ser uno de los posibles causantes de las afectaciones al

verse debilitada la planta por estrés hídrico, desórdenes nutricionales o insectos [6]. Así como algunos patógenos pueden tener una fase latente dentro del tejido hospedero y algunos saprófitos pueden ser parásitos facultativos, hongos endófitos como *Epicoccum* sp. pueden volverse patógenos cuando la planta está sometida algún tipo de estrés; aunque los frailejones de los que se recolectaron las hojas para las pruebas de patogenicidad estaban aparentemente sanos es probable que estuvieran sometidos a estrés producto de la alternancia térmica (altas y bajas temperaturas) que se ve en ecosistemas como el páramo [97]. Hay evidencia que sugiere que los hongos endófitos han evolucionado directamente de hongos patógenos [98]. Teniendo en cuenta este planteamiento es posible que los hongos implicados en la afectación no sean en un principio fitopatógenos sino endófitos, como *Epicoccum* sp., que se ven favorecidos por la herbívora de insectos o por fenómenos como por ejemplo el cambio climático al haber un incremento de la temperatura, las concentraciones de CO<sub>2</sub> y un cambio en los regímenes de precipitación que pueden hacer susceptible la planta al ataque por estos hongos [99] [100].

En investigaciones anteriores [12] [13] [14] [58] [69] ya se habían reportado géneros de hongos endófitos y potencialmente fitopatógenos encontrados en este estudio, como *Nigrospora* sp., *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp. asociados a daños como pérdida parcial de pubescencia, pudrición, necrosis, moteado negro, clorosis, daños foliares y entorchamiento en *E. argentea* y *E. grandiflora*. Prieto en el año 2017 [15] llevo a cabo una investigación con el objetivo de determinar las lesiones y hongos potencialmente fitopatógenos asociados a frailejones (*Espeletia* spp.) de los páramos de Chingaza y Cruz Verde, encontró que hongos endófitos como *E. nigrum* y *F. oxysporum* generaban clorosis en hojas sanas de *E. grandiflora*. Estos resultados contrastan con lo encontrado en esta investigación, en el sentido que estos dos géneros reprodujeron fue homosis y en *E. argentea*. Este resultado, junto con otros encontrados en este estudio indican que los mismos géneros de hongos pueden estar implicados en la generación de diferentes lesiones en más de una especie de frailejón.

Con respecto a otras de las afectaciones estudiadas, de hojas con homosis y abiosis se aislaron especies de hongos fitopatógenos pertenecientes al género *Fusarium* como: *F. avenaceum* *F. verticillioides*, *F. equiseti* y *F. subglutinans*. Aunque las cuatro especies pertenecían a un mismo género, como se describió anteriormente, solo *F. avenaceum* reprodujo la lesión. Este comportamiento puede argumentarse con lo descrito por algunos autores, los cuales establecen que la generación de enfermedad depende de la interacción de tres o cuatro factores: hospedero susceptible, agente causal (virulento), condiciones ambientales favorables y tiempo [33] [26] [27], la ausencia de alguno de estos factores impide que el patógeno genere la enfermedad en la planta; esto explicaría porque algunas de las especies de hongos fitopatógenos no generaron afectaciones en las hojas de frailejones sanos ya que podría haber faltado alguna de estas condiciones.

Adicionalmente, Murillo y colaboradores (2008) evaluaron el efecto de la temperatura sobre la capacidad de *F. verticillioides* para ocasionar infección sistémica en plantas de maíz cultivadas bajo tres regímenes de temperatura; los resultados mostraron que la temperatura tenía un efecto significativo en el desarrollo de la enfermedad causada por este hongo, ya que a temperaturas superiores a los 35 °C se favorecía el desarrollo de la enfermedad en la planta [101]. Esto sustenta la hipótesis de que hay ciertos factores que influyen en el proceso de infección de la planta y que como las condiciones del ecosistema de páramo son muy diferentes a la manejadas en el ensayo (temperatura de 8-12°C), la capacidad de los hongos para producir la lesión en los frailejones se podría ver afectada.

También se plantea la posibilidad de que la afectación no sea generada por un único hongo sino por un complejo de varios, lo que explicaría por qué no se reprodujeron las lesiones, ya que tal vez es necesario inocular simultáneamente varios hongos. Si bien las enfermedades en plantas se le atribuyen principalmente a un solo organismo, actualmente hay evidencia que muestra que puede haber sinergismos entre diferentes patógenos para causar la enfermedad [102]. Un ejemplo de esto es la necrosis apical marrón, donde numerosos géneros de hongos patógenos (*Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum* y *Phomopsis*) y una bacteria (*Xanthomonas* arborícola) se encuentran involucrados [103].

Otros hongos fitopatógenos aislados fueron *Nigrospora* sp, *P. herbarum*, *X.feejeensi*, *S. vesicarium* y *P. dematioidea*. Aunque en este estudio no reprodujeron ninguna de las lesiones estudiadas, otras investigaciones reportan que *P. herbarium* produce manchas marrones o amarillas en flores [104], *Nigrospora* sp. el tizón foliar en diversidad de plantas entre ellas arroz, maíz y sorgo [105], *S. vesicarium* “la mancha morada” en hortalizas [106] *X. feejeensi* desecación en raíces y pudrición de frutos [107] y *P. dematioidea* lesiones foliares en flores [108]. Como se puede apreciar en estos reportes los síntomas de la enfermedad varían dependiendo de la planta y de la especie de hongo fitopatógeno involucrado [80]. Pese a que se han descrito las afectaciones generadas por hongos en diferentes plantas particularmente de interés comercial, muy poco se sabe sobre estos aspectos en plantas silvestres como los frailejones, lo que hace que lo reportado en esta investigación sea de gran importancia.

## 8. Conclusiones

- La frecuencia y el número de hongos asociados varía notablemente dependiendo del tipo de lesión. Para este estudio la lesión más frecuente y con un mayor número de hongos fue homosis.
- A partir de las afectaciones se identificaron un total de 18 géneros asociados a las diferentes lesiones encontradas en las especies de frailejón, de los cuales hay especies saprófitas, oportunistas, antagonistas, fitopatógenas y endófitas.
- De las lesiones estudiadas se logró reproducir homosis por parte de *Fusarium avenaceum*, *Curvularia* sp y *Epicoccum nigrum*, individualmente, en *E. argentea*. Estos resultados sugieren que estos hongos podrían estar implicados en la afectación de esta especie de frailejón.

## 9. Recomendaciones

- Realizar las pruebas de patogenicidad modificando parámetros como: temperatura (similar a la del ecosistema de páramo), método de inoculación (aspersión de una suspensión conidios en caso de que presente estructuras de reproducción) y número de hongos inoculados (más de uno), esto con el objetivo de determinar si influyen en la generación de la afectación.
- Evaluar la capacidad antagonista de los hongos con potencial biocontrolador como *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., entre otros, frente a aquellos que se reportaron como fitopatógenos en este estudio.
- Determinar la frecuencia e incidencia de las lesiones en diferentes especies de frailejones, tomando muestras de un número significativo de individuos.
- Evaluar si los hongos asociados a una determinada lesión varían dependiendo de la especie de frailejón o de las condiciones particulares del páramo donde se encuentra la especie.

## 10. Bibliografía

1. Alexander M, Peña J.J. Introducción a la microbiología del suelo. México: AGT Edit; 1981.p. 25.
2. González L. Introducción a la fitopatología. San José, Costa Rica: IICA; 1989.p. 18-19
3. Morales RM, Otero GJ, Van der Hammen T, Torres PA, Cadena CE, Pedraza CA., Rodríguez EN., Franco CA, Betancourth JC, Olaya OE, Posada GE, Cárdenas VL. Atlas de paramos de Colombia. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt; 2007.p.10
4. Medina M, Varela A, Fuentes L. Comunicación Nacional. Programa nacional para la evaluación de los frailejones en los páramos de Andes del Norte. Bogotá: Síntesis; 2016.p.1-15.
5. Extraño daño en frailejones colombianos preocupa a investigadores [Internet]. Humboldt.org.co. 2018 [citado 10 jun 2018]. Disponible en: <http://www.humboldt.org.co/es/boletines-y-comunicados/item/1180-frailejones-en-peligro>.

6. Medina M, Varela A, Martínez C. Registro de daño a los frailejones (*Asteraceae: Espeletia spp.*) por insectos y hongos patógenos en el PN Chingaza (Colombia). *Cespedesia*. 2010; 32(90): 35-65.
7. Calderón E, Galeano G, García N. Libro rojo de las plantas de Colombia. Bogotá: Panamericana S.A; 2005. 15p.
8. Murray T, Tissue D, Ellsworth D, Riegler M. Interactive effects of pre-industrial, current and future [CO<sub>2</sub>] and temperature on an insect herbivore of Eucalyptus. *Oecologia* [Internet]. 2012 [citado 19 oct]; 171(4):1025-1035. Disponible en: [10.1007/s00442-012-2467-9](https://doi.org/10.1007/s00442-012-2467-9)
9. Varela RA. Limitantes en la restauración ecológica: estudio de caso de las afecciones por patógenos en el Parque Nacional Natural Chingaza. *Restauración Ecológica de los Paramos de Colombia: Transformación y herramientas para su conservación*. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. 2014.p. 212-227.
10. Rache L, Pacheco J .Micropropagación de *Espeletiopsis muiska* (Cuatrecasas), frailejón del Parque Nacional La Ranchería – Boyacá, Colombia. *Agronomía Colombiana*. 2009; 27(3): 349-358.
11. Mora A. Hongos endófitos asociados a *Espeletia grandiflora* del PNN Chingaza. [Trabajo de pregrado de Microbiología Industrial]. Pontificia Universidad Javeriana; 2012 [citada 18 oct 2017].p. 36.
12. González D. Estudio preliminar de la composición de hongos endófitos en *Espeletia argentea* en la cuenca de la quebrada Calostros (PNN Chingaza) [Trabajo de pregrado de Microbiología Agrícola y Veterinaria en internet]. Pontificia Universidad Javeriana; 2012 [citada 18 oct 2017]. 26 p. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/.../GonzalezRochaDavidAndres2012.pdf>.
13. Nonsoque Y. Comparación de hongos endófitos en individuos sanos y enfermos de *Espeletia grandiflora* (microcuenca de la quebrada Calostros – Parque Nacional Natural Chingaza). [Trabajo de pregrado de Microbiología Industrial]. Pontificia Universidad Javeriana; 2012 [citada 18 oct 2017].p. 26.
14. Bermúdez S. Comparación de hongos endófitos asociados a la afectación de frailejones (*Espeletia grandiflora*) en el páramo del Parque Nacional Chingaza. [Trabajo de pregrado de Microbiología Industrial]. Pontificia Universidad Javeriana; 2013 [citada 10 jun 2018]. p. 23.
15. Prieto R. Lesiones de frailejones (*Espeletia sp.*) y potenciales hongos fitopatógenos asociados, en los páramos de Chingaza y Cruz Verde. [Trabajo de pregrado de Microbiología Industrial]. Pontificia Universidad Javeriana. ; 2017 [citada 18 oct 2017]. p. 40.
16. MEDINA, M. Estado de avance en la investigación y observaciones sobre las especies de frailejón que están siendo afectadas por insectos plaga y hongos fitopatógenos en el PNN Chingaza. Informe técnico. Bogotá: INAB-IDEAM. 2009.
17. Morales V, Rodríguez M. Hongos endófitos en plantaciones de mango 'Haden' de la planicie de Maracaibo, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 2006; 23 (3):378-38.
18. Herrera T, Ulloa, M. El reino de los hongos, micología básica y aplicada. México D.F: Universidad Nacional Autónoma de México; 1990.p. 550.
19. Kusari S, Hertweck C, Spiteller M. Chemical ecology of endophytic fungi: Origins of secondary metabolites. *Chem. & Biol.* [Internet]. 2012[citado 18 oct 2017]; 19(7): 792-798. Disponible en: [10.1016/j.chembiol.2012.06.004](https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.06.004).
20. Rodríguez R, White J, Arnold A, Redman R. Fungal endophytes: Diversity and ecological roles. *New Phytol.* [Internet].2009 [citado 18 oct 2017]; 182(2): 314-330. Disponible en: [10.1111/j.1469-8137.2009.02773](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773).
21. Strobel G, Daisy B, Castillo, U. & Harper, J. Natural products from endophytic microorganisms. *J. Nat. Prod.* [Internet].2004 [citado 18 oct 2017]; 67(2): 257-268. Disponible en: [10.1021/np030397v](https://doi.org/10.1021/np030397v).

22. Tan R, Zou W. Endophytes: A rich source of functional metabolites. *Nat. Prod.* [Internet]. 2001 [citado 18 oct 2017]; 18(4): 448-459. Disponible en: [10.1039/b100918o](https://doi.org/10.1039/b100918o).
23. Schulz B, Boyle C. The endophytic continuum. *Mycol. Res.* [Internet]. 2005 [citado 18 oct 2017]; 109(6):61-686. Disponible en: [10.1017/s095375620500273x](https://doi.org/10.1017/s095375620500273x).
24. Requena N, Serrano E, Ocon A, Breuninger M. Plant Signals and Fungal Perception During Arbuscular Mycorrhiza Establishment. *Chem Inform.* [Internet]. 2007 [citado 10 jun 2018]; 38(22): 1-13 Disponible en: [10.1002/chin.200722269](https://doi.org/10.1002/chin.200722269).
25. Barea J, Pozo M, Azcón R, Azcón-Aguilar C. Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany.* [Internet]. 2005 [citado 10 jun 2018]; 56(417):1761-1778. Disponible en: [10.1093/jxb/eri197](https://doi.org/10.1093/jxb/eri197).
26. Azcón-Aguilar C, Barea J. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae.* [Internet]. 1997 [citado 10 jun 2018]; 68(1-4):1-24. Disponible en: [10.1016/s0304-4238\(96\)00954-5](https://doi.org/10.1016/s0304-4238(96)00954-5).
27. Rivera GC. Conceptos introductorios a la fitopatología. San José, Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia; 2007.8-19p.
28. Agrios. Fitopatología. México: Uthea; 2001.p.20-40.
29. Agrios G. Plant Pathology. 3ª ed. San Diego, California: Academic Press; 1988.p. 4-9
30. Aguirre E, Ulloa M, Aguilar S, Cifuentes J, Valenzuela R. Biodiversidad de hongos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad.* [Internet]. 2014 [citado 10 jun 2018]; 85(1):76-81. Disponible en: [10.7550/rmb.33649](https://doi.org/10.7550/rmb.33649).
31. Manning W, Tiedemann A. Climate change: Potential effects of increased atmospheric Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), ozone (O<sub>3</sub>), and ultraviolet-B (UV-B) radiation on plant diseases. *Environmental Pollution.* [Internet]. 1995 [citado 10 jun 2018]; 88(2): 219-245. Disponible en: [10.1016/0269-7491\(95\)91446-r](https://doi.org/10.1016/0269-7491(95)91446-r).
32. Arauz CL. Fitopatología. San José, Costa Rica: Editorial de la universidad de Costa Rica; 1998. 17p.
33. Francl L. The Disease Triangle: A Plant Pathological Paradigm Revisited. *The Plant Health Instructor.* [Internet]. 2001 [citado 29 jun 2018]; 51(1):1-5. Disponible en: [10.1094/phi-t-2001-0517-01](https://doi.org/10.1094/phi-t-2001-0517-01).
34. Agrios, GN. *Plant Pathology* (5th edition). San Diego, EE.UU: Elsevier-Academic Press; 2005.p.715-718.
35. Robles A, Gómez R, Macas F, Sánchez A, Gutiérrez R. Estudio de la patogenicidad de aislados de *fusarium* sp., asociados a la marchitez vascular del babaco Loja- Ecuador. *Centro de biotecnología.* 2014; 3(1): 61-72.
36. Isla L. Los hongos fitopatógenos de los suelos tropicales y subtropicales. España: Editorial Acad Mica Espa; 2012. 40p.
37. Latorre GB. Enfermedades de las plantas cultivadas. Santiago de Chile: Ediciones Universidad Católica de Chile; 2004.10 p.
38. Sarmiento PC, Cadena VC, Sarmiento GM, Zapata JJ. Aportes a la conservación estratégica de los páramos de Colombia. Actualización de la cartografía de los complejos de páramo a escala 1:100.000. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt; 2013.p. 46.
39. Vázquez A, Buitrago, AC. El gran libro de los páramos. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt; 2011.p. 208.

40. Díaz MA, Navarrete JD, Suárez T. Páramos: Hidrosistemas Sensibles. Revista de Ingeniería Universidad de Los Andes.2002; 1(22): 66–73.
41. Jaramillo CA. Congreso Mundial de Páramos. Bogotá: Ministerio del Medio Ambiente; 2003.p. 51.
42. Morales J, Estévez J. El Páramo: ¿ecosistema en vía de extinción? .Rev. Luna. Azul. 2006; 1(22): 39- 51.
43. Rangel CO. Colombia, diversidad biótica III. La región de vida paramuna. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2002.p. 902.
44. Chávez ME, Santamaría M, Sánchez E, Sarmiento CE. Páramos y humedales. Construcción de insumos técnicos para la gestión integral del territorio y la adaptación al cambio climático en ecosistemas estratégicos. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. 2016. p. 147-172.
45. Rivera OD, Torres RD. Páramos de Colombia. Bogotá D.C: Banco de Occidente; 2001.p. 233.
46. Cuatrecasas J. New subtribe in the Heliantheae (Compositae): Espeletiinae. Phytologia. 1976; 35(1): 43-61.
47. Alzate N. Insectos asociados a la necromasa del frailejón (*Espeletia hartwegiana* CUATREC) en un páramo de Villamaría. Revista de Agronomía. 2010; 18 (1):59 – 68.
48. Standley P. The Genus Espeletia. American Journal of Botany. [Internet]. 1915[citado 10 jun 2018] 2(9):468. Disponible en: [10.2307/2434978](https://doi.org/10.2307/2434978)
49. Sturm H. Contribución al conocimiento de las relaciones entre los frailejones (*Espeletiinae*, *Asteraceae*) y los animales en las regiones páramo andino. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.1990; 17(67): 668-685.
50. Monasterio, M. Los páramos andinos como región natural. Características biogeográficas generales y afinidad con otras regiones andinas. pp. En: Monasterio, M. (Ed.). Estudios ecológicos en los páramos andinos. Venezuela, Mérida. Editorial de la Universidad de los Andes; 1980. p. 15-27.
51. Brand, PM. Inventario y observaciones de la avifauna del Páramo el Granizo. Colombia, Bogotá: Editora Guadalupe Ltda; 1995.p. 648-661.
52. Mora OL, Sturm H. Estudios ecológicos del páramo y del bosque Altoandino Cordillera Oriental de Colombia, Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales; 1994.78-81p
53. Salinas C, Fuentes L, Hernández L. Caracterización de los lepidópteros fitófagos asociados a la herbívora de frailejones en la cuenca de la quebrada Calostros del Parque Nacional Natural Chingaza. Revista Mutis. [Internet]. 2013 [citado 10 jun 2018]; 3(1):1-22. Disponible en: <https://doi.org/10.21789/issn.2256-1498>.
54. Varela A. “Análisis de la relación hongos patógenos – afectación de frailejones en el Parque Nacional Natural Chingaza”, Informe final actividades proyecto, Bogotá, D.C., Colombia: Pontificia Universidad Javeriana, 2015.
55. Medina MM. Estado de avance de la investigación y observaciones sobre las especies de frailejones que están siendo afectadas por insectos plaga y hongos Fitopatógenos en el PNN Chingaza. Bogotá, D.C. Informe técnico INAP-IDEAM; 2009. p.9.
56. Varela A, Jácome J. 2011. Análisis de la relación hongos patógenos – afectación de frailejones en el Parque Nacional Natural Chingaza. Proyecto de investigación. Bogotá, D.C, Colombia. p. 17.
57. Franco M. Diversidad y frecuencia de hongos endófitos en *Espeletia argentea* en relación con aspectos edáficos en la cuenca Calostros (PNN Chingaza, Colombia). [Trabajo de pregrado de Ecología] Pontificia Universidad Javeriana; 2014 [citada 10 jun 2018]. p. 44.

58. Avellaneda K. Diversidad de hongos endófitos en *Espeletia argentea*, Asteracea y su relación con variables edáficas en la microcuenca Calostros del Páramo de Chingaza. [Trabajo de pregrado de Ecología]. Pontificia Universidad Javeriana; 2015 [citada 10 jun 2018]. p. 47.
59. Bernal M. Efecto de hongos antagonistas frente a hongos patógenos de *Espeletia grandiflora* y *Espeletia argentea* del Parque Nacional Natural Chingaza. [Trabajo de pregrado de Microbiología Industrial]. Pontificia Universidad Javeriana; 2016 [citada 10 jun 2018]. p. 32.
60. Salazar E. Características fisicoquímicas y biológicas del suelo de páramo en diferentes rangos altitudinales y su relación con la afectación de *Espeletia grandiflora* en PNN Chingaza [Trabajo de pregrado de Biología]. Universidad Jorge Tadeo Lozano; 2013 [citada 10 jun 2018]. p. 40.
61. Lora C. El Parque Nacional Natural Chingaza, en: I simposio taller de investigación para la región de PNN Chingaza. Bogotá: Ministerio de Medio Ambiente; 1999. p. 10.
62. Hernández A, Rojas R. Cambios en el uso del suelo asociado a la expansión urbana y la planeación en el corregimiento de Pasquilla, zona rural de Bogotá (Colombia). Revista colombiana de geografía. 2013; 22(2):257-271.
63. Fundación humedales de Bogotá [Internet]. 2018 [citado 10 jun 2018]. Disponible en: <http://humedalesbogota.com/paramo-de-guacheneque/>
64. Gómez ME. Crónicas. 1st ed. Bogotá, Colombia: Penguin Random House Grupo Editorial Colombia; 2015. p. 28.
65. Calderón E, Granados J. Estrategias de desarrollo sostenible para el cultivo de papa en el páramo de Guerrero [Trabajo de pregrado de Ingeniería Ambiental en internet]. Universidad Libre; 2012 [citado 28 jun 2018]. 69 p. Disponible en: <http://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/11317/DOCUEMENTO%20FINAL%2024-06-2013%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
66. Solano C, Roa DI, Calle Z. Estrategia de desarrollo sostenible corredor de conservación. Bogotá, Colombia: Fundación Natura; 2004. p. 20.
67. Organización Colparques - Paraísos por descubrir en Colombia [Internet]. 2018 [citado 28 Jun 2018]. Disponible en: <http://www.colparques.net/IGUAQUE>.
68. Organización Colparques - Paraísos por descubrir en Colombia [Internet]. 2018 [citado 28 Jun 2018]. Disponible en: <http://www.colparques.net/SUMAPAZ>.
69. Varela, A. Informe final Convenio No. 9-07-24300-001086 de 2014, Pontificia Universidad Javeriana - Empresa de Agua, Alcantarillado y Aseo de Bogotá, E.S.A.P. Aunar esfuerzos técnicos y científicos para desarrollar una investigación participativa sobre el efecto de la transformación antrópica del páramo en las interacciones planta-insecto-hongo en los frailejones (*E. argentea* y *E. grandiflora*)- Fase I, en el marco del Proyecto “Conservación, restauración y uso sostenible de servicios ecosistémicos entre los páramos de Guerrero, Chingaza, Sumapaz, los Cerros Orientales y su área de influencia. Bogotá, D.C., Colombia; 2014. .p.
70. Salazar C, García M. Aislamiento de hongos endófitos en rosa (*Rosa hybrida*) en Bogotá, Colombia. Revista Iberoamericana de Micología. [Internet]. 2005 [citado 10 jun 2018] ; 22(2):99-101. . Disponible en: [10.1016/s1130-1406\(05\)70016-4](https://doi.org/10.1016/s1130-1406(05)70016-4).
71. Barnett HL, Hunter BB. Illustrated genera of imperfect fungi. St. Paul: APS Press; 2010. p. 218.
72. Domsch KH, Gams W. Compendium of soil fungi. London, England: Academic Press; 1980.p. 646.
73. Nelson PE, Toussoun TA, Marasas WF. *Fusarium* species and illustrated manual for identification. Pennsylvania, United States: The Pennsylvania State University Press; 1983.p. 192.
74. Gardes M, Bruns T. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes, application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology. 1993; 2(2):113-118.

75. White TJ, Bruns T, Lee ST. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for Phylogenetics. New York: Academic Press; 1990. p. 315-322.
76. Desjardins P, Conklin D. NanoDrop microvolume quantitation of nucleic acids. Journal of Visualized experiments [Internet]. 2010 [citado 18 oct 2017]; 1(45):1-5. Disponible en: [10.3791/2565](https://doi.org/10.3791/2565).
77. Castaño J, Del Rio L. Manual para el diagnóstico de hongos, bacterias, virus y nematodos fitopatógenos. Colombia, Manizales: Zamorano Academic Press; 1997 .p. 210.
78. Hartung J, Burton. Epidemiological studies of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Phytopathology [Internet]. 1981 [citado 1 jul 2018]; 71 (1): 449-453. Disponible en: [10.1094/phyto-71-449](https://doi.org/10.1094/phyto-71-449)
79. Vesga B, Otoy M, Ospina OH, Flor MC, Schwartz H. Técnicas para el aislamiento, identificación y conservación de hongos patógenos del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Cali, Colombia: CIAT; 1981 .p.36.
80. Riley M, Williamson M, Maloy O. Plant disease diagnosis. The Plant Health Instructor [internet]. 2002 [citado 10 nov 2018];2(1):1-18. Disponible: [10.1094/PHI-I-2002-1021-01](https://doi.org/10.1094/PHI-I-2002-1021-01)
81. Brown J. Aerial Dispersal of Pathogens on the Global and Continental Scales and Its Impact on Plant Disease [Internet]. Science. 2002 [citado 10 nov 2018];297(5581):537-541. Disponible en: [10.1126/science.1072678](https://doi.org/10.1126/science.1072678)
82. Varela, A. Informe de actividades del Proyecto. Análisis de la relación hongos patógenos – afectación de frailejones en el Parque Nacional Natural Chingaza. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia; 2013.p. 10.
83. Scholthof K. The disease triangle: pathogens, the environment and society. Nature Reviews Microbiology [internet]. 2006 [citado 10 nov 2018] ;5(2):152-156. Disponible: [10.1038/nrmicro1596](https://doi.org/10.1038/nrmicro1596).
84. Ravichandra NG. Fundamentals of plant pathology. Delhi: PHI learning PVT. Ltd; 2013.p.153-155.
85. Ullah H, Ahmad R, Khan S, Khan A. Evaluation of the Combined Effects of *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* Against Root-knot Disease of Tomato. Journal of Biological Sciences [internet]. 2001 [citado 10 nov 2018];1(3):139-142.Disponible en: [10.3923/jbs.2001.139.142](https://doi.org/10.3923/jbs.2001.139.142)
86. Doehlemann G, B, Wenjun Z<sup>3</sup>, Sharon A. Plant Pathogenic Fungi. Microbiol spectrum [internet].2017 [citado 10 nov 2018]; 21(5) :703-726.Disponible en: [10.1128/microbiolspec.funk-0023-2016](https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0023-2016).
87. Arnold A. Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. Fungal Biology Reviews [internet]. 2007 [citado 10 nov 2018];21(2-3):51-66. Disponible en: [10.1016/j.fbr.2007.05.003](https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.05.003).
88. Boughalleb-M'Hamdi N, Salem I, M'Hamdi M. Evaluation of the efficiency of *Trichoderma*, *Penicillium*, and *Aspergillus* species as biological control agents against four soil-borne fungi of melon and watermelon. Egyptian Journal of Biological Pest Control [internet]. 2018 [citado 10 nov 2018];28(1). Disponible en: [10.1186/s41938-017-0010-3](https://doi.org/10.1186/s41938-017-0010-3)
89. Cheng M, Wu M, Yuan G, Chen Y, Su Y, Hsieh M et al. Secondary metabolites and cytotoxic activities from the endophytic fungus *Annulohyphomyces squamulosus*. Phytochemistry Letters [internet]. 2012 [citado 10 nov 2018]; 5(1):219-223. Disponible en: [10.1016/j.phytol.2011.12.012](https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.12.012).
90. Gonzalez-Menendez V, Martin J, Siles J, Gonzalez-Tejero M, Reyes F, Platas G et al. Biodiversity and chemotaxonomy of *Preussia* isolates from the Iberian Peninsula. Mycological Progress [internet]. 2017 [citado 10 nov 2018];16(7):713-728. Disponible en: [10.1007/s11557-017-1305-1](https://doi.org/10.1007/s11557-017-1305-1)



91. Karolina G, Ewa W, Rafał S, Marlena L. Endophytic fungi and latent pathogens in the sedge *Carex secalina* (Cyperaceae), a critically endangered species in Europe. *Plant Protection Science* [internet]. 2018 [citado 27 nom 2018]; 2(1):1. Disponible en: [10.17221/120/2018-pps](https://doi.org/10.17221/120/2018-pps).
92. Lysøe E, Harris L, Walkowiak S, Subramaniam R, Divon H, Riiser E et al. The Genome of the Generalist Plant Pathogen *Fusarium avenaceum* Is Enriched with Genes Involved in Redox, Signaling and Secondary Metabolism. *PLoS ONE* [internet]. 2014 [citado 27 nom 2018]; 9(11). Disponible en: [10.1371/journal.pone.0112703](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112703).
93. Shirsath L, Patil S, Patil U. Incidence of leaf spot disease on cotton caused by *Curvularia verruculosa* and role of its hydrolytic enzymes in pathogenesis. *Physiology and Molecular Biology of Plants* [internet]. 2018 [citado 27 nom 2018] ;24(4):711-714. Disponible en: [10.1007/s12298-018-0557-9](https://doi.org/10.1007/s12298-018-0557-9).
94. Mayer A. Plant-fungal interactions: A plant physiologist's viewpoint. *Phytochemistry* [internet]. 1989 [citado 10 nom 2018];28(2):311-317. Disponible en: [10.1016/0031-9422\(89\)80002-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)80002-0).
95. Eigenbrode S, Forest-Perez N, Davis T. Insect-Borne Plant Pathogens and Their Vectors: Ecology, Evolution, and Complex Interactions. *Annual Review of Entomology* [internet]. 2018 [citado 10 nom 2018]; 63 (1): 169-191. Disponible en: [10.1146/annurev-ento-020117-043119](https://doi.org/10.1146/annurev-ento-020117-043119).
96. Wu D, Zhang D, Timko M, Li M, Liang G. First Report of *Epicoccum nigrum* Causing Brown Leaf Spot of Loquat in Southwestern China. *Plant Disease* [internet]. 2017 [citado 10 nom 2018];101(8):1553-1553. Disponible en: [10.1094/pdis-12-16-1840-pdn](https://doi.org/10.1094/pdis-12-16-1840-pdn)
97. Vargas O. Los regímenes de estrés y disturbio en los páramos andinos. *Revista Colombia tiene Páramos*. 2011; 1(1):1-10.
98. Schulz B, Römmert A, Dammann U, Aust H, Strack D. The endophyte-host interaction: a balanced antagonism? [internet]. *Mycological Research*. 1999 [citado 10 nom 2018];103(10):1275-1283. Disponible en: [10.1017/s0953756299008540](https://doi.org/10.1017/s0953756299008540)
99. Elad Y, Pertot I. Climate Change Impacts on Plant Pathogens and Plant Diseases. *Journal of Crop Improvement* [internet]. 2014 [citado 10 nom 2018]; 28(1):99-139. Disponible en: [10.1080/15427528.2014.865412](https://doi.org/10.1080/15427528.2014.865412).
100. Chakraborty S. Climate change and plant diseases. *Plant Pathology* [internet]. 2011 [citado 10 nom 2018] ;60(1):1-1. Disponible en: [10.1111/j.1365-3059.2010.02415.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02415.x)
101. Murillo A, Munkvold G. Systemic Infection by *Fusarium verticillioides* in Maize Plants Grown Under Three Temperature Regimes. *Plant Disease* [internet]. 2008 [citado 10 nom 2018]; 92(12):1695-1700. Disponible en: [10.1094/phi-t-2001-0517-01](https://doi.org/10.1094/phi-t-2001-0517-01).
102. Belisario A, Maccaroni M, Corazza L, Balmas V, Valier A. Occurrence and Etiology of Brown Apical Necrosis on Persian (English) Walnut Fruit. *Plant Disease* [internet]. 2002 [citado 10 nom 2018]; 86(6):599-602. Disponible en: [10.1094/pdis.2002.86.6.599](https://doi.org/10.1094/pdis.2002.86.6.599).
103. Lamichhane J, Venturi V. Synergisms between microbial pathogens in plant disease complexes: a growing trend. *Frontiers in Plant Science* [internet]. 2015 [citado 10 nom 2018];;06. Disponible en: [10.3389/fpls.2015.00385](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00385).
104. Kurose D, Kanegae Y, Misawa T, Ebihara Y, Tanaka C, Watanabe T et al. Yellow spot of white lace flower caused by *Pleospora herbarum* in Japan. *Journal of General Plant Pathology* [internet]. 2015 [citado 10 nom 2018];81(2):169-172. Disponible en: [10.1007/s10327-015-0578-y](https://doi.org/10.1007/s10327-015-0578-y)
105. Yu J, Zhu J, Wang Y, Zhang C, Zhong J, Zhu H et al. Molecular characterization of a putative gammapartitivirus in the phytopathogenic fungus *Nigrospora oryzae*. *Archives of Virology* [internet]. 2018 [citado 10 nom 2018];163(4):1091-1095 Disponible en: [10.1007/s00705-017-3671-z](https://doi.org/10.1007/s00705-017-3671-z).

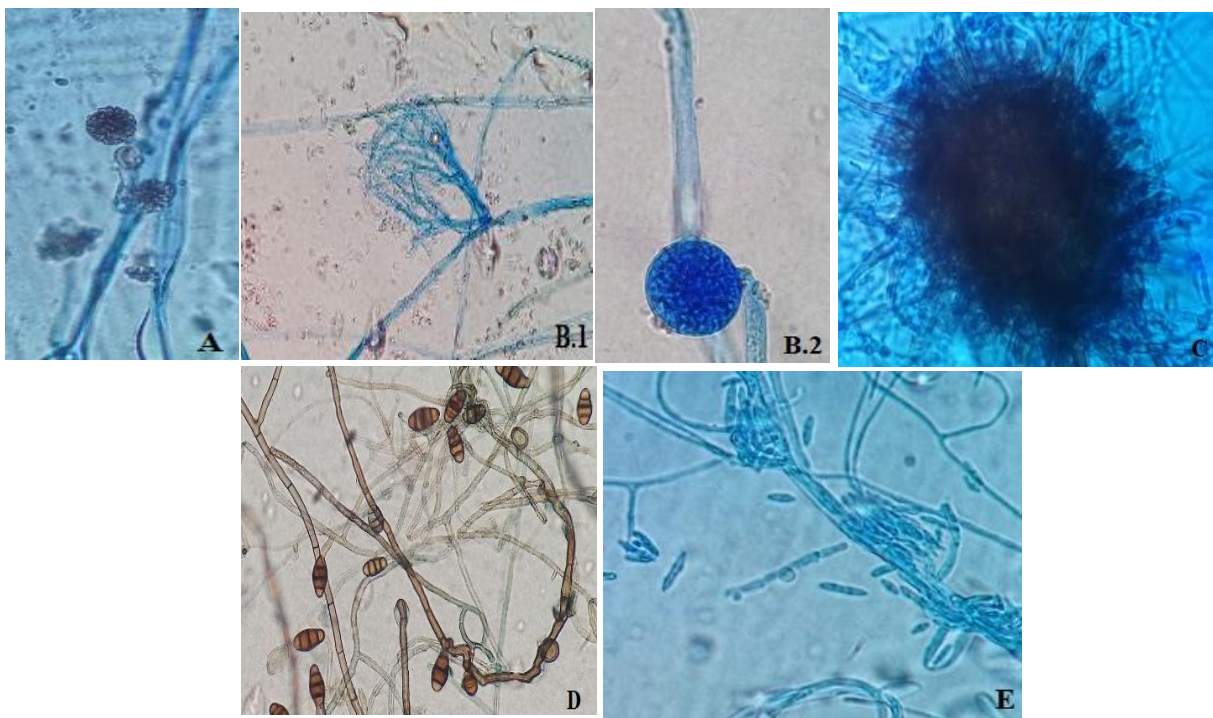
106. Bohlen-Janssen H, Racca P, Hau B, Wichura A. Modelling the effects of temperature and wetness on the polycyclic phase of *Stemphylium vesicarium*, the pathogen causing purple spot on asparagus (*Asparagus officinalis* L.). *Journal of Phytopathology*[internet]. 2018 [citado 10 nom 2018];166 (5):333-345. Disponible en: [10.1111/jph.12691](https://doi.org/10.1111/jph.12691).

107. Rogers J. Thoughts and musings on tropical Xylariaceae. *Mycological Research* [internet]. 2000 [citado 10 nom 2018];104(12):1412-1420. Disponible en: [10.1111/jph.12691](https://doi.org/10.1111/jph.12691)-

108. Crous P, Summerell B, Swart L, Denman S, Taylor J, Bezuidenhout C. Fungal pathogens of Proteaceae. [internet]. *Persoonia* 2011[citado 10 nom 2018]; 27(1):20-45. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3767/003158511X606239>.

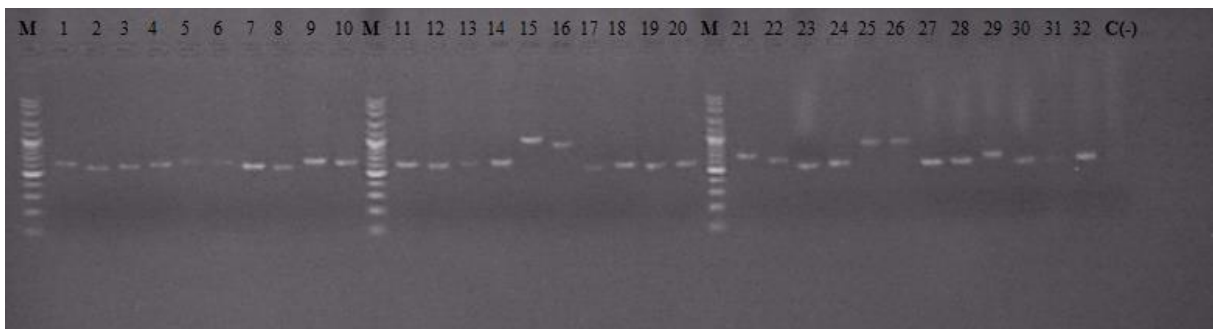
## Anexos

### A. Morfotipos fúngicos que presentaron estructuras reproductivas.



**Figura 1.** Microscopía de los hongos que produjeron alguna estructura reproductiva. (A) *Syncephalastrum* sp., (B.1-2) *Rhizopus* sp., (C) *Chaetomium* sp., (D) *Curvularia* sp., (E) *Fusarium* sp

### B. Identificación de hongos por biología molecular



**Figura 2.** Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de los productos de PCR obtenidos con los primer ITS4 y ITS5 que amplifican un fragmento del gen ribosomal 5.8S. (M) Marcador de peso molecular (Hypper Ladder IV)

C. Resultados de identidad en GenBank de secuencias ITS del ADNr de los hongos aislados partir de las afectaciones en frailejones (*Espeletia* spp.).

Código	Identidad GenBank	Identidad (%)
MVE221	MH284655 <i>Trichoderma viridescens</i>	99%
MVE332	KX710222 <i>Preussia africana</i>	99%
MVE332	MH003465 <i>Nigrospora</i> sp	99%
MVE173	MG548563 <i>Chaetomium</i> sp	99%
MVE173	KT212941 <i>Trichoderma samuelsii</i>	88%
MVE111	KM115164 <i>Aspergillus flavus</i>	90%
MVE871	KJ443673 <i>Fusarium avenaceum</i>	99%
MVE164	MG976431 <i>Epicoccum</i> sp	100%
MVE892	KF225036 <i>Syncephalastrum racemosum</i>	99%
MVE113	KX343107 <i>Trichoderma gamsii</i>	99%
MVE114	MH865723 <i>Penicillium glabrum</i>	99%
MVE164	FJ430768 <i>Penicillium charlesii</i>	97%
MVE181	KF624802 <i>Pencillium cairnsense</i>	97%
MVE164	KP211550 <i>Trichoderma gamsii</i>	99%
MVE164	MH857812 <i>Spegazzinia lobulata</i>	90%
MVE114	MF167576 <i>Annulohyphoxylon stygium</i>	99%
MVE164	LC363504 <i>Fusarium subglutinans</i>	99%
MVE332	KP334720 <i>Pleospora herbarum</i>	98%
MVE332	MF882928 <i>Fusarium verticillioides</i>	99%
MVE332	FJ971843 <i>Curvularia</i> sp	98%
MVE332	MH864750 <i>Pyrenophora dematioidea</i>	100%
MVE872	KY951907 <i>Xylaria feejeensis</i>	99%
MVE872	MG602568 <i>Epicoccum nigrum</i>	99%
MVE713	KM063229 <i>Rhizopus stolonifer</i>	98%
MVE332	JN974016 <i>Rhizopus stolonifer</i>	100%
MVE111	JX241668 <i>Rhizopus stolonifer</i>	100%
MVE872	KX074010 <i>Epicoccum nigrum</i>	98%
MVE114	KC292905 <i>Aporospora terricola</i>	99%
MVE332	JQ912672 <i>Mucor hiemalis</i>	99%
MVE712	KX926426 <i>Epicoccum</i> sp	99%
MVE712	MH879836 <i>Stemphylium vesicarium</i>	99%
MVE712	MG602593 <i>Fusarium equiseti</i>	98%