

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“MORFOLOGÍA Y PATOGENICIDAD DE *Colletotrichum* spp. CAUSANTE DE ANTRACNOSIS EN EL CULTIVO DE CAFÉ EN LA FINCA SAN PEDRO, SANTA ANA, EL SALVADOR”.

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

**YANCI BEATRÍZ ANGEL CERÓN.**

PARA OPTAR AL GRADO DE:

**LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

CIUDAD UNIVERSITARIA SAN SALVADOR, OCTUBRE 2018

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“MORFOLOGÍA Y PATOGENICIDAD DE *Colletotrichum* spp. CAUSANTE DE ANTRACNOSIS EN EL CULTIVO DE CAFÉ EN LA FINCA SAN PEDRO, SANTA ANA, EL SALVADOR”.

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

**YANCI BEATRÍZ ANGEL CERÓN.**

PARA OPTAR AL GRADO DE:

**LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

DOCENTE ASESOR

LIC. CARLOS ALBERTO ELÍAS ORTIZ

CIUDAD UNIVERSITARIA SAN SALVADOR OCTUBRE 2018

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“MORFOLOGÍA Y PATOGENICIDAD DE *Colletotrichum* spp. CAUSANTE DE ANTRACNOSIS EN EL CULTIVO DE CAFÉ EN LA FINCA SAN PEDRO, SANTA ANA, EL SALVADOR”.

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:  
**YANCI BEATRÍZ ANGEL CERÓN.**

PARA OPTAR AL GRADO DE:  
**LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

TRIBUNAL CALIFICADOR:

LIC. CARLOS ALBERTO ELÍAS ORTIZ

M.Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA

ING. AGR. M.Sc. ANDRÉS WILFREDO RIVAS

CIUDAD UNIVERSITARIA SAN SALVADOR, OCTUBRE 2018

**AUTORIDADES UNIVERSITARIAS**

**RECTOR**

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS

**VICERRECTOR ACADÉMICO**

DR. MANUEL DE JESÚS JOYA

**VICERRECTOR ADMINISTRATIVO**

ING. NELSON BERNABÉ GRANADOS

**SECRETARIO GENERAL**

MAESTRO CRISTOBAL RÍOS

**FISCAL**

LIC. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARÍN

**FACULTAD CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**

**DECANO**

LIC. MAURICIO HERNÁN LOVO

**VICE DECANO**

LIC. CARLOS ANTONIO QUINTANILLA APARICIO

**DIRECTORA ESCUELA DE BIOLOGÍA**

M.Sc. ANA MARTHA ZETINO

CIUDAD UNIVERSITARIA SAN SALVADOR, OCTUBRE 2018

## DEDICATORIA

**A Dios**, por darme la vida, contar con su presencia y amor en cada momento, por la bendición de permitir culminar esta meta porque sin él todos nuestros impulsos serían en vano. Gracias Dios por guiarme por el buen camino, ayudarme en los momentos más difíciles de mi vida, darme una familia y amistades tan lindas.

Con mucho amor a mi padre **Víctor Angel Cortéz**, a mi madre **Teresa de Jesús Cerón**, por el apoyo incondicional que con mucho esfuerzo supieron brindarme durante el periodo de mis estudios.

A mis hermanos/as: **Cony Marleny, Evelin Yamileth, Edgar Remberto, Ingrid Aracely y Víctor Alexander Angel Cerón**, por todo su apoyo, cariño y confianza.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi Dios, por acompañarme en cada etapa de mi vida, haber derramado su gracia y amor sobre mí, por darme la sabiduría, inteligencia y conocimiento durante mi formación profesional.

A mis padres, Víctor Angel Cortéz y Teresa de Jesús Cerón, por el apoyo incondicional, creer en mí y brindarme la oportunidad de estudiar.

A mis hermanos/as, por su apoyo en todo momento y palabras que me daban fuerzas para seguir adelante.

A mi asesor Lic. Carlos Alberto Elías, por compartir sus conocimientos, paciencia, dedicación y consejos que sin duda han sido de mucho provecho en la culminación de este trabajo.

A la escuela de Biología, por formarme como profesional y abrirme las puertas para lograr este sueño.

Al jurado evaluador, M.Sc. Zoila Virginia Guerrero y al Ing. Agr. M.Sc. Andrés Wilfredo Rivas, por su interés, orientación y valiosa revisión en esta investigación.

A la empresa Comercial exportadora (COEX), por permitirme utilizar las instalaciones del laboratorio Control Biológico y poner a mi disposición: equipo, materiales y transporte para ejecutar la investigación.

A la Licda. Karla Romero, por brindarme su confianza, compartir sus conocimientos, la oportunidad de trabajar junto a ella y por motivarme a querer conocer más sobre el cultivo del café.

A la Ing. Gabriela Geraldina Mazariego Henríquez, del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal “Enrique Álvarez Córdova” (CENTA), por compartir sus conocimientos y revisión en esta investigación.

A la Ing. Reina Flor Guzmán de Serrano, del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal “Enrique Álvarez Córdova” (CENTA), por su apoyo y valiosas observaciones en esta investigación.

A mis amigos/as, por sus palabras de ánimo y bella amistad, por haber compartido con ustedes momentos inolvidables, nunca olvidare la experiencia de haberlos conocido.

## CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS .....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xii
I. RESUMEN .....	1
2. INTRODUCCIÓN .....	2
3. OBJETIVOS .....	3
3.1 Objetivo General. ....	3
3.2 Objetivos Específicos. ....	3
4. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	4
4.1 Antecedentes .....	4
4.2 Clasificación taxonómica del café .....	7
4.3 Morfología del café <i>Coffea arabica</i> L. ....	8
4.4 Variedades de café cultivadas en El Salvador. ....	9
4.5 Enfermedades comunes del café.....	9
4.6 Generalidades de <i>Colletotrichum</i> spp. ....	10
4.7 Taxonomía de <i>Colletotrichum</i> spp. asociado al cultivo de café.....	10
4.8 Métodos de identificación de <i>Colletotrichum</i> sp. ....	12
4.9 Morfología general de <i>Colletotrichum</i> spp.....	12
4.10 Antracnosis en café por <i>Colletotrichum</i> spp. ....	13
4.11 Condiciones ambientales para el desarrollo de especies de <i>Colletotrichum</i> spp. ....	14
4.12 Epidemiología .....	15
4.13 Mecanismos de infección de <i>Colletotrichum</i> spp. ....	15
4.13.1 Germinación y formación del apresorio. ....	15
4.13.2 Estrategias de penetración. ....	16
4.13.3 Infección y colonización de los tejidos vegetales.....	17
4.14 Sintomatología de antracnosis en café. ....	18
4.15 Control preventivo. ....	19
4.15.1 Productos de contacto .....	20
4.15.2 Productos Sistémicos. ....	20
5. METODOLOGÍA.....	21

5.1 Ubicación geográfica del área de estudio. ....	21
5.2 Fase de campo. ....	23
5.2.1 Recolección del material enfermo de plantas de café.....	23
5.3 Fase de laboratorio. ....	25
5.3.1 Aislamiento de <i>Colletotrichum</i> spp., a partir de las muestras recolectadas de plantas de café. ....	25
5.3.2 Purificación del hongo <i>Colletotrichum</i> sp. ....	27
5.4. Identificación del género <i>Colletotrichum</i> . ....	27
5.5 Caracterización morfológica y crecimiento micelial de las cepas de <i>Colletotrichum</i> . ....	27
a) Morfología macroscópica.....	28
b) Morfología microscópica. ....	29
5.6 Prueba de patogenicidad a partir de la cepa purificada de <i>Colletotrichum</i> , aislada del tejido de hoja.....	30
5.6.1 Preparación del inóculo utilizando la cepa de <i>Colletotrichum</i> aislada del tejido de hoja. ....	31
5.6.2 Recuento de conidios en cámara de Neubauer. ....	32
5.6.3 Inoculación de esporas de la cepa aislada de hoja, en plantas sanas de café.....	33
5.6.4 Reaislamiento del hongo patógeno.....	35
6. PROCESAMIENTO DE DATOS.....	36
6.1 Crecimiento del micelio en mm. ....	36
6.2 Prueba de patogenicidad. ....	36
6.2.1 Periodo de incubación (PI).....	36
6.2.2 Incidencia.....	36
6.2.3 Sintomatología. ....	36
7. RESULTADOS.....	37
7.1 Aislamiento e identificación del hongo <i>Colletotrichum</i> a partir de las muestras recolectadas de plantas de café. ....	37
7.2 Caracterización morfológica de las especies de <i>Colletotrichum</i> . ....	37
7.2.1 Crecimiento micelial en mm de las especies de <i>Colletotrichum</i> .....	39
7.3 Patogenicidad a partir de la cepa purificada de <i>C. gloeosporioides</i> .....	44

7.3.1 Periodo de incubación .....	44
7.3.2 Incidencia.....	44
7.3.3 Sintomatología causada por <i>C. gloeosporioides</i> .....	45
8. DISCUSIÓN .....	48
9. CONCLUSIONES.....	54
10. RECOMENDACIONES .....	56
11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	57
ANEXOS	
GLOSARIO	

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Coordenadas geográficas de Finca San Pedro y Laboratorio COEX, Santa Ana, 2017. ....	21
Cuadro 2. Ensayo para la prueba de patogenicidad a partir de la suspensión de esporas de la cepa de <i>Colletotrichum</i> , aislada de tejidos de hojas. .	34
Cuadro 3. Periodo de inoculación de esporas de <i>Colletotrichum</i> (hoja) en el ensayo de patogenicidad. ....	34
Cuadro 4. Morfología macroscópica de <i>C. gloeosporioides</i> y <i>C. theobromicola</i> . ....	37
Cuadro 5. Crecimiento radial promedio (mm) de <i>C. gloeosporioides</i> aislado de hoja y <i>C. theobromicola</i> aislado de rama en medio de cultivo PDA. .	39
Cuadro 6. Morfología microscópica de <i>C. gloeosporioides</i> y <i>C. theobromicola</i> . .	40
Cuadro 7 . Porcentaje de incidencia en plantas de café <i>C. arabica</i> , inoculadas con <i>C. gloeosporioides</i> , en condiciones de invernadero, Santa Ana. ....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Acérvulo de <i>Colletotrichum</i> . .....	13
Figura 2.	Ciclo de la enfermedad de la antracnosis en el cultivo de café, <i>C. arabica</i> . .....	16
Figura 3.	Ubicación geográfica de los sitios de estudio, laboratorio COEX y Finca San Pedro, en el municipio de Santa Ana, Departamento de Santa Ana.....	21
Figura 4.	Ubicación Geográfica del Laboratorio de Control Biológico (COEX). Municipio de Santa Ana, Santa Ana.....	23
Figura 5.	Esquema de los estratos de la planta de café, <i>C. arabica</i> . .....	24
Figura 6.	Forma de recolección del material enfermo. En cada planta, alternar entre el estrato bajo y alto entre planta y planta.....	24
Figura 7.	Procedimiento del aislamiento de <i>Colletotrichum</i> spp., a partir de muestras recolectadas de plantas de café. ....	26
Figura 8.	A) crecimiento radial de la colonia, B) fondo de la placa con las marcas realizadas para observaciones de crecimiento: a, b, c y d son los radios de medición. ....	28
Figura 9.	Lámina de calibración con 5 puntos para medidas en $\mu\text{m}$ . ....	29
Figura 10.	Microscopio óptico con cámara digital Moticam 10. ....	29
Figura 11.	Realización de medición de conidias .....	29
Figura 12.	Estructura construida para realizar la prueba de patogenicidad. ....	30
Figura 13.	Bloque de plantas de café para el ensayo de la prueba de patogenicidad.....	31
Figura 14.	Preparación del inóculo para el ensayo de patogenicidad. ....	32
Figura 15.	Cámara de Neubauer.....	32

Figura 16. Conteo de esporas a través del microscopio óptico. ....	32
Figura 17. Inoculación de <i>Colletotrichum</i> en plantas sanas de café ( <i>C. arabica</i> ).35	
Figura 18. Plantas cubiertas con bolsas, para aumentar la humedad relativa al interior de la cámara.....	35
Figura 19. Morfología macroscópica de las especies de <i>Colletotrichum</i> en PDA. <i>C. gloeosporioides</i> (a) parte frontal y (b) parte dorsal (envés), <i>C. gloeosporioides</i> REAISLADO (c y d) y <i>C. theobromicola</i> (e) parte frontal y (f) parte dorsal (envés). ....	38
Figura 20. Crecimiento radial en mm de <i>C. gloeosporioides</i> y <i>C. theobromicola</i> durante 8 días en medio PDA. ....	39
Figura 21. Morfología microscópica de <i>C. gloeosporioides</i> . A) Hifas, B) Acérvulo (Ac), C) espinas o setas (St), D) conidióforos, E) Conidias cilíndricas y F) Apresorio.....	41
Figura 22. Morfología microscópica de <i>C. theobromicola</i> . A) Acérvulo, B) células conidiales; conidióforos (Co), C) clamidosporas, D) Conidias forma cilíndrica y algunas con un extremo redondo y el otro punteado, E) Masas de esporas, F) Masa de esporas extirpada.....	42
Figura 23. Medidas del largo y ancho ( $\mu\text{m}$ ) de conidias de <i>C. gloeosporioides</i> , aislada de hoja, con un microscopio Motic óptico con cámara incorporada; imagen captada con el programa Image Plus 2.0. Vista a 40 X.....	43
Figura 24. Medidas del largo y ancho ( $\mu\text{m}$ ) de conidias de <i>C. theobromicola</i> , aislada de rama de café, con un microscopio Motic óptico con cámara incorporada; imagen captada con el programa Image Plus 2.0. Vista a 40 X.....	43
Figura 25. Porcentaje de incidencia de plantas que presentaron síntomas de antracnosis.....	44
Figura 26. Sintomatología de <i>C. gloeosporioides</i> en plantas de <i>C. arabica</i> de 7 meses de edad. A) en el ápice, B) en el borde, C) y D) en el centro de la hoja, E) borde amarillo a café rojizo que separa el tejido sano del	

enfermo, F y G) Acérvulos en el haz y envés de la hoja, H) Hoja deshidratada con aspecto papeloso seco o tostado..... 46

Figura 27. Sintomatología de *C. gloeosporioides*, en nudos y entrenudos de plantas de *C. arabica*. ..... 47

## I. RESUMEN

La presente investigación se realizó entre los meses de agosto del 2016 a marzo del 2017 en la Finca San Pedro y en las instalaciones del Laboratorio de Control Biológico del Departamento Agrícola de Comercial Exportadora (COEX), en el departamento de Santa Ana.

Se caracterizó la morfología y patogenicidad de dos cepas del género *Colletotrichum* causante de antracnosis en el cultivo del café (*Coffea arabica*), desarrollándola en tres fases: la fase inicial, consistió en la recolección, aislamiento y purificación de una cepa obtenida de tejidos enfermos de hojas y una cepa de tejidos de ramas. Posteriormente la segunda fase se inició con la caracterización morfológica de ambas cepas donde se describen las características macroscópicas y microscópicas. En la última fase se realizó un ensayo para evaluar la patogenicidad de la cepa aislada de tejidos de hojas, este consistió en inocular el área foliar de 30 plantas sanas de café de siete meses de edad de la variedad Bourbon. La duración del ensayo de patogenicidad fue de 45 días, donde se registraron los datos de periodo de incubación, incidencia y sintomatología.

Las cepas obtenidas de *Colletotrichum* fueron analizadas mediante análisis molecular ITS, confirmado que la cepa aislada de tejidos de hojas corresponde a la especie *Colletotrichum gloeosporioides* y la aislada de tejidos de ramas a *Colletotrichum theobromicola*.

La caracterización macroscópica y microscopia de *C. gloeosporioides* y *C. theobromicola*, detallan que las colonias presentan variabilidad morfológica, siendo evidente en el color del frente y revés de las colonias, setas y tamaño de conidias. Asimismo se comprobó que la cepa de *C. gloeosporioides* inoculada sobre hojas es patogénica, mostrando a través de los postulados de Koch, los síntomas y signos característicos de la enfermedad de antracnosis en hojas, nudos y entrenudos de las plantas de café.

## 2. INTRODUCCIÓN

En el Salvador el parque cafetalero tiene una gran importancia ecológica e hidrológica, además proporciona bienes ambientales como: fuente de energía, captura de carbono y conservación de la biodiversidad de la flora y fauna; y a pesar de las diferentes problemáticas que ha enfrentado continúa siendo de vital valor ya que representa un aporte al Producto Interno Bruto del país (CSC 2013).

Existen diversas enfermedades que afectan la producción del cultivo de café, entre ellas se encuentra la antracnosis, producida por un hongo oportunista del género *Colletotrichum* spp, considerada la segunda enfermedad de gran importancia para el cultivo debido a que en los últimos años a causado grandes pérdidas a la producción (Gutiérrez *et al.* 2003, PROCAFE 2014). Debido a las características, mecanismos de infección y adaptación del medio en que se encuentra, los síntomas que ocasionan son muy variables, en muchos casos suelen ser confundidos con síntomas causados por otros factores o por otras enfermedades (Gutiérrez *et al.* 2003).

El género *Colletotrichum* es considerado uno de los hongos patógenos de plantas de mayor distribución a escala mundial por tener un amplio rango de hospederos para sobrevivir y pueden ser parásitos o saprófitos Martínez & Zambrano (1992), tienen una gran variación morfológica y patogénica, es por ello que es bastante difícil establecer un diagnóstico específico para el manejo y control de la enfermedad (Gutiérrez *et al.* 2003).

La importancia económica de la enfermedad y la escasa disponibilidad de información local sobre la caracterización morfológica y patogenicidad de las especies del género *Colletotrichum*, hace que este estudio represente una alternativa de solución, ya que al determinar las especies y la sintomatología de la enfermedad, permitirá realizar un diagnóstico fitopatológico oportuno. Por lo que la investigación se realizó con el objetivo de caracterizar la morfológica y patogenicidad de dicho hongo, teniendo en cuenta que este conocimiento es fundamental para el desarrollo e implementación de estrategias efectivas para el tratamiento, control y manejo integrado de la enfermedad.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General.

- Caracterizar la morfología y patogenicidad de *Colletotrichum* spp. causante de antracnosis en el cultivo de café en la Finca San Pedro, Santa Ana, El Salvador.

#### 3.2 Objetivos Específicos.

- Detallar la caracterización morfológica de *Colletotrichum* spp. causante de antracnosis en el cultivo de café en la Finca San Pedro, Santa Ana, El Salvador.
- Describir la sintomatología causada por *Colletotrichum* spp. en plantas de café de la variedad Bourbon.
- Establecer la patogenicidad de *Colletotrichum* spp. en plantas de café de la variedad Bourbon.
- Identificar las especies de *Colletotrichum* presentes en el cultivo de café en la finca San Pedro, Santa Ana, El Salvador.

## 4. FUNDAMENTO TEÓRICO.

### 4.1 Antecedentes

Martínez & Zambrano (1992), realizaron un estudio sobre Variantes Morfológicas de cepas del género *Colletotrichum*, asociadas al cultivo del café, en diferentes pisos altitudinales en Venezuela, donde estudiaron características culturales del género. Las muestras de tejidos infectados fueron recolectados en diferentes altitudes, registrando que *Colletotrichum* se encuentra diseminado con mayor incidencia en altitudes superiores a los 1200 msnm y asociados al café en forma saprófita o parásita, las colonias presentaron diferentes variantes morfológicas cuyas características culturales coinciden con las especies *C. gloeosporioides* y *Glomerella cingulata*.

Waller *et al.* (1993), realizaron la investigación titulada: “Caracterización del patógeno de la enfermedad del fruto del café, *Colletotrichum kahawae*”. donde compararon muchos aislamientos de *Colletotrichum*, incluido el patógeno de la enfermedad del CBD o del fruto y cepas de *C. gloeosporioides* de otros cultivos tropicales, finalmente reportan que los aislamientos comparados tienen características morfológicas, bioquímicas y patogénicas comunes. Además los investigadores mencionan que se discute la posición taxonómica para cepas de *Colletotrichum* aisladas de frutos, actualmente se introduce el nuevo nombre de *C. kahawae* para estos. Los mismos autores mencionan que al menos 3 distintas especies de *Colletotrichum* se asocian comúnmente con las plantas de café, las cuales son *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *C. kahawae*.

En El Salvador, los estudios sobre antracnosis en café son prácticamente escasos. Para el año 1997 solamente se disponía de un boletín técnico titulado: Manejo integrado de la antracnosis del cafeto causada por el hongo *Colletotrichum* sp. elaborado por PROCAFE, donde se describe y proponen las técnicas para el manejo integrado para el combate de la enfermedad.

Orozco (2003), realizó la investigación titulada: Caracterización morfológica, molecular, bioquímica y patógena de aislados de *Colletotrichum* spp. asociados al

café, comparado con *Colletotrichum kahawae*. Dicha investigación registra aspectos físicos de las colonias como: crecimiento micelial, dimensiones de conidios, variación entre valores de pH; con base a las características registra que los aislados de *Colletotrichum* pertenecen a las especies *C. acutatum* y los reaislados a *C. gloeosporioides*. En cuanto a la patogenicidad de las cepas sobre frutos verdes de café con algunos aislados de CBD (Coffee Berry Disease), registra que el porcentaje de frutos necrosados y tiempo de aparición de síntomas son variables de acuerdo con los aislados y cultivares.

Paresqui (2003), en su estudio sobre Patogenicidad de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. en café (*C. arabica* L.), realizó pruebas de patogenicidad, utilizando tres aislados de *Colletotrichum*, los cuales fueron inoculados en plantas con y sin lesión, de tres meses de edad. Registrando finalmente que las plantas inoculadas no manifestaron síntomas, sin embargo al realizar el proceso de reaislamiento, comprueba que el organismo penetró en los tejidos, al obtener nuevamente al patógeno. A partir de estos resultados, concluye que *C. gloeosporioides* puede permanecer latente y que presenta relación endofítica en los tejidos de café.

Oliva (2009), en Guatemala, realizó su trabajo de grado titulado, Caracterización Morfológica, Patogénica y Bioquímica de aislamientos de *Colletotrichum* spp. asociados al cultivo de café (*C. arabica*), la investigación establece una variabilidad morfológica en los aislamientos de *Colletotrichum* y registra a la especie *C. gloeosporioides*. La prueba de patogenicidad de *C. gloeosporioides* sobre las variedades de café Caturra, Catuaí, Pache colís y Catimor, confirma que el hongo es patogénico en frutos verdes y no en hipocotilos de café. Además el autor determina que la prueba bioquímica de ácido cítrico y tartrato de amonio es efectiva para determinar la especie *C. gloeosporioides*.

Weir *et al.* (2012), hasta la fecha reportan 16 especies de *Colletotrichum* que afectan los cultivos de café, las cuales son *C. acutatum*, *C. boninense*, *C. capsici*, *C. gloeosporioides*, *C. karstii*, *C. walleri*, *C. asianum*, *C. fructicola*, *C. siamense*, *C. cuscatae*, *C. theobromicola* (sinónimo de *C. fragariae*), *C. gigasporum*, *C.*

*costarricense*, *C. queenslandicum*, *C. kahawae*, sub sp. *kahawae*.

Freitas *et al.* (2013), estudiaron a *Colletotrichum boninense* causando antracnosis en cafetales, en Brasil. Con el fin de confirmar a *C. boninense*, los investigadores, secuenciaron la región de ARNr del espaciador transcrito interno (ITS) y el gen de gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) y las compararon con secuencias de una base de datos de *C. boninense*, confirmando definitivamente *C. boninense sensulato*.

Para verificar la patogenicidad de *C. boninense* y un aislado representativo de *C. gloeosporioides*, inocularon hojas y frutos de plantas de café. En los resultados *C. gloeosporioides* causó síntomas muy graves en menos tiempo en comparación con *C. boninense*, ambos hongos causaron necrosis en hojas jóvenes, pero no en hojas maduras, presentando acérvulos en las lesiones producidas por el hongo, finalmente el hongo se recuperó de los tejidos inoculados, cumpliendo los postulados de Koch. Dado que los síntomas de *C. boninense* fueron similares a los causados por *C. gloeosporioides*, se concluye que ambas especies están asociadas a la enfermedad en plantaciones comerciales de café en Brasil.

El último diagnóstico sobre La Caficultura en El Salvador, realizado por PROCAFE (2014), menciona que la producción 2013/2014 fue la más baja debido a los ataques severos del hongo *Hemileia vastatrix*, agente causal de la roya y como una segunda enfermedad fungosa la incidencia de antracnosis causada por *Colletotrichum* sp. Además, reportó que la antracnosis es causada por hongos parásitos oportunistas del género *Colletotrichum*, para esa fecha la enfermedad había afectado el 32.9 % de las áreas cafetaleras que fueron atacadas por la roya.

Cristóbal *et al.* (2016), investigaron la diversidad de especies de *Colletotrichum* en plantaciones de café, en México, reportando oficialmente a cinco especies de *Colletotrichum* asociadas con síntomas de antracnosis foliar en café. Las especies reportadas fueron: *C. gigasporum*, *C. gloeosporioides*, *C. karstii*, *C. siamense* y *C. theobromicola*. La especie causante de la antracnosis del fruto del café no fue reportada. Esta investigación fue el primer informe de un complejo de

especies que afectan a las plantas de café en la misma área geográfica en México.

Mazariego (2017), en su investigación sobre aislamiento y patogenicidad de poblaciones de *Colletotrichum* spp. causante de antracnosis en El Salvador, aisló cuatro cepas diferentes de *Colletotrichum* clasificadas por el tejido de procedencia, registró características morfológicas y evaluó la patogenicidad de las cepas comprobando los postulados de Koch sobre plantas de café en las variedades Catisic, Cuscatleco, Catimor, Lempira y Borbón.

En sus hallazgos reporta que al menos 3 cepas poseen diferencias morfológicas entre sí. Además determinó que los períodos de incubación de las cepas fueron de 3 y 4 días y los periodos de latencia de 7 y 8 días. También obtuvo resultados de la sintomatología de antracnosis en hojas y ramas; en hojas la sintomatología se presentó como manchas hundidas cloróticas que se tornan necróticas y de color café rojizo a medida avanza la enfermedad y en las ramas se presentan manchas cloróticas que se vuelven necróticas, causando muerte descendente de tallos y en los entrenudos de las plantas.

#### **4.2 Clasificación taxonómica del café**

La base de datos en línea de la flora de Nicaragua (2017) establece la siguiente clasificación taxonómica para el café.

Clase: Equisetopsida

Subclase: Magnoliidae

Súperorden: Asteranae

Orden: Gentianales

Familia: Rubiaceae

Género: *Coffea*

Especie: *arabica* L.

### 4.3 Morfología del café *Coffea arabica* L.

Las plantas de café son arbustos glabrescentes que llegan a medir hasta 8 m de alto, según la Flora de Nicaragua (2017).

- **Hojas:** poseen hojas opuestas, elíptico-oblongas de 8 a 15 cm de largo y 2.5 a 10 cm de ancho, ápice acuminado, base aguda a acuminada, son brillantes en el haz, con 7 a 10 pares de nervios secundarios; pecíolos de 6 a 5 mm de longitud; y estípulas de 3 a 12 mm de largo (Flora de Nicaragua 2017).
- **Ramas:** comprenden el eje vertical o rama ortotrópica, esta produce yemas vegetativas que originan ejes laterales o plagiotrópicos, llamadas “bandolas” que son las ramas primarias, luego estas dan origen a ramas secundarias, a la vez pueden salir ramillas terciarias en diversos ángulos, dando una forma cónica a la planta (ANACAFE 2006).
- **Inflorescencias:** miden hasta los 2 m de largo, poseen flores subsésiles, con bractéolas; limbo calicino de 0.5 a 1 mm de largo; tubo corolino 5 a 11 mm de largo y lobos 5, 9–20 mm de largo (Flora de Nicaragua 2017).
- **Flores:** en glomérulos o fascículos axilares y sésiles, bracteadas; limbo calicino 5–8 lobado o reducido; corola hipocrateriforme de color blanca a rosada, lobos 5–8, convolutos; ovario 2-locular, óvulo 1 por lóculo (Flora de Nicaragua 2017).
- **Frutos:** es una drupa polisperma, es carnosos, de color verde cuando es inmaduro, pero al madurar es rojo o púrpura, raramente amarillo. Es llamado cereza de café, tiene forma ovalada o elipsoidal ligeramente aplanada. Las partes del fruto del interior al exterior son: el embrión, endospermo, endocarpio, mesocarpio y epicarpio (Ramos *et al.* 2010). La Flora de Nicaragua (2017), reporta que es un fruto drupáceo, elipsoide, carnosos, de color rojo; pirenos 2, plano-convexos, 1-loculares. Miden de 10 a 16 mm de largo y 8 a 13 mm de ancho.
- **Semillas:** esta consta de dos núcleos, cada uno de ellos con un grano de café con forma plana-convexa, el grano está encerrado en un casco semirrígido transparente de aspecto apergaminado, que corresponde a la pared del núcleo. Una vez retirado el grano de café verde se observa rodeado de una piel

plateada adherida, que corresponde al tegumento de la semilla (Ramos *et al.* 2010).

*C. arabica* es una planta nativa de Etiopía, cultivada en las zonas húmedas tropicales, comúnmente es llamada “café”. Las semillas de la *C. arabica* son producidas preferiblemente para el comercio (Flora de Nicaragua 2017).

#### **4.4 Variedades de café cultivadas en El Salvador.**

PROCAFE (2014), establece que en El Salvador la especie de café cultivada es *C. arabica* y las principales variedades son:

- El Bourbon, que comprende el 52.2 % del área total de café cultivada.
- Pacas, representa el 33.4% (variedad salvadoreña proveniente de una mutación natural del Bourbon).
- Variedad Cuscatleco, con una representación de 7.0% (híbrido salvadoreño resultante del cruce entre Pacas y Maragogipe, con excelentes propiedades de taza).
- Variedades en menor cuantía como Caticic 2.0%, Catuai 1.5%, cartimor y otros.

#### **4.5 Enfermedades comunes del café.**

Actualmente en El Salvador, el parque cafetalero está siendo afectado por muchas enfermedades producidas por hongos y plagas, afectando a las plantas en diferentes fases del desarrollo, en algunos casos los fuertes ataques de las enfermedades provocan la muerte de raíces, ramas, hojas, flores y frutos del café (PROCAFE 2014). Los hongos son los organismos que más afectan a este cultivo por las pérdidas económicas que genera (Guerra 2004).

PROCAFE (2014), reporta que entre las enfermedades fungosas más comunes en el parque cafetalero destacan las siguientes:

- Roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*), afectando el 88.1% del área cultivada con variedades susceptibles.

- Antracnosis (*Colletotrichum* sp), como la segunda enfermedad más frecuente en los cafetales presentándose cuando hay ataques de roya. Para esa fecha afecto al 32.9% del área cafetalera.

Otras enfermedades reportadas para los cafetales en El Salvador son: el derrite (*Phyllosticta* sp), mancha de hierro o cercospora (*Cercospora coffeicola*), ojo de gallo (*Mycena citricolor*), rosellinia o podredumbre negra de la raíz (*Rosellinia* sp) y otras que generan menor daño.

#### **4.6 Generalidades de *Colletotrichum* spp.**

*Colletotrichum* spp. es un hongo oportunista, debido a que aprovecha cualquier fuente de entrada para penetrar, se establece en cafetales con deficiencia nutricional, suelos pobres en materia orgánica, falta de agua, herbicidas, plagas y enfermedades que facilitan la entrada del hongo (Gutiérrez *et al.* 2003, Mendoza *et al.* 2008).

Las especies de este género son consideradas como las más exitosas dentro de los hongos patógenos de plantas, se pueden encontrar en zonas templadas y tropicales, afectando gran parte de tejidos en los órganos de las plantas. Su capacidad para causar infecciones latentes o quiescente los ubican dentro de los patógenos más importantes (Jeffries *et al.* 1990).

#### **4.7 Taxonomía de *Colletotrichum* spp. asociado al cultivo de café.**

Noack (1902) citado por Oliva (2009), mencionan que la taxonomía de *Colletotrichum* asociada al cultivo de café es muy indeterminada. Desde las primeras investigaciones en Brasil, el hongo fue clasificado por Noack como *Colletotrichum coffeanum*, esta designación fue utilizada por más de 70 años, para todos los aislamientos de este género asociados al café.

Agrios (2005) determina la siguiente clasificación taxonómica para *Colletotrichum*.

Dominio: Eukaryota  
Reino: Fungi  
Phylum: Ascomycota  
Clase: Filamentous Ascomycetes (III), Deuteromycetes u Hongos

Monosporicos.

Género: *Colletotrichum* (Estado anamorfo)  
*Glomerella* (Estado Teleomorfo)

Según National Center for Biotechnology Information (NCBI) 2017, establecen la siguiente clasificación taxonómica de acuerdo a la Caracterización Molecular por Espaciadores de Transcripción Internos (ITS por sus siglas en inglés).

Dominio: Eukaryota  
Reino: Fungi  
Phylum: Ascomycota  
Subphylum: Pezizomycotina  
Clase: Sordariomycetes  
Subclase: Hipocreomycetidae  
Orden: Phyllachorales  
Familia: Phyllachoraceae  
Subfamilia: Phyllachoraceae mitospóricos  
Género: *Glomerella* (Estado Teleomorfo)  
*Colletotrichum* (Estado anamorfo)

Uno de los problemas con la taxonomía de *Colletotrichum* spp, se debe a que produce conidias secundarias provenientes de las colonias de germinación inicial. Estas esporas secundarias generalmente son variables en tamaño y dificultan la identificación, por lo tanto los criterios morfotaxonómicos no son precisos (Freeman & Katan 1997).

*Colletotrichum gloeosporioides* es un clado (agrupación de organismos que tiene una herencia de un ancestro común) diverso en términos de morfología e incluye un número importante de patógenos en plantas (Rojas *et al.* 2010). Este clado encierra a 22 especies diferentes, dentro de los cuales se incluyen *C. asianum*, *C. cordylinicola*, *C. fructicola*, *C. gloeosporioides*, *C. horii*, *C. subsp kahawae*, *kahawae*, *C. musae*, *C. nupharicola*, *C. psidii*, *C. siamense*, *C. theobromicola*, *C. tropicale*, *C. xanthorrhoeae*, *C. aenigma*, *C. aeschynomenes*, *C. alatae*, *C. alienum*, *C. aotearoa*, *C. clidemiae*, subespecie *C. kahawae. ciggaro*, *C. salsolae* y *C. queenslandicum*. Todos los taxones se definen genéticamente sobre la base de filogenias multi-gen (Weir *et al.* 2012).

#### **4.8 Métodos de identificación de *Colletotrichum* sp.**

Los métodos tradicionales para diferenciar especies de *Colletotrichum* se han basado principalmente en la morfología, analizando características tales como tamaño y forma de las conidias, color de la colonia, presencia o ausencia de setas y el estado sexual o telemorfo del hongo. Sin embargo, estos criterios no siempre son los adecuados para la diferenciación confiable de las especies debido a las influencias medioambientales en la estabilidad de las características morfológicas y la existencia de formas intermedias (Freeman & Katan 1997, Rodríguez 2007, Oliva 2009). Por otra parte Oliva (2009), menciona que las características varían a través del tiempo y pierde sus características culturales iniciales cuando es manipulado en el laboratorio.

La reacción en la cadena de polimerasa (PCR), al usar primer con secuencias específicas, es una técnica molecular rápida y confiable para determinar especies de dicho género. Otro método molecular para la identificación de especies es por la región ITS, útil para determinar especies y razas (Freeman & Katan 1997).

#### **4.9 Morfología general de *Colletotrichum* spp.**

*Colletotrichum* generalmente presenta micelio enramado inmerso, septado de coloración hialina a castaño pálido. Los acérvulos son separados en forma de discos o de cojín, de textura serosos y se pueden ubicar en forma subepidermal, epidermal y subcuticular, comúnmente con setas o espinas de color negro en los bordes o entre los conidioforos; están formados de pseudoparénquima con paredes delgadas o gruesas. Los conidioforos pueden ser simples o elongados (figura 1) (Barnett & Hunter 1980, Agrios 2005, Reyes 2006).

Las conidias son producidas en los acérvulos, son de coloración hialinas, aseptadas de forma falcada, cilíndrica o fusiforme, de una sola célula, durante la germinación se tonan de color castaño pálido, se septan y forman el apresorio. Cuando las esporas son muy numerosas pueden formar masas brillantes de color rosado o salmon (Agrios 2005). Al aislar conidias de este género, las conidias pueden presentar varias formas y variaciones en el tamaño, donde se demuestra

una heterogeneidad entre y dentro del género (Rodríguez 2007).

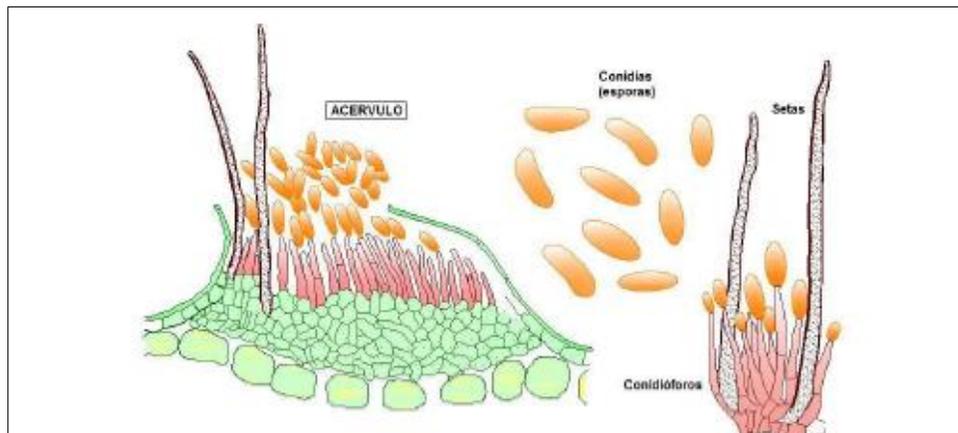


Figura 1. Acérvulo de *Colletotrichum*.  
Fuente: Barnett & Hunter 1980.

Las setas pueden estar presentes o ausentes, originadas irregularmente desde el pseudoparenquima, no presentan ramificación, tiene un apice agudo u obtuso, suave y con una pared gruesa septada en algunos casos (Barnett & Hunter 1980, Agrios 2005, Reyes 2006).

#### 4.10 Antracnosis en café por *Colletotrichum* spp.

La literatura reporta que los daños de este hongo se limitan a zonas altas, húmedas y con abundantes lluvias, diseminado con mayor incidencia en zonas con altitudes superiores a los 1200 msnm, asociados al café de forma saprofita o parásita y además las especies de este género puede tener un amplio rango de hospederos para sobrevivir (Martínez & Zambrano 1992).

Góngora (1991) y Torres *et al.* (1994), determinan que la enfermedad está más relacionada con el efecto de las condiciones ambientales en el agroecosistema cafetalero y el estado nutricional de las plantas; presentándose, desde zonas bajas y secas hasta zonas altas y húmedas

Waller *et al.* (1993), menciona que al menos tres distintas especies de *Colletotrichum* se han asociado con las plantas de café estas son *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *C. kahawae*.

El CBD (Coffee Berry Disease) es una enfermedad que infecta directamente a los frutos de café, tiene por agente causante al hongo *C. kahawae* (Cadena & Gaitán 2006). Esta especie ataca al fruto en todos los estados de desarrollo desde las floraciones hasta cerezas maduras y en ocasiones afecta a las hojas. Su principal daño económico lo causa al infectar frutos verdes, especialmente en desarrollo (Gil *et al.* 2002).

En laboratorio las colonias de *C. kahawae* se distinguen de otras especies de *Colletotrichum* por su color oscuro, menor tasa de crecimiento y por su incapacidad de utilizar citrato y tartrato como única fuente de carbono (Waller *et al.* 1993).

#### **4.11 Condiciones ambientales para el desarrollo de especies de *Colletotrichum* spp.**

Los factores ambientales que favorecen el desarrollo del hongo son: temperatura, humedad, luz, nutrientes y pH del suelo (Gutiérrez *et al.* 2003, Mendoza *et al.* 2008).

Las temperaturas mínimas y máximas para la germinación del hongo son de 22°C y 32°C, así como una humedad relativa mayor al 92% (Baquero & Pérez 2002). Bajo condiciones de laboratorio *in vitro*, las temperaturas óptimas para el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* Penz. son entre 21°, 24° y 28 °C. ya que el llenado de la caja Petri ocurre en menos tiempo (Reyes-Amado & Morales-García 2007).

La presencia de agua es imprescindible ya que permite que las conidias se dispersen, germinen y penetren en la planta, dando inicio al período infeccioso (Reyes 2006, Mendoza *et al.* 2008). En la época lluviosa, el hongo infecta con mayor facilidad los tejidos jóvenes de ramas, tallos y hojas, en donde permanece durante la época seca, convirtiéndose en la principal fuente de inóculo para la próxima epidemia (Mendoza *et al.* 2008).

PROCAFE (2001), establece algunos factores que favorecen a la antracnosis:

- Excesiva nutrición nitrogenada
- Deficiencias nutricionales de los cafetos, principalmente falta de fósforo y potasio.
- Sistema radical dañado por hongos, insectos o nemátodos.
- Raíces deformes y con deficiencias en el sistema radicular.
- Sombra excesiva del cafetal.

Mendoza *et al.* (2008) determina otros factores como: el poco vigor inicial en los almácigos por deficiencias de nutrientes, suelos pobres en materia orgánica, variaciones abruptas del clima, podas drásticas o pérdidas de los árboles de sombra, estrés hídrico, alta producción y daños por otras plagas. Son numerosos los factores ambientales que predisponen a la planta al ataque de la enfermedad o que se consideran íntimamente asociados.

#### **4.12 Epidemiología**

Las conidias o esporas de *Colletotrichum* se adhieren al tejido vivo o muerto, estas se ven favorecidas con la lluvia, desprendiéndose rápidamente para ser liberadas y diseminadas en ramas, hojas, flores y frutos. Otra manera de diseminación es a través del transporte de material enfermo, herramientas de poda y por el hombre durante las labores agrícolas (Reyes 2006).

Contreras (2006), menciona que los insectos de los órdenes *Diptera*, *Coleoptera* y *Homoptera* también pueden ser dispersores de las esporas cuando estas se adhieren a su cuerpo. Además el autor menciona que las plantaciones son más susceptibles a la antracnosis cuando se encuentran localizadas en zonas muy altas.

#### **4.13 Mecanismos de infección de *Colletotrichum* spp.**

##### **4.13.1 Germinación y formación del apresorio.**

Las dos fuentes de inóculo para iniciar la infección son los conidios que se producen en los acérvulos o las ascosporas producidas y liberadas del peritecio. El inóculo llega a su hospedero por medio del agua o por dispersión de los

conidios que se adhieren rápidamente a la cutícula del hospedante (figura 2) (Alarcón 2012).

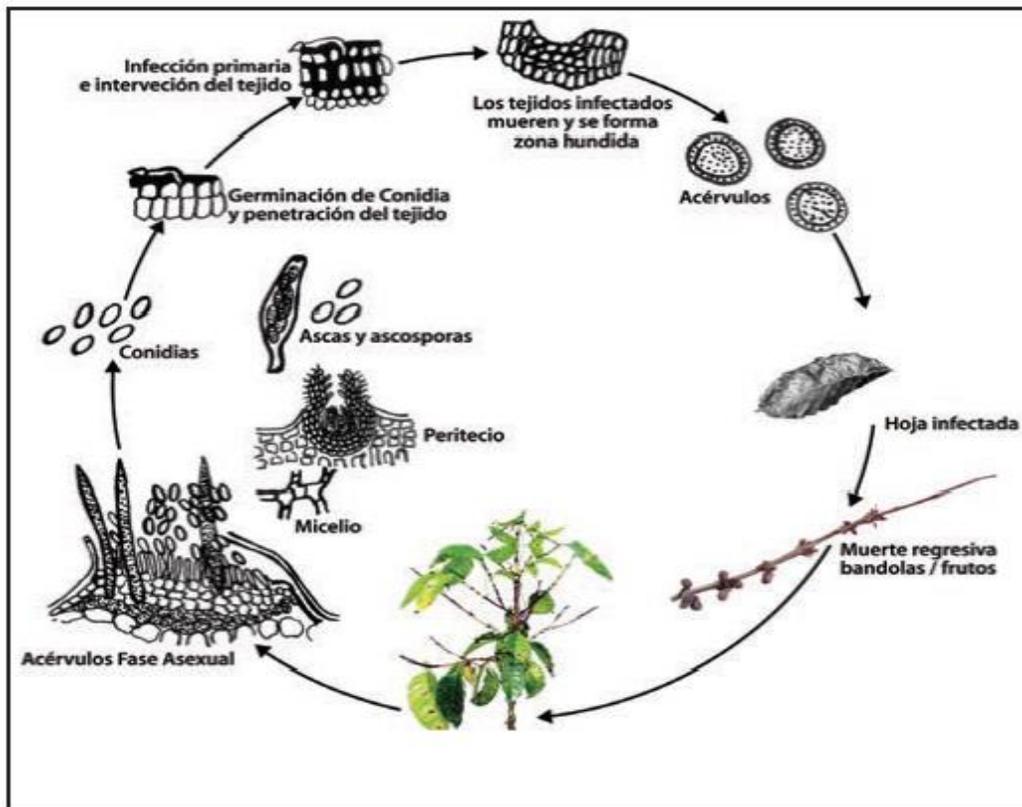


Figura 2. Ciclo de la enfermedad de la antracosis en el cultivo de café, *C. arabica*.

Fuente: Mendoza *et al.* 2008.

La germinación de los conidios ocurre en un período de un día, luego produce un tubo germinal antes de formar el apresorio terminal que penetra la cutícula. La formación del apresorio es necesaria para la penetración directa a la superficie del hospedero ya que juega un rol importante para que el patógeno pueda sobrevivir. Los procesos de germinación de conidios, formación del apresorio y la formación de hifas infectivas son procesos independientes que actúan como estimuladores o inhibidores en las plantas hospederas (Alarcón 2012).

#### 4.13.2 Estrategias de penetración.

Perfect *et al.* (1999) y Rodríguez (2007), establecen que la penetración ocurre después de la formación del apresorio, para ello acontecen dos estrategias de penetración, las cuales se detallan a continuación:

- 1. Penetración intracelular hemibiotrófica:** Al penetrar las células epidérmicas del hospedante, las hifas aumentan de tamaño, formando vesículas de infección y una hifa primaria amplia, alrededor de la cual se invagina la membrana plasmática. La vesícula de infección y la hifa primaria están rodeadas por una matriz interfacial, por lo que el protoplasto del hospedante se mantiene vivo durante esta etapa de la interacción; posteriormente, la hifa primaria coloniza progresivamente nuevas células epidérmicas y mesófilas, a partir de las hifas primarias se forman hifas necrotróficas secundarias delgadas, las cuales se expanden rápidamente y degradan las paredes celulares mediante enzimas, lo que ocasionan lesiones necróticas.
- 2. Penetración necrotrófica intramural, subcuticular:** después de la penetración, el patógeno se desarrolla debajo de la cutícula formando una red de hifas intramurales. Durante las etapas posteriores de infección, las hifas inter e intracelulares penetran células epidérmicas y mesófilas, lo que ocasiona la muerte del hospedante.

*Colletotrichum* spp. puede entrar al hospedero de diferentes maneras, esta puede ser a través de aperturas naturales de los estomas, a través de heridas y por penetración directa de la barrera cuticular, esta última es la forma más frecuente (Contreras 2006).

#### **4.13.3 Infección y colonización de los tejidos vegetales.**

Las especies de *Colletotrichum* en su proceso infectivo presentan dos fases:

- **Fase asintomática:** Se establece en los tejidos y órganos del hospedero como: hojas, ramas, partes terminales de los tallos y frutos. En esta fase asintomática el patógeno invade las células sin matarlas, razón por la que se considera a varias especies de *Colletotrichum* como hemibiotróficas intracelular (PROCAFE 2001, Alarcón 2012).
- **Fase destructiva visible:** crece bajo la cutícula y disuelve extensamente la matriz péptica de las células epidérmicas; el desarrollo intramural se asocia a la hinchazón y disolución de las paredes celulares.

#### **4.14 Sintomatología de antracnosis en café.**

Los síntomas en las plantas dependen de las cepas, el hospedero y la interacción entre ellos, asimismo depende de las condiciones del ambiente y fisiológicas de la planta (Pérez *et al.* 2003, Agrios 2005). El periodo de incubación de *C. gloeosporioides* puede comenzar desde los 7 hasta los 24 días después que ocurre la infección (Gutiérrez *et al.* 2003, Mendoza *et al.* 2008).

En plántulas, aparecen manchas necróticas hundidas de color oscuro en las hojas cotiledónales y en hipocótilos (tallito), cuando esto ocurre, las hojas cotiledónales se marchitan y mueren. En los hipocótilos las manchas lo rodean progresivamente hasta causar la muerte de la plántula (Torres *et al.* 1994).

En hojas verdaderas de plantas jóvenes y adultas, los síntomas inician en los bordes y ápices, causando lesiones necróticas de color café oscuro a negro, rodeadas de un anillo café rojizo alrededor de la mancha. En las lesiones se observan puntos negros que son estructuras reproductivas del hongo y un aspecto deshidratado. (PROCAFE 1997, Guerra 2004, Martínez *et al.* 2006 y Ortiz-Romero *et al.* 2014).

En el campo puede haber variaciones en los síntomas de la hoja, los cuales se conocen como síntomas atípicos. Algunas veces se observa que la lesión inicia de forma circular similar a la provocada por la mancha de hierro (*Cercospora coffeicola* Berk & cooke), sin embargo, puede verificarse el color café rojizo en el borde de las manchas, esta es una característica principal de antracnosis. Cuando la mancha ocurre en el borde de la hoja, presenta una forma irregular con borde café y con un anillo amarillo muy delgado (Mendoza *et al.* 2008).

En la parte apical de las ramas se produce una coloración negra cuya intensidad va disminuyendo hacia la base, donde se aloja gran cantidad de acérvulos o puntos negros (Fernández 1996). La enfermedad puede iniciar en los entrenudos, donde se observan lesiones hundidas de color café claro a oscuro de forma irregular. Este ataque se inicia en los sitios donde cae el inóculo y encuentra condiciones favorables para causar la infección. El “paloteo” es una muerte de la

planta que se genera por la caída de las hojas, la muerte regresiva de ramas y tallos (PROCAFE 2001, Mendoza *et al.* 2008).

En plantas en producción, el hongo afecta tanto frutos maduros como verdes. Cuando el daño ocurre en los frutos verdes, el síntoma se inicia en el pedúnculo ocasionando la caída prematura, en algunos casos, el fruto se pone negro produciendo necrosis total, mientras que en frutos maduros o llegando a madurar aparecen áreas necróticas que pueden cubrir al fruto, provocando la caída. El síntoma inicial de la enfermedad comienza con pequeñas lesiones hundidas de color café a amarillenta que se extienden rápidamente hasta cubrir todo el fruto; con el tiempo se torna color negro y se secan, produciéndose una momificación (Orozco 2003, Mendoza *et al.* 2008).

Los frutos son más susceptibles a partir de la sexta semana después de la floración, momento en el cual el ovario del fruto comienza su fase de expansión volumétrica; la susceptibilidad aumenta más entre la octava y la duodécima semana después de la floración (Mendoza *et al.* 2008). Algunas veces aparecen nuevas lesiones en la fase de pre maduración y maduración del fruto. Cuando la infección ocurre sobre frutos maduros, el ataque del hongo se restringe a la pulpa, sin dañar el grano, pero dificulta el despulpado y la calidad del grano (Torres *et al.* 1994, Mendoza *et al.* 2008).

*Colletotrichum* spp. está presente normalmente en la corteza de café aparentemente sana aunque en ocasiones pueden colonizar capas más profundas y causar necrosis en la parte interna de la corteza (Van de Graaf *et al.* 2002).

#### **4.15 Control preventivo.**

Los controles preventivos relacionados con las podas de limpieza, manejo de sombra y otras no son muy significativos por los caficultores, es por ello que deben integrarse otros métodos para disminuir la incidencia de las enfermedades. El control químico es frecuentemente el más utilizado para las enfermedades fungosas principalmente de la roya y antracnosis (PROCAFE 2001).

#### **4.15.1 Productos de contacto**

Estos productos son aplicados a la planta, forman una película protectora sobre la hoja impidiendo que la espora del hongo germiné. Los productos de contacto no penetran el tejido vegetal, pero puede ocurrir cuando hay aplicaciones de dosis altas o porque la hoja se encuentra lesionada (CENTA 2016).

El control químico utilizado para el manejo eficaz de esta enfermedad incluye los productos a base de cobre; oxiclورو de cobre 50%, hidróxido de cobre 50%, sulfato de cobre llamado caldo bordelés o caldo sulfocalcico (Gutiérrez *et al.* 2003, Mendoza *et al.* 2008). Algunos son recomendados por CENTA (2016) conocidos por sus nombres comerciales como Cupravit, Kocide 101 E.C., Antracnol 70% WP y otros de contacto.

#### **4.15.2 Productos Sistémicos.**

Estos fungicidas se caracterizan por ser productos que pueden penetrar en la planta y se distribuyen a través del xilema y floema circulando por toda la planta. Los productos fúngicos sistémicos más utilizados en el país son: Caporal, Opus, Alto 100 SL, Amistar xtra, Royzell 25 EC, Onix 25 EC, Soprano-C, Opera, Propicon 25 EC, Ciproconazol y otros productos sistémicos (CENTA 2016).

---

<sup>1</sup> Comunicación personal. Ing. Agrónomo, Mazariego, E. 2017. Técnica Investigadora de la División CENTA-CAFÉ. CENTA [Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal "Enrique Álvarez Córdova"].

## 5. METODOLOGÍA.

### 5.1 Ubicación geográfica del área de estudio.

El área de estudio se encuentra ubicada en el departamento de Santa Ana, en el municipio de Santa Ana, en Finca San Pedro (Figura 3 y Cuadro 1).

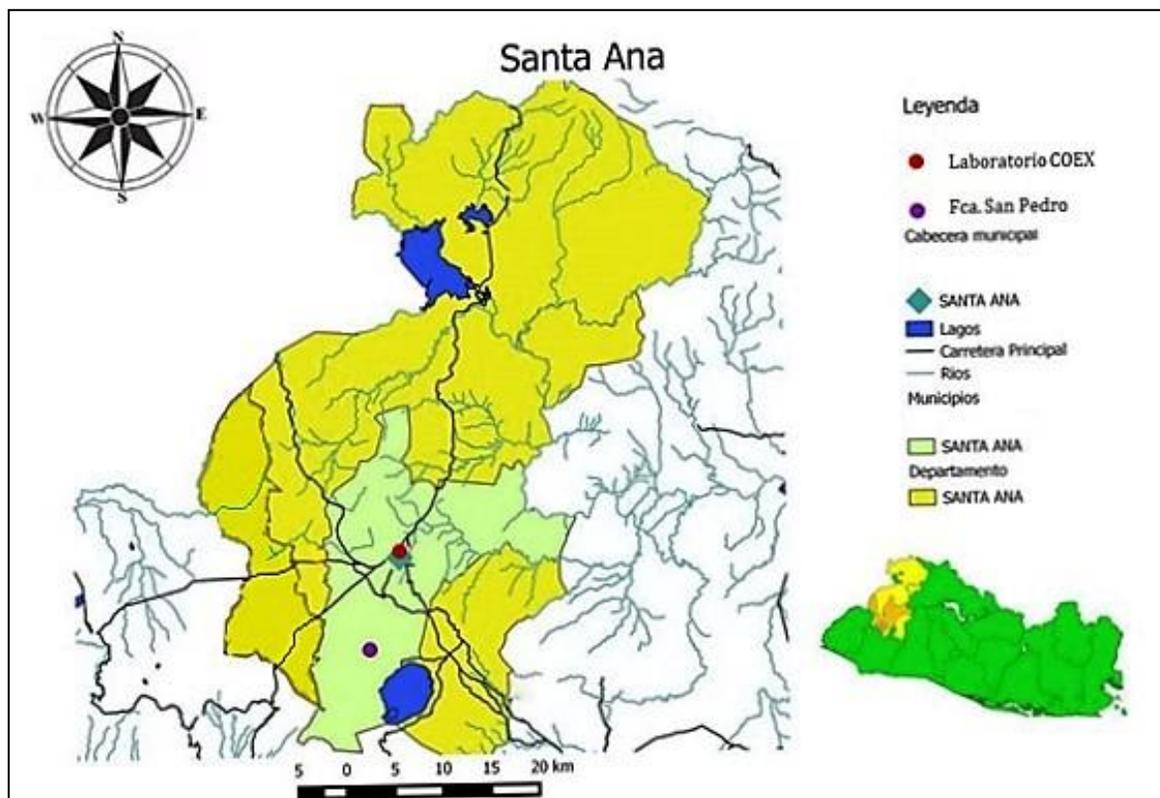


Figura 3. Ubicación geográfica de los sitios de estudio, laboratorio COEX y Finca San Pedro, en el municipio de Santa Ana, Departamento de Santa Ana.

Fuente: autor, elaborado en el programa Qgis 2.8 wien. Junio 2017.

Cuadro 1. Coordenadas geográficas de Finca San Pedro y Laboratorio COEX, Santa Ana, 2017.

Sitios	Altitud (msnm)	Coordenadas geográficas	
		Latitud Norte	Longitud Oeste
Finca San Pedro	1150	13°53'51.8"	89°35'7.9"
Laboratorio Control Biológico (COEX)	632	14°00'15.3"	89°32'55.0"

### **Finca San Pedro.**

Está ubicada en el cantón Ochupse Arriba, jurisdicción del municipio de Santa Ana, departamento de Santa Ana, geográficamente se encuentra en las coordenadas 13°53'51.8" Latitud Norte y 89°35'7.9" Longitud Oeste, a una altura de 1,150 msnm. La Finca está dividida en tres tablones llamados; San Pedro con 15 Mz, La Loma con 10 Mz y el tablón Santa Raquel con 9 Mz. La variedad de café cultivada es Bourbon, en un 100%, con una edad de aproximadamente 25 años. El tipo de suelo es franco, en el año se realizan tres fertilizaciones en la finca; la primera es de Nitrato de Amonio, la Segunda y tercera aplicación de fórmula completa NPK.

La finca está comprometida con la responsabilidad ambiental, económica y social, por esta razón, esta adquiere el sello de la certificación Rainforest Alliance. asegurando a los consumidores que los productos vienen de fincas manejadas bajo el estándar de la Red de Agricultura Sostenible (RAS), diseñado para proporcionar a los trabajadores y sus familias condiciones de seguridad, proteger la vida silvestre y los cuerpos de agua.

El manejo y control de la finca se enfoca en un conjunto de actividades de manejo integrado como: control de maleza, manejo de sombra, fertilización, control de plagas y enfermedades, de acuerdo a Martínez (c.p<sup>2</sup>). A pesar de las prácticas agrícolas implementadas, la plantación presenta enfermedades fúngicas y algunas plagas debido a que la variedad de la plantación es susceptible.

### **Laboratorio de Control Biológico (COEX).**

El Laboratorio de Control Biológico del Departamento Agrícola de Comercial Exportadora (COEX), está ubicado en Carretera Internacional Santa Ana, Km 67-68, Municipio de Santa Ana, Departamento de Santa Ana, a una altura de 632 msnm, en las Coordenadas 14°00'15.3" LN y 89°32'55.0" LO (Figura 4).

---

<sup>2</sup> Comunicación personal, Francisco Martínez, mandador en la Finca San Pedro. Empresa Exportadora (COEX). Santa Ana. El Salvador.

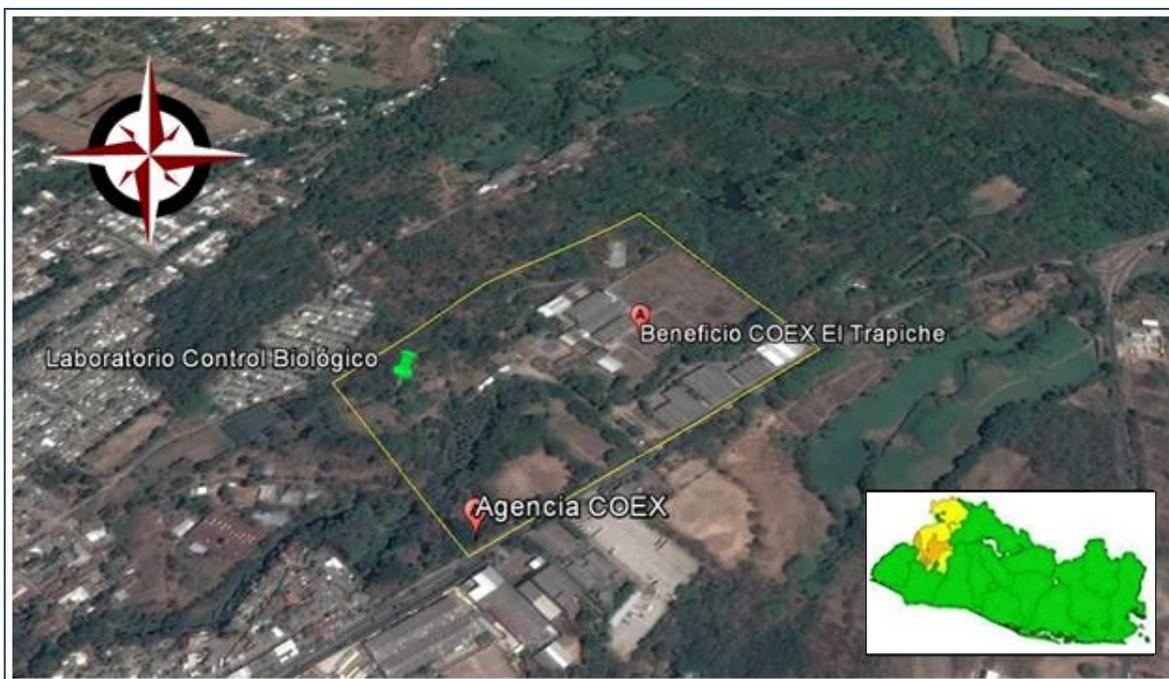


Figura 4. Ubicación Geográfica del Laboratorio de Control Biológico (COEX). Municipio de Santa Ana, Santa Ana.

Fuente: Google Earth 2017.

De acuerdo al perfil climatológico del MARN (2017), en el departamento de Santa Ana predomina el clima cálido semihúmedo, la temperatura promedio anual es de 24°C, con una temperatura que oscila alrededor de los 19 °C como mínima y 33°C como máxima. La velocidad promedio anual de los vientos es de 7.8 kilómetros por hora y el promedio anual de la humedad relativa oscila entre 70% y 79%.

## 5.2 Fase de campo.

### 5.2.1 Recolección del material enfermo de plantas de café.

Para la recolección del material con síntomas de antracnosis en hojas y ramas de plantas de café, se aplicó la metodología propuesta por Guharay *et al.* (2000) la cual consiste en:

- Delimitar la finca en bloques (tablones).
- Seleccionar cinco puntos.
- En cada punto se eligieron dos estaciones de cinco plantas cada una, alrededor de un punto de referencia.

- Finalmente en cada planta, se seleccionó una rama, alternando entre el estrato bajo y alto entre planta y planta (Figura 5), hasta completar 10 ramas (figura 6).

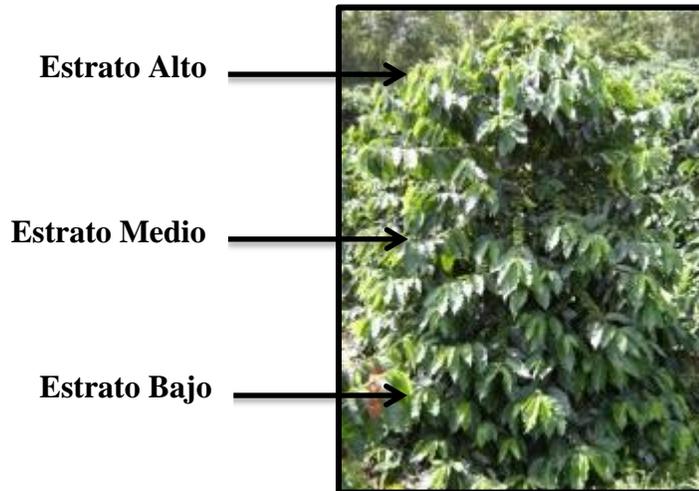


Figura 5. Esquema de los estratos de la planta de café, *C. arabica*.

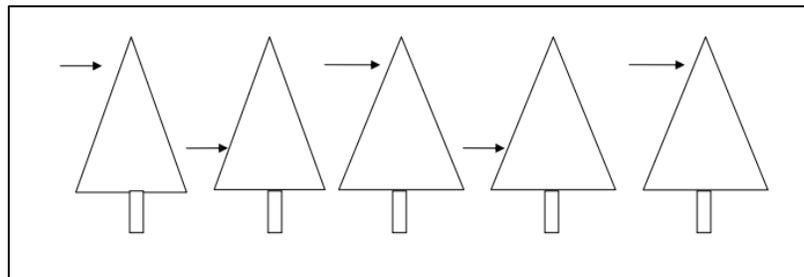


Figura 6. Forma de recolección del material enfermo. En cada planta, alternar entre el estrato bajo y alto entre planta y planta.  
Fuente: Guharay *et al.* (2000).

Los síntomas característicos de antracnosis que se observaron durante el muestreo son:

- Manchas necróticas hundidas en los márgenes de las hojas.
- Manchas necróticas hundidas en ramas.
- Áreas oscuras en los nudos de las ramas, acompañadas de necrosis en el peciolo y la parte basal de la hoja la cual produce secamiento en puntas de las ramas, esto es conocido comúnmente como muerte descendente.

- Puntos negros en las áreas dañadas del tejido que corresponden a estructuras reproductivas del hongo (acérvulos) (Castellanos *et al.* 2011).

Posteriormente se utilizó una tijera de podar previamente desinfectada con alcohol al 70% para cortar el material enfermo. Las muestras infectadas fueron envueltas en papel toalla y colocadas en bolsas de papel para evitar la acumulación de humedad en el interior y disminuir el crecimiento de microorganismos saprofitos (Castellanos *et al.* 2011).

Para recolectar las muestras se estableció un intervalo de tiempo de 8:00 am a 10:00 am.

### **5.3 Fase de laboratorio.**

El material recolectado se trasladó al laboratorio Control Biológico COEX, donde fueron procesadas las muestras, para corroborar que los síntomas observados eran ocasionados por especies de *Colletotrichum*. Posteriormente se procedió a efectuar la metodología y técnicas microbiológicas con las que se pueden comprobar los postulados de Koch (French & Hebert 1980, Agrios 2005, Fuentes & Blanco 2007). Para garantizar la pureza de los aislamientos de las muestras de material enfermo, se trabajó en una cámara de flujo laminar (Castellanos *et al.* 2011).

#### **5.3.1 Aislamiento de *Colletotrichum* spp., a partir de las muestras recolectadas de plantas de café.**

##### **➤ Paso 1**

Se cortaron fragmentos de tejido enfermo, con presencia de manchas oscuras que indican la presencia del hongo para la obtención y aislamiento de *Colletotrichum* spp. (Agrios 2005). En las hojas, se cortaron secciones de 0.5cm<sup>2</sup> y en ramas, fragmentos de 0.5 cm de largo por 0.5 cm de ancho (French & Hebert 1980).

##### **➤ Paso 2**

Desinfección de los cortes, siguiendo el siguiente orden:

- Sumergir la muestra en agua destilada durante un minuto.
- Sumergir la muestra en alcohol al 70 % durante un minuto.
- Finalmente, la muestra se sumerge en agua destilada estéril, durante un minuto (Ortiz-Romero *et al.* 2014)

➤ **Paso 3**

Secado; para disminuir el exceso de humedad, las muestras de tejido se colocaron sobre papel filtro estéril, durante 10 minutos (Castellanos *et al.* 2011).

➤ **Paso 4**

Siembra; se utilizó una pinza esterilizada para tomar los pedazos de tejido ya desinfectados, después se procedió a sembrar las muestras en cajas Petri de 9 cm de diámetro, con medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) previamente esterilizado en autoclave a 120 °C, 15 lb de presión, durante 20 minutos (Castellanos *et al.* 2011). Para el caso de las muestras de rama, se sembraron 3 fragmentos por caja Petri, mientras que para las hojas, fueron 4 fragmentos por caja Petri.

Las cajas Petri se sellaron con plástico sellador, se rotularon y se incubaron a temperatura entre 22 °C a 24 °C durante 8 días para que el hongo se desarrollara (figura 7) (French & Hebert 1980).

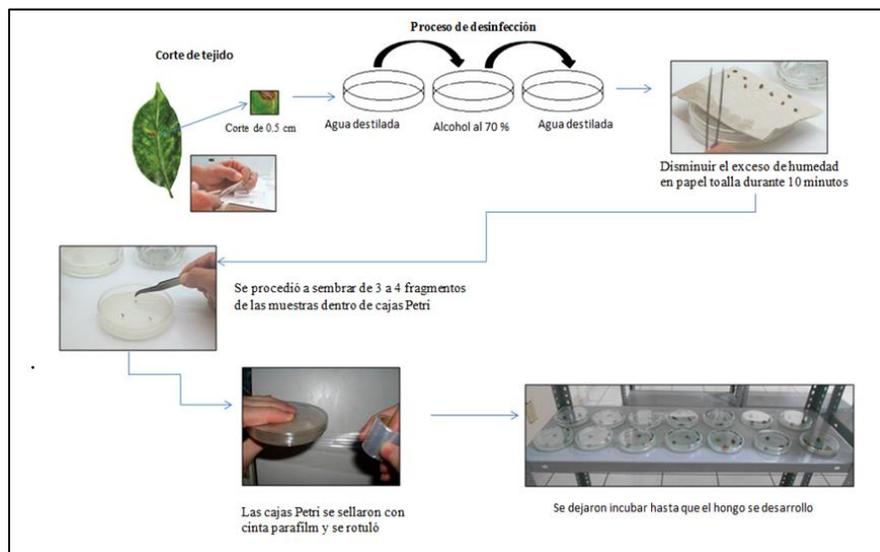


Figura 7. Procedimiento del aislamiento de *Colletotrichum* spp., a partir de muestras recolectadas de plantas de café.

Fuente: autor

### **5.3.2 Purificación del hongo *Colletotrichum* spp.**

Pasado 8 días de incubación, se observó el crecimiento morfológico del hongo y se procedió a realizar preparaciones microscópicas para observar al microscopio óptico de campo claro, las características morfológicas del micelio, esporas, hifas, estructuras de reproducción (acérvulos) y espinas (setas) correspondientes a *Colletotrichum* sp., posteriormente con una pinza previamente esterilizada se tomó una parte de micelio aislado y se colocó nuevamente en cajas Petri con medio de cultivo PDA (French & Hebert 1980).

Cuando el crecimiento micelial alcanzó su máximo desarrollo, nuevamente se realizaron preparaciones microscópicas para reconocer características morfológicas del hongo, finalmente, se tomó una parte del micelio aislado, de aproximadamente 0.5 mm<sup>2</sup> y se realizaron repiques (cada vez que fue necesario) en cajas de Petri con medio de cultivo PDA, hasta obtener una cepa pura de *Colletotrichum*, aislada tanto de hoja como de rama (French & Hebert 1980).

### **5.4. Identificación del género *Colletotrichum*.**

La identificación del género se sustentó en las estructuras microscópicas mediante el uso de la clave taxonómica de Barnett & Hunter (1980), libro de Agrios (2005), visitas a la página web del NCBI; gen bank en línea, consulta virtual con expertos en identificación de *Colletotrichum* y uso del documento actualizado sobre The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex.

Para determinar la identificación de las especies de *Colletotrichum*, las cepas obtenidas fueron enviadas al laboratorio de Técnicas Moleculares del Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos (CIPROC) de la Universidad de Costa Rica, para su posterior análisis por secuenciación mediante las regiones de Espaciadores de Transcripción Interna (ITS, por sus siglas en ingles).

### **5.5 Caracterización morfológica y crecimiento micelial de las cepas de *Colletotrichum*.**

Utilizando la metodología de Than *et al.* (2008), se llevó un registro de las características morfológicas del hongo para la caracterización macroscópica y

microscópica de la colonia, las cuales se anotaron en la hoja de registro (anexo 1 y 2) con los siguientes aspectos:

### a) Morfología macroscópica.

- a.1. Color de la colonia
- a.2. Patrón de crecimiento.
- a.3. Contorno.
- a.4. Tipo de micelio.
- a.5. Aspecto del micelio.
- a.6. Coloración del fondo o revés de la colonia.
- a.7. Crecimiento micelial de las cepas.

**Para el Crecimiento del micelio en milímetro por día se realizó lo siguiente:**

- Se utilizaron 20 cajas Petri (para cada cepa) con medio de cultivo PDA, luego se marcó sobre el reverso de las cajas Petri cuatro radios equidistantes a partir del centro, enumerando cada radio a favor de las manecillas del reloj y se les asignó una letra a, b, c y d (figura 8) (French y Hebert 1980).
- Con una pinza estéril, en el centro de cada una de las cajas Petri, se inoculó aproximadamente  $0.5 \text{ mm}^2$  del inóculo purificado.
- Seguidamente se dejaron incubar en un lugar aséptico, a temperatura entre  $22^\circ\text{C}$  a  $24^\circ\text{C}$  en oscuridad.
- El crecimiento del hongo en la caja de Petri se observó diariamente.
- Con una regla graduada en mm, se marcó y midió el crecimiento de la colonia, los datos se registraron hasta llenar la caja (anexo 3 y 4).

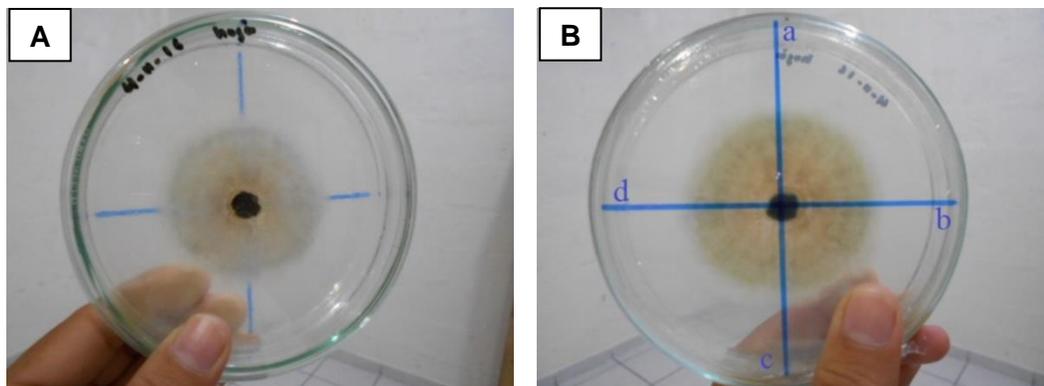


Figura 8. A) crecimiento radial de la colonia, B) fondo de la placa con las marcas realizadas para observaciones de crecimiento: a, b, c y d son los radios de medición.

## b) Morfología microscópica.

b.1. Acérvulos, peritecios y setas: presencia o ausencia.

b.2. Conidias: forma y tamaño

**Para la descripción de acérvulos, peritecios, setas y conidias, se realizó lo siguiente.**

A los 10 días de incubación se observaron las cajas Petri y se realizaron preparaciones de micelio al fresco, con el fin de observar presencia o ausencia de setas, acérvulos y conidias. Para medir el tamaño y determinar la forma de las conidias, se utilizó equipo apropiado del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal Enrique Álvarez Córdova (CENTA).

Para la medición, se preparó una suspensión de esporas en agua destilada, posteriormente se utilizó una lámina de calibración (Figura 9) y un microscopio óptico con una cámara digital Moticam 10 (resolución real de 10.0MP) acoplada (Figura 10). Seguidamente con el programa Motic Images Plus 2.0 se capturo la micrografía y se registraron las medidas de las conidias. El tamaño de las conidias se determina midiendo el largo y el ancho de 50 conidias escogidas al azar de cada cepa, expresando un rango de medidas (Figura 11) (Harp *et al.* 2008).

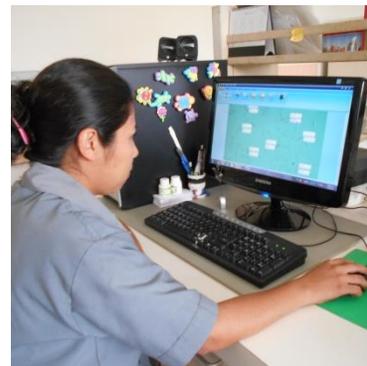


Figura 9. Lámina de calibración con 5 puntos para medidas en  $\mu\text{m}$ .

Figura 10. Microscopio óptico con cámara digital Moticam 10.

Figura 11. Realización de medición de conidias

La forma de las conidias observadas, se determinó utilizando la categoría de forma de conidia de *Colletotrichum* spp., descritas por Smith & Black (1990) (anexo 5).

## 5.6 Prueba de patogenicidad a partir de la cepa purificada de *Colletotrichum*, aislada del tejido de hoja.

El ensayo de patogenicidad se realizó en el Departamento Agrícola de COEX, con el propósito de establecer la patogenicidad de la cepa, en plantas sanas de café de la variedad Bourbon, de 7 meses de edad.

Para el ensayo se utilizó dos estructuras tipo invernadero (figura 12); una para el ensayo de patogenicidad y otra para el control. Cada estructura se construyó con las medidas de 6x4 m y con una altura de 2.5 m, dichas estructuras se cubrieron con plástico flexible para evitar la dispersión del inóculo y la introducción de otros microorganismos, asimismo, para reducir la radiación solar y proporcionar las condiciones adecuadas para el desarrollo del hongo.



Figura 12. Estructura construida para realizar la prueba de patogenicidad.  
Fuente: fotografía del autor.

Dentro de cada invernadero se colocaron 30 plantas sobre tarimas de madera de 2.5 x 1.5 m, estableciendo 6 hileras de plantas con una distancia de 30 cm entre cada planta (figura 13).



Figura 13. Bloque de plantas de café para el ensayo de la prueba de patogenicidad.

Fuente: fotografía del autor.

#### **5.6.1 Preparación del inóculo utilizando la cepa de *Colletotrichum* aislada del tejido de hoja.**

Se inocularon 20 cajas de Petri conteniendo medio de cultivo PDA, con la cepa aislada de hoja y se dejó crecer, sin conocer la especie de esta. Pasados 15 días de crecimiento se procedió a preparar una suspensión de esporas agregándole 15 ml de agua destilada a cada placa, seguidamente se raspo el cultivo de *Colletotrichum* con una asa bacteriológica para remover las esporas (Castellanos *et al.* 2011).

A continuación, la suspensión obtenida se vertió en un Erlenmeyer de 1000 ml para totalizar una suspensión de 1 L, después fue filtrada en tela de gasa esterilizada para eliminar el paso de micelio y medio de cultivo, finalmente dicha solución se agitó durante un minuto (Figura 14) (Marulanda *et al.* 2007).



Figura 14. Preparación del inóculo para el ensayo de patogenicidad.

### 5.6.2 Recuento de conidios en cámara de Neubauer.

Para realizar el conteo de esporas se utilizó una cámara de Neubauer (Figura 15). Con una pipeta, se tomó una gota de la suspensión, luego se colocó en cada uno de los dos depósitos de la cámara de Neubauer, finalmente se realizó el conteo a través del microscopio (Figura 16) (Gilchrist *et al.* 2005). El inóculo fue previamente ajustado a una concentración aproximadamente de  $1 \times 10^6$  conidios/ml (French & Hebert 1980, Pérez *et al.* 2003).



Figura 15. Cámara de Neubauer



Figura 16. Conteo de esporas a través del microscopio óptico.

Para determinar la concentración de esporas de  $1 \times 10^6$  conidios/ml, se hizo el recuento de 5 cuadros de la cámara de Neubauer, de acuerdo al siguiente orden:

Primero: los extremos derecho e izquierdo de la parte superior

Segundo: el cuadro central

Tercero: los extremos izquierdo y derecho de la parte inferior (Gilchrist *et al.* 2005).

La concentración de conidias de la suspensión se calculó de la siguiente manera:

$$NC = (SC / 5) * 50000$$

Dónde:

**NC**= Número de conidias/ml de suspensión.

**SC**= Sumatoria de las conidias contenidas en los cinco cuadros de lado de la cámara de Neubauer.

Dado un volumen final del inóculo que se asperjo y dada la concentración de conidias del inóculo original; para calcular el volumen requerido de este inóculo original y preparar el de la aspersión, se utilizó la siguiente fórmula:  $V1 \times C1 = V2 \times C2$ .

De donde:

V1 = Volumen 1

C1= Concentración 1

V2= Volumen 2

C2= Concentración 2 (Castellanos, *et al.* .2011)

La concentración de inóculo utilizada asegura una infección y un desarrollo adecuado de la enfermedad (Hood & Steward 1997).

### **5.6.3 Inoculación de esporas de la cepa aislada de hoja, en plantas sanas de café.**

Una vez preparada la suspensión de conidias de la cepa de hoja, el inóculo fue depositado en un aspersor manual, llenándolo hasta completar 1500 ml de inóculo, para posteriormente aplicar 50 ml de inóculo en el área foliar de cada una de las 30 plantas sanas de café de la variedad Bourbon (Figura 17) (Baquero & Pérez 2002). A las 30 plantas testigo se les aplicó 50 ml de agua destilada (cuadro 2).

Antes de iniciar la inoculación para la prueba de patogenicidad, las hojas fueron lavadas con agua destilada y se eliminó cualquier maleza alrededor de las plantas.

Cuadro 2. Ensayo para la prueba de patogenicidad a partir de la suspensión de esporas de la cepa de *Colletotrichum*, aislada de tejidos de hojas.

Ensayo	Cepa	N° de plantas.	Variedad
	<i>Colletotrichum</i> (hoja)	30	Bourbon
	Testigos	30	Bourbon

Debido a que el periodo de latencia del hongo es muy corto, el patógeno se inoculó cada quince días (1, 15 y 30 días) utilizando las mismas plantas durante todo el ensayo, aplicando la misma cantidad de inóculo en ml con la concentración antes descrita la cual es de  $1 \times 10^6$  conidios/ml aproximadamente (Castaño 2002) ( Cuadro 3).

Cuadro 3. Periodo de inoculación de esporas de *Colletotrichum* (hoja) en el ensayo de patogenicidad.

Periodo de inoculación de <i>Colletotrichum</i>	Cantidad de inóculo	Concentración
24 de noviembre de 2016	50 ml	$1 \times 10^6$ conidios/ml
09 de diciembre de 2016	50 ml	$1 \times 10^6$ conidios/ml
24 de diciembre de 2016	50 ml	$1 \times 10^6$ conidios/ml

La aplicación del inóculo se realizó durante la tarde, entre las 4:30 pm a 5:30 pm, con el fin de favorecer las condiciones de germinación y penetración de las conidias en el hospedero. Después de la inoculación, las plantas se cubrieron con bolsas transparentes de polietileno, durante un período de 48 horas para aumentar la humedad relativa al interior de la cámara (Figura 18). Para mantener la humedad en las plantas se aplicó diariamente agua destilada al follaje.

Antes de llevar a cabo la inoculación, las plantas de café permanecieron 30 días en el invernadero para aclimatarlas y permitir su adaptación a las nuevas condiciones. Asimismo, para que el hongo actúe, las plantas no fueron fertilizadas, para someterlas a un estrés ya que el hongo ataca de forma oportunista.



Figura 17. Inoculación de *Colletotrichum* en plantas sanas de café (*C. arabica*).



Figura 18. Plantas cubiertas con bolsas, para aumentar la humedad relativa al interior de la cámara.

#### **5.6.4 Reaislamiento del hongo patógeno.**

Para corroborar que los síntomas y signos que se produjeron en las plantas de café, fueron ocasionados por la cepa de *Colletotrichum* inoculada, se procedió a realizar un reaislamiento del hongo con las plantas que desarrollaron la enfermedad y las plantas testigos utilizadas durante la prueba de patogenicidad.

Para el proceso de reaislamiento, se cortaron hojas infectadas y se siguió la misma metodología utilizada para el aislamiento del hongo (ver pág. 25) (French y Hebert 1980).

## 6. PROCESAMIENTO DE DATOS.

### 6.1 Crecimiento del micelio en mm.

El crecimiento del micelio (mm) versus el tiempo (días), se presentó mediante gráfica de barra y representación lineal, para esto se empleó la hoja de cálculo de EXCEL 2010.

El promedio de la medición del diámetro del micelio se obtuvo en la dirección vertical y horizontal de las cajas Petri.

### 6.2 Prueba de patogenicidad.

#### 6.2.1 Periodo de incubación (PI)

El PI es el tiempo comprendido desde la inoculación, infección hasta el apareamiento de síntomas visibles. Permite demostrar un aumento de la incidencia de la enfermedad al aumentar la duración del período de incubación (Castaño 2002). Esta variable se registró diariamente hasta que aparecieron los síntomas.

#### 6.2.2 Incidencia.

Los registros de incidencia de *Colletotrichum* en porcentaje se realizaron a los 15, 30 y 45 días; para dicho cálculo, se utilizó la fórmula siguiente de French & Hebert (1980).

$$Incidencia = \frac{\text{Número de plantas enfermas}}{\text{Número de plantas evaluadas}} * 100$$

#### 6.2.3 Sintomatología.

La sintomatología de *C. gloeosporioides* se describe de acuerdo a los signos y síntomas que presentó la planta, basándose en las observaciones realizadas diariamente en el ensayo de patogenicidad, durante 45 días.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Aislamiento e identificación del hongo *Colletotrichum* a partir de las muestras recolectadas de plantas de café.

Se obtuvieron dos cepas, correspondientes a especies de *Colletotrichum* aisladas a partir de fragmentos de tejidos de hojas y de ramas. La caracterización macroscópica, microscópica, prueba de patogenicidad y análisis molecular (ITS) confirman que la cepa aislada y reaislada de hoja corresponde a la especie *C. gloeosporioides*, mientras que la cepa aislada de rama, a *C. theobromicola*, de esta última no se realizó prueba de patogenicidad. El resultado del análisis molecular, se muestra en el Anexo 6.

### 7.2 Caracterización morfológica de las especies de *Colletotrichum*.

Cuadro 4. Morfología macroscópica de *C. gloeosporioides* y *C. theobromicola*.

Especie	<i>C. gloeosporioides</i> (Núm. de accesión JX258732.1)	<i>C. theobromicola</i> (Núm. de accesión KC512126.1)
Color	Al inicio presenta un color blanco cambiando a gris oscuro a medida que la edad del cultivo aumenta.	Anaranjado por la abundancia de masas conidiales. A los 15 días la colonia forma sectores, siendo más notorios a medida que envejece la colonia del hongo. Los sectores presentan micelio color gris y blanco.
Patrón de crecimiento	Radial, formando entre 6 a 7 anillos concéntricos. Debido a la maduración del acérvulo, en el centro de la colonia se forman masas conidiales dispersas de color anaranjado (se observan a los 5-6 días de crecimiento).	Radial, formando 5 a 6 anillos de masas de conidios de forma concéntrica. Crecimiento con esporulación rápida de color anaranjado.
Contorno de la colonia	Se presenta de forma regular.	Se presenta de forma regular.
Tipo de Micelio	Superficial, penetrando el medio.	Superficial.
Aspecto del micelio	Algodonoso.	Algodonoso.

Coloración del fondo o revés de la colonia	Gris oscuro.	Masas de esporas de color anaranjado producidas en un patrón de anillos concéntricos.
--	--------------	---

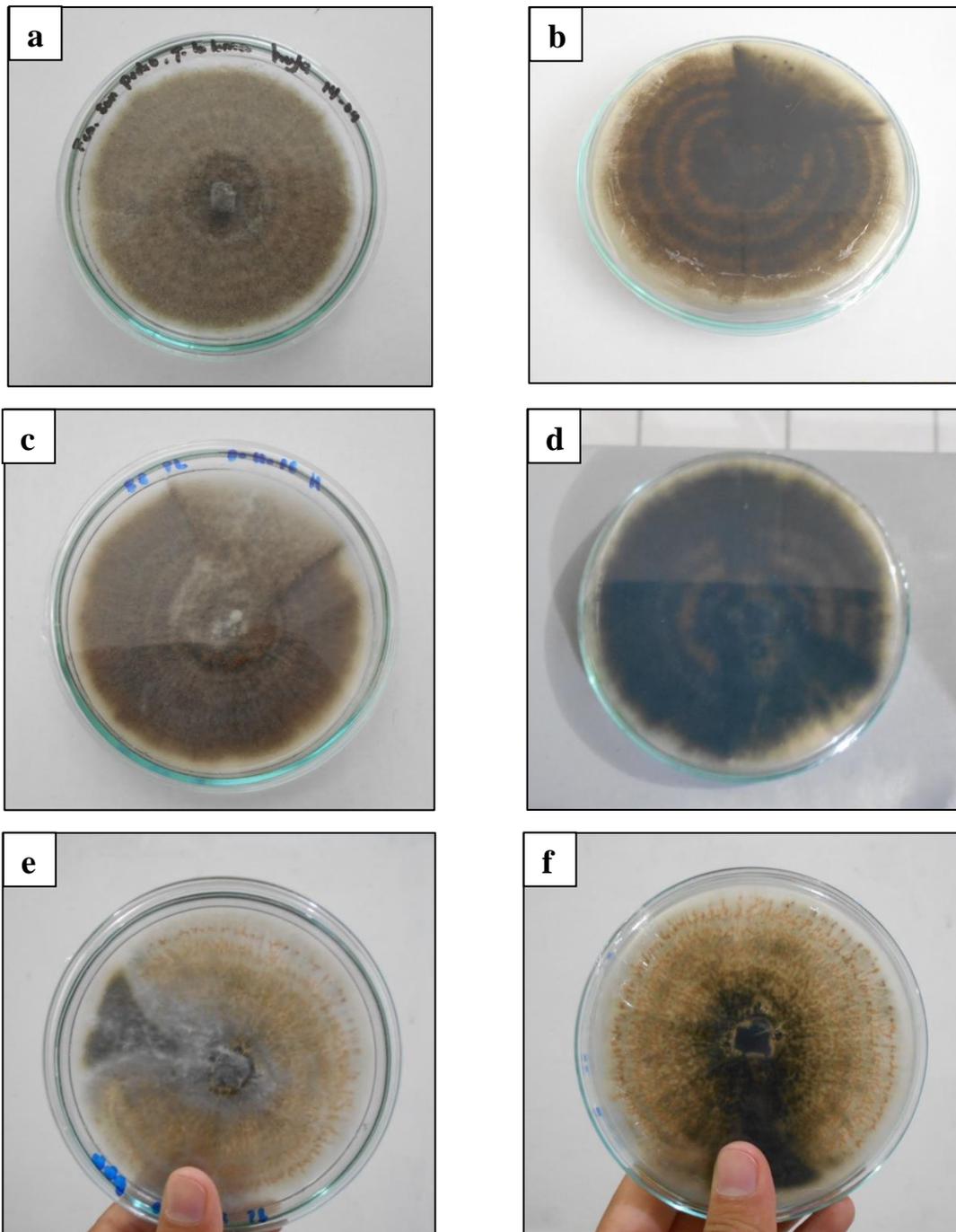


Figura 19. Morfología macroscópica de las especies de *Colletotrichum* en PDA. *C. gloeosporioides* (a) parte frontal y (b) parte dorsal (envés), *C. gloeosporioides* REAISLADO (c y d) y *C. theobromicola* (e) parte frontal y (f) parte dorsal (envés).

### 7.2.1 Crecimiento micelial en mm de las especies de *Colletotrichum*

Las cepas de *Colletotrichum* presentaron crecimiento lineal durante 8 días. La cepa correspondiente a *C. gloeosporioides* aislado de hoja tuvo mayor velocidad de crecimiento radial con un promedio de 44.50 mm, mientras que *C. theobromicola* aislado de rama, el crecimiento radial promedio fue 42.10 mm (promedios correspondientes al octavo día), a temperatura entre 22 a 24°C para ambas especies.

Cuadro 5. Crecimiento radial promedio (mm) de *C. gloeosporioides* aislado de hoja y *C. theobromicola* aislado de rama en medio de cultivo PDA.

<div style="display: inline-block; width: 100px; height: 100px; border: 1px solid black; position: relative;"> <span style="position: absolute; top: 0; left: 0; width: 100%; height: 100%; border: 1px solid black; transform: rotate(45deg);"></span> </div> Tiempo (días) / Crecimiento(mm)	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>C. gloeosporioides</i> (hoja)	5.80	11.90	17.90	24.00	28.80	33.90	38.60	44.50
<i>C. theobromicola</i> (rama)	5.05	10.10	14.95	19.90	24.65	30.90	35.65	42.10

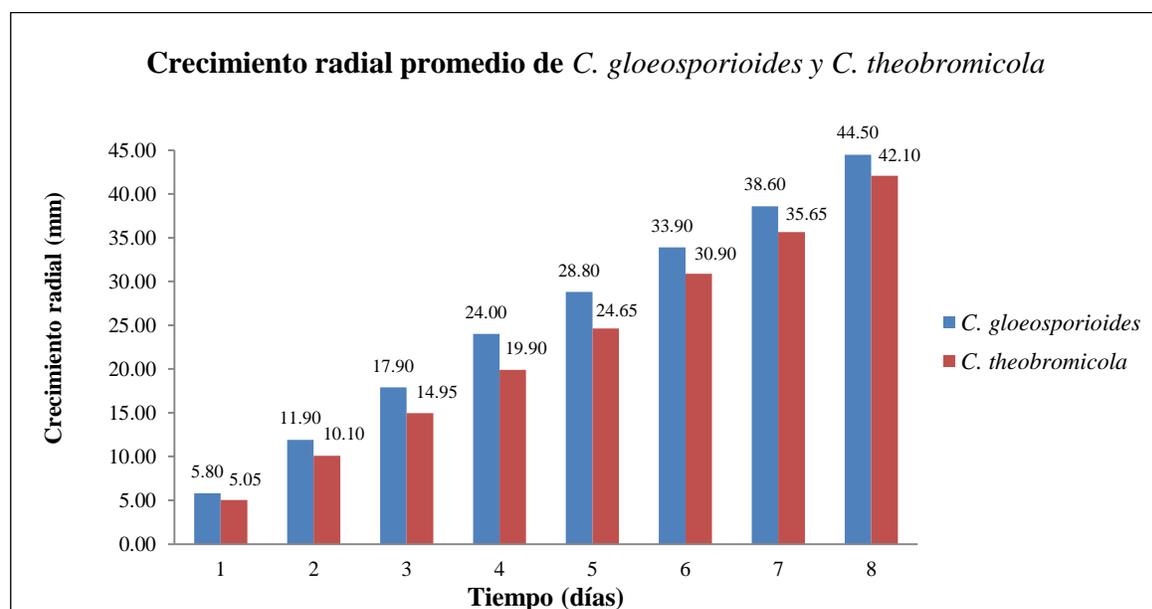


Figura 20. Crecimiento radial en mm de *C. gloeosporioides* y *C. theobromicola* durante 8 días en medio PDA.

Cuadro 6. Morfología microscópica de *C. gloeosporioides* y *C. theobromicola*.

Especie	<i>C. gloeosporioides</i> (Núm. de accesión JX258732.1)	<i>C. theobromicola</i> (Núm. de accesión KC512126.1)
Hifas	Septadas y hialina.	Septadas y hialina.
Acérvulos	Subepidémicos, de color café-oscuro, dentro de los acérvulos se observó la presencia de setas, numerosos conidioforos y conidias.	Subepidémicos, de color café oscuro con numerosos conidioforos y conidias.
Setas o espinas	Color negro, alargada y septada.	Ausente.
Conidioforos	Simples, cortos y erectos.	Simples, cortos y erectos. Forman células conidiales.
Conidias	Hialinas, aseptadas, unicelulares de forma cilíndrica; su citoplasma es uniforme observándose que presentan vacuolas de gran tamaño. Asimismo, las conidias se producen sucesivamente, se acumulan en los acérvulos y forman masas de color anaranjado.	Hialinas, aseptadas, unicelulares de forma cilíndrica; algunas con un extremo redondo y el otro punteado, su citoplasma es uniforme, observándose que presentan vacuolas de gran tamaño. Las conidias se producen sucesivamente, se acumulan en los acérvulos y forman masas de color anaranjado.
Medidas de las esporas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Largo entre 14.29 <math>\mu\text{m}</math> y 22.79 (promedio 17.31 <math>\mu\text{m}</math>).</li> <li>• Ancho entre 3.15 <math>\mu\text{m}</math> y 6.79 <math>\mu\text{m}</math> (promedio 5.08 <math>\mu\text{m}</math>) (figura 23 y Anexo 7).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Largo entre 14.25 <math>\mu\text{m}</math> y 21.11 <math>\mu\text{m}</math> (promedio 17.06 <math>\mu\text{m}</math>).</li> <li>• Ancho 3.17 <math>\mu\text{m}</math> a 6.37 <math>\mu\text{m}</math> (promedio 5.06 <math>\mu\text{m}</math>) (figura 24 y Anexo 7).</li> </ul>

Morfología microscópica de la colonia de *C. gloeosporioides*

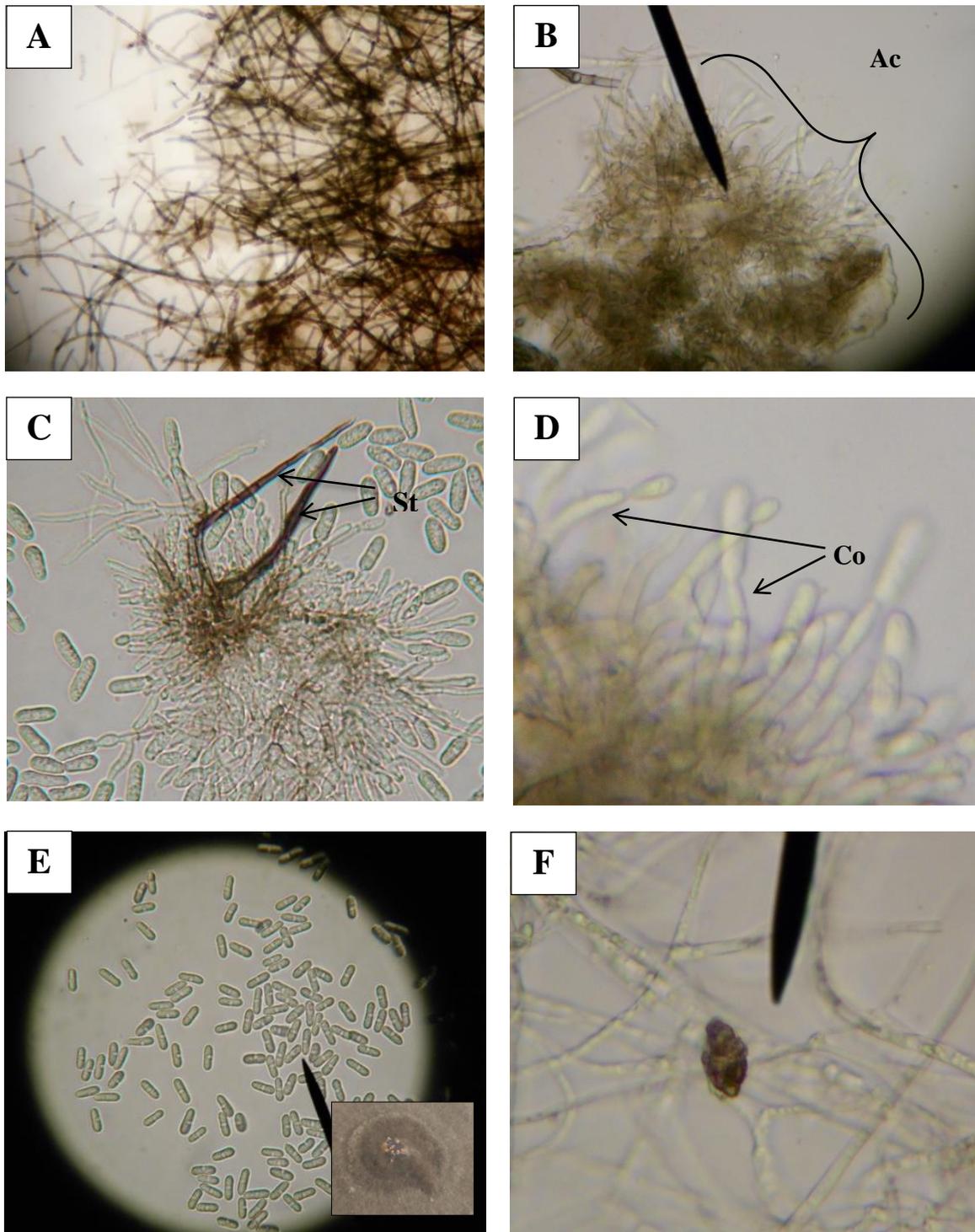


Figura 21. Morfología microscópica de *C. gloeosporioides*. A) Hifas, B) Acérvulo (Ac), C) espinas o setas (St), D) conidióforos, E) Conidias cilíndricas y F) Apresorio.

Morfología microscópica de la colonia de *C. theobromicola*

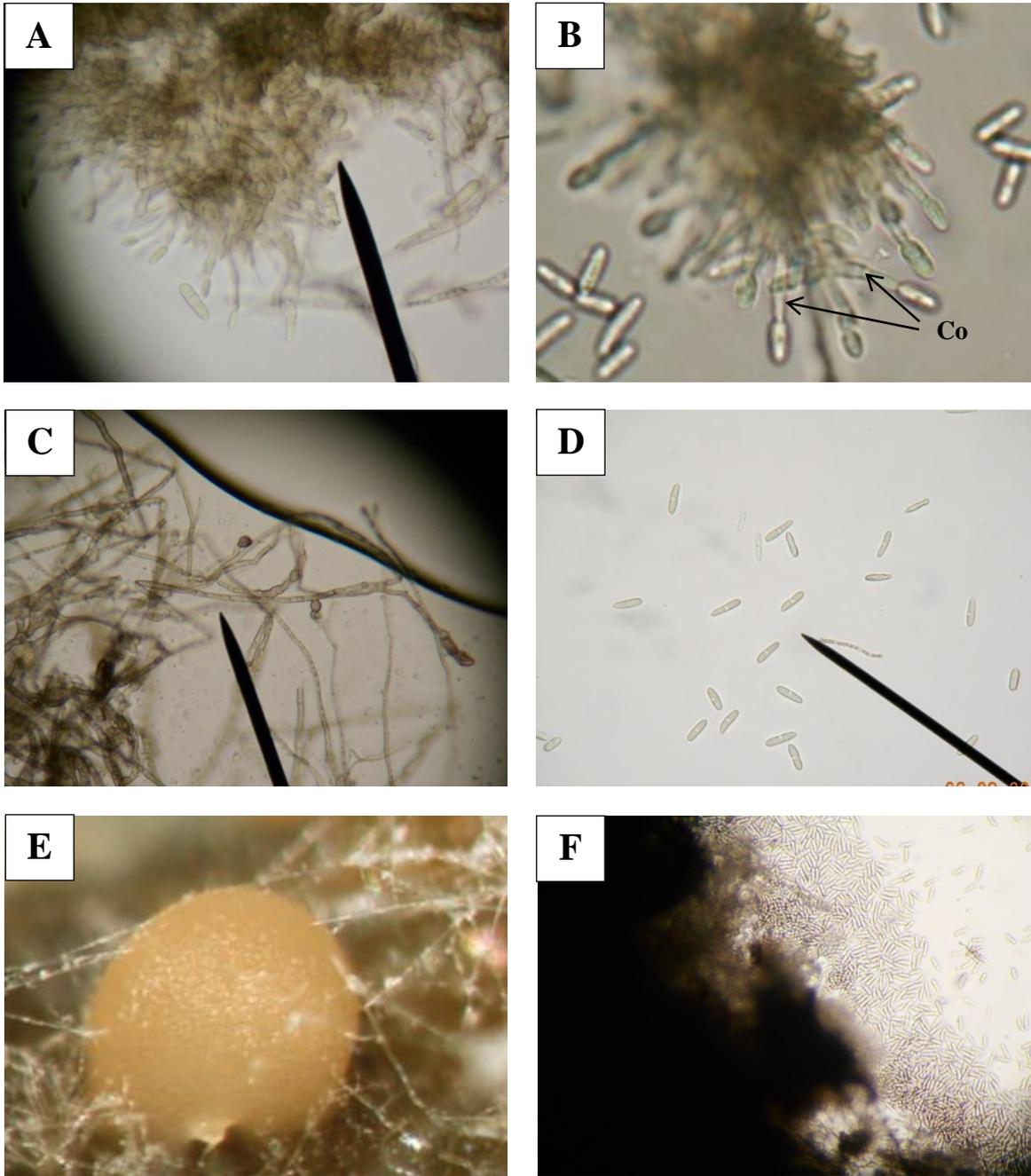


Figura 22. Morfología microscópica de *C. theobromicola*. A) Acérvulo, B) células conidiales; conidióforos (Co), C) clamidosporas, D) Conidias forma cilíndrica y algunas con un extremo redondo y el otro punteado, E) Masas de esporas, F) Masa de esporas extirpada.



Figura 23. Medidas del largo y ancho ( $\mu\text{m}$ ) de conidias de *C. gloeosporioides*, aislada de hoja, con un microscopio Motic óptico con cámara incorporada; imagen captada con el programa Image Plus 2.0. Vista a 40 X.

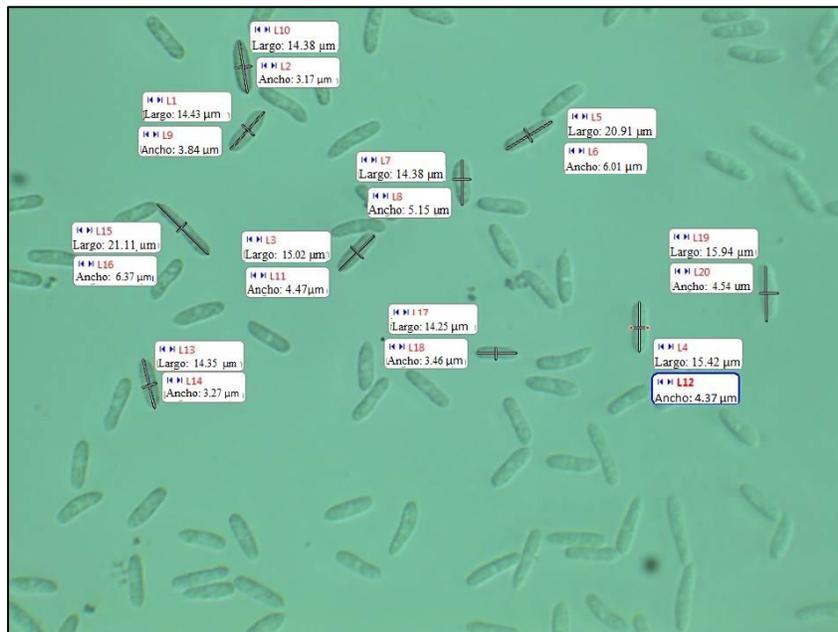


Figura 24. Medidas del largo y ancho ( $\mu\text{m}$ ) de conidias de *C. theobromicola*, aislada de rama de café, con un microscopio Motic óptico con cámara incorporada; imagen captada con el programa Image Plus 2.0. Vista a 40 X.

### 7.3 Patogenicidad a partir de la cepa purificada de *C. gloeosporioides*.

Con el ensayo de patogenicidad se establece la interacción del hongo con la planta de café.

#### 7.3.1 Periodo de incubación

En los primeros 5 días no se apreciaron cambios, fue hasta el sexto día que se observaron los primeros síntomas de la enfermedad en las plantas de café, confirmando la susceptibilidad de *C. arabica* a *C. gloeosporioides*.

#### 7.3.2 Incidencia

El aparecimiento de síntomas de *C. gloeosporioides*, fue el parámetro para dar inicio al registro de los datos, determinado el porcentaje de incidencia en las plantas. Se observó que en los primeros 15 días después de la inoculación, se registró una incidencia inicial del 40 %; en la segunda evaluación, a los 30 días, la incidencia fue del 80 % y finalmente, en la último registro la incidencia fue del 100% (cuadro 7). Se pudo observar que el mayor porcentaje de incidencia se registró en la primera y segunda evaluación.

Cuadro 7 Porcentaje de incidencia en plantas de café *C. arabica*, inoculadas con *C. gloeosporioides*, en condiciones de invernadero, Santa Ana.

Días después de la inoculación	Plantas infectadas	Porcentaje de incidencia
0 a 15	12	40%
15 a 30	24	80 %
30 a 45	30	100 %

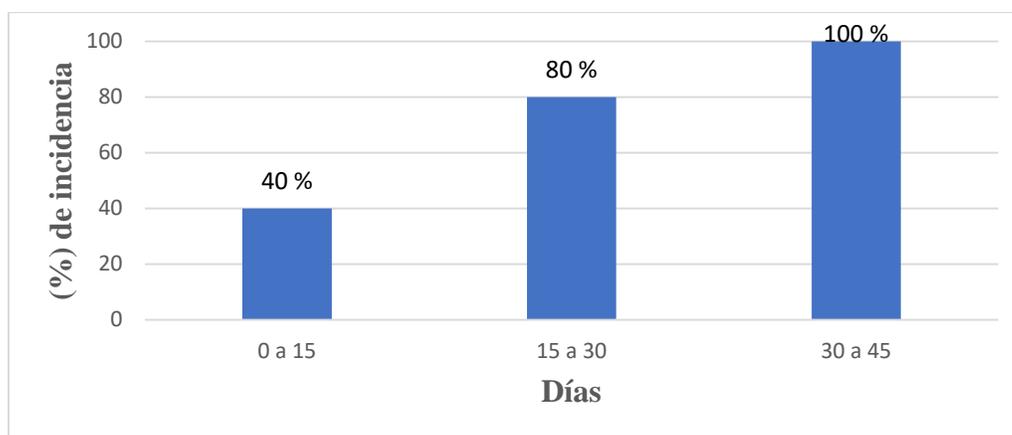


Figura 25. Porcentaje de incidencia de plantas que presentaron síntomas de antracnosis.

### 7.3.3 Sintomatología causada por *C. gloeosporioides*.

La sintomatología de *C. gloeosporioides*, cepa aislada de tejidos de hojas, se manifestó inicialmente en las hojas maduras, siendo más visibles en el ápice, bordes y la parte central de la hoja. Los síntomas muestran manchas cloróticas que luego cambian a un color café oscuro a gris. Las lesiones comúnmente presentaron borde amarillo a café rojizo muy definido que separa el tejido sano del enfermo; en la lesión se presentó hundimiento del tejido. A medida que pasaban los días, la enfermedad intensifica su daño viéndose afectadas algunas hojas jóvenes.

Cuando el hongo se ha establecido dentro del tejido foliar, a los 15 días después de la inoculación, aparece un signo característico, que son las estructuras reproductivas del hongo (acérvulos) observándose en ambos lados de la hoja, pero frecuentemente en el haz, las cuales se encuentran fuertemente adheridas y dispersas por toda la lesión en forma de puntos negros. Además conforme avanza la infección la hoja se deshidrata, mostrando a los 28 días aproximadamente, un aspecto seco o tostado que se rompe con facilidad. La defoliación en las plantas comienza a los 40 días después de ser inoculadas, ocasionado la muerte aproximadamente a los 50 días. (Figura 26). Todas las plantas inoculadas presentaron en las hojas la sintomatología antes descrita.

*C. gloeosporioides* también afecto a los nudos y entrenudos de las plantas (figura 27), mostrando manchas irregulares de color café a negro, presencia de acérvulos y hundimiento del tejido lesionado, por lo tanto se completó el ciclo de vida del hongo.

Los síntomas de la enfermedad fueron similares a las registradas en el cultivo original, por lo que se puede afirmar que hubo penetración y colonización del hongo en el tejido de las hojas de café y que el hongo es capaz de desarrollar patogenicidad. Las plantas testigos no manifestaron ningún tipo de síntoma, tampoco presentaron crecimiento del hongo, es decir, se mantuvieron sanas hasta el final del ensayo; cumpliéndose de esta manera los postulados de Koch.

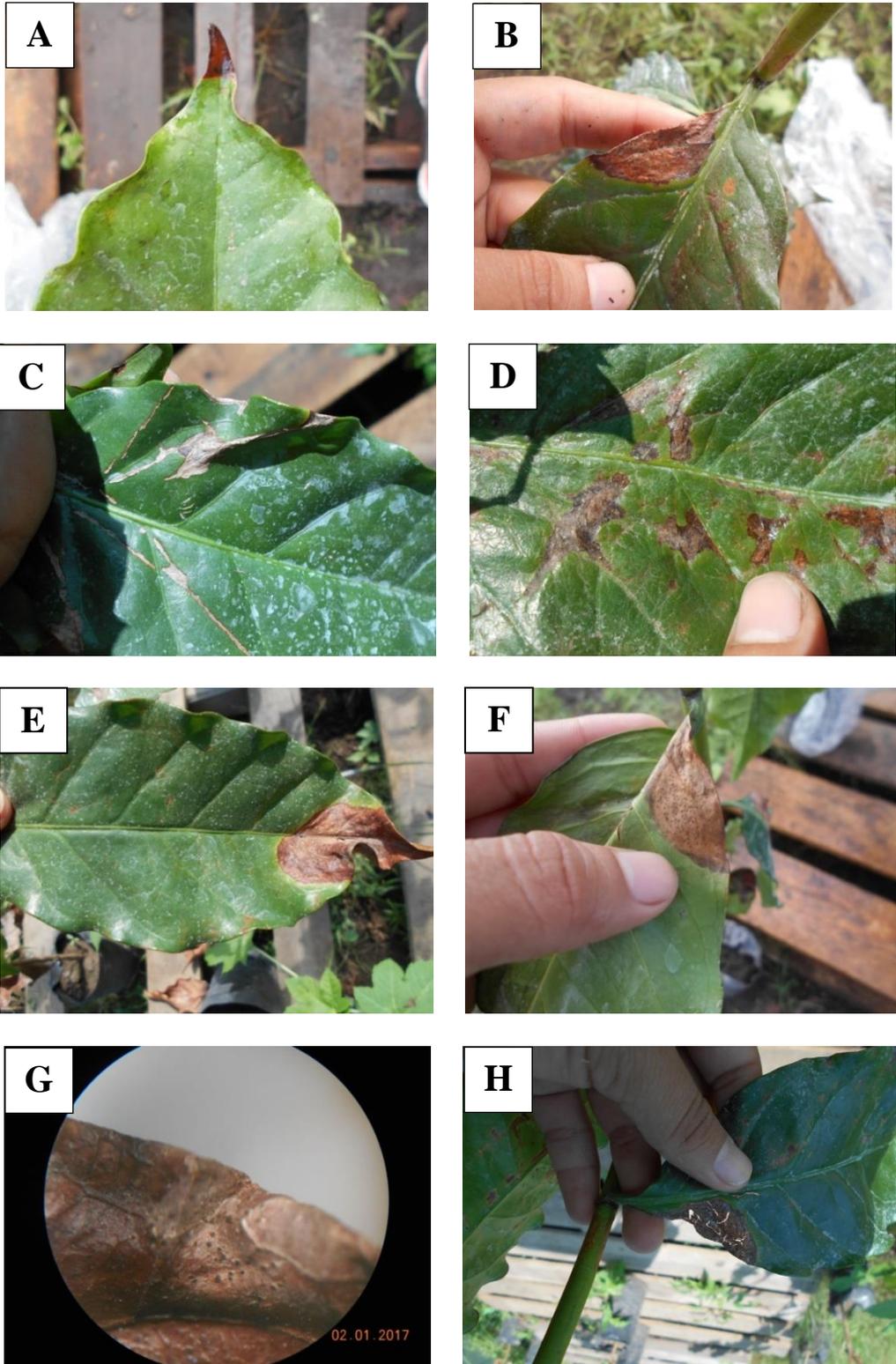


Figura 26. Sintomatología de *C. gloeosporioides* en plantas de *C. arabica* de 7 meses de edad. A) en el ápice, B) en el borde, C) y D) en el centro de la hoja, E) borde amarillo a café rojizo que separa el tejido sano del enfermo, F y G) Acérvulos en el haz y envés de la hoja, H) Hoja deshidratada con aspecto papeloso seco o tostado.



Figura 27. Sintomatología de *C. gloeosporioides*, en nudos y entrenudos de plantas de *C. arabica*.

## REASLAMIENTO

El hongo *C. gloeosporioides* fue reaislado de las hojas infectadas, de las plantas de café utilizadas en el ensayo. Confirmándose nuevamente a *C. gloeosporioides* mediante la metodología de aislamiento, identificación macroscópica, microscópica y análisis molecular (ITS).

## 8. DISCUSIÓN

En esta investigación se aislaron y caracterizaron dos cepas de *Colletotrichum* mediante morfología macroscópica y microscópica, a partir de tejidos de hojas y ramas de café lo que permitió establecer la patogenicidad de la cepa aislada de tejidos de hojas tal como lo realizó, Paresqui (2003), Freitas *et al.* 2013 y Mazariego (2017).

La identificación a nivel de especies del hongo, a partir de sus características morfológicas, no fue posible debido a la amplia variabilidad genética de *Colletotrichum*, por lo que, para ambas cepas la identificación se determinó por análisis molecular (ITS), lo cual concuerda con Rodríguez (2007), quien establece que solo las características morfológicas no permiten una identificación clara de las diferentes especies, por las variaciones morfológicas y genéticas que se presentan entre las especies de *Colletotrichum* en el cultivo del café. Asimismo, Oliva (2009), concluye que hay gran variabilidad en cuanto a caracteres morfológicos entre aislamientos de *Colletotrichum*, además recomienda utilizar otras pruebas para la determinación de especies.

Se identificaron dos especies de *Colletotrichum*, las cuales fueron; *C. gloeosporioides* y *C. theobromicola* (número de accesoión JX258732.1 y KC512126.1). Esto coincide con el primer informe de Cristóbal *et al.* (2016) que reportan la presencia de estas especies, incluyendo las siguientes: *C. gigasporum*, *C. karstii* y *C. siamense*, en hojas de café en plantaciones de México. Por otra parte, Martínez & Zambrano (1992), quienes estudiaron las variantes morfológicas de cepas del género *Colletotrichum*, asociadas al cultivo del café, en diferentes pisos altitudinales; reportan a *C. gloeosporioides* en su estado asexual y a *Glomerella cingulata*, este último es el estado sexual del hongo, ambos en muestras foliares.

Con base a lo anterior y mediante el análisis molecular de la región ITS del ADNr realizado, se puede confirmar que las especies reportadas corresponden al complejo *Colletotrichum gloeosporioides*, confirmación que es apoyada con la investigación de Weir *et al.* (2012), a través de sus análisis filogenéticos y

multigénicos, donde reportan 16 especies de *Colletotrichum* que afectan los cultivos de café, las cuales son *C. acutatum*, *C. boninense*, *C. capsici*, *C. gloeosporioides*, *C. karstii*, *C. walleri*, *C. asianum*, *C. fructicola*, *C. siamense*, *C. cuscatae*, *C. theobromicola* (sinónimo de *C. fragariae*), *C. gigasporum*, *C. costarricense*, *C. queenslandicum*, *C. kahawae*, sub sp. *kahawae*. El mismo autor reitera que el límite del complejo de especies *Colletotrichum gloeosporioides* se define genéticamente, sobre la base de un clado fuertemente compatible dentro del árbol del gen *Colletotrichum* ITS.

En relación a la caracterización morfológica de las cepas obtenidas en esta investigación, los resultados concuerdan con los reportes de Barnett & Hunter (1980) y Agrios (2005) referidos al género *Colletotrichum*, los cuales mencionan que el género presenta: conidióforos cortos y simples, conidios cilíndricos, micelio hialino y acérvulos con setas o espinas. A nivel de especie concuerda con los resultados de Smith & Black (1990), Agostin (1992), Contreras (2006) y Cristóbal *et al.* (2016) que describen una colonia de color blanco a gris claro o gris oscuro, micelio de tipo algodonoso, acérvulos, masas de conidios de color salmón y conidios unicelulares de forma cilíndrica.

Las características morfológicas de las colonias de *C. theobromicola*, en esta investigación, presentaron color anaranjado por la abundancia de masas conidiales, formación de sectores; los sectores presentaron micelio color gris y blanco en ambas caras, este resultado concuerda con los de Agostin *et al.* (1992). En contraste, Batista (2016) menciona que la especie en diferentes medios de cultivos puede presentar micelio de color gris y verdoso, también puede ser de color gris oscuro, en el frente y reverso, con abundante esporulación de color anaranjado; asimismo la colonia puede presentar en ambos lados coloración oscura, con sectores blancos. Por su parte, Rojas *et al.* (2010) y Cristóbal *et al.* (2016), mencionan que esta especie presenta en ambos lados de la colonia micelio de color gris oscuro, abundantes conidiomas con masa de conidios anaranjados.

Los conidios de *C. gloeosporioides* en esta investigación fueron de 17.31µm de

largo x 5.08  $\mu\text{m}$  de ancho. Sin embargo, se evidencia variabilidad en el tamaño de las conidias, tal como lo establecen Rodríguez (2007), que reporta conidios de menor tamaño de 12.8 x 3.7  $\mu\text{m}$ , Martínez *et al.* (2016), conidios de tamaño 13.56 - 14.24 x 4 - 4.02  $\mu\text{m}$ . Agostin *et al.* (1992), registró medidas de 9 a 24  $\mu\text{m}$  de largo y de 3 a 4.5  $\mu\text{m}$  de ancho, por su parte Oliva (2009), reporta conidias con un promedio de 14.77  $\mu\text{m}$  y ancho de 4.63  $\mu\text{m}$ , los cuales son más similares a los obtenidos en este estudio. Con relación a la forma de conidios, fueron cilíndricos y de núcleo bien definido, tanto en estos resultados como en la de los autores anteriores, lo cual concuerda con las descripciones de Barnett & Hunter (1980), Smith & Black (1990) y Weir *et al.* (2012).

Los conidios de *C. theobromicola*, en este estudio presentaron un lado redondo y otro punteado, tal como lo reporta Weir *et al.* (2012), donde establece que para esta especie predominan conidios rectos, cilíndricos, con ápices redondeados, siendo uno más estrecho que el otro, esto concuerda con lo que establece Smith & Black (1990), en su tabla de categoría de forma de conidios, Cristóbal *et al.* (2016), establece para esta especie forma sub-cilíndrica. Weir *et al.* (2012), señala que las mediciones de los conidios son de 12.4 x 5.1  $\mu\text{m}$ , mientras que en esta investigación corresponde a 17.6 x 5.06  $\mu\text{m}$ .

En cuanto al crecimiento micelial, los resultados de este estudio determinan que *C. theobromicola* fue más lento comparado con *C. gloeosporioides*, pero más rápida su capacidad de esporulación, lo que concuerda con Agostin *et al.* (1992), quienes establecen que las colonias de *C. gloeosporioides* presentan un crecimiento más rápido. El resultado de esta investigación fue de 44.50 mm a los ocho días de inoculado, Weir *et al.* (2012), con igual número de días, registro un crecimiento micelial entre 30-40 mm en PDA.

Rodríguez (2007), con similar temperatura para el crecimiento del hongo reporta que *C. gloeosporioides* asociadas al café, tiene un crecimiento rápido, de 3-6 mm/día, los resultados de esta investigación, están dentro de estos rangos, la cual fue de 5.56 mm/día. Ruiz (2016), determina que *C. theobromicola*, alcanza un

crecimiento de 30 mm a los ocho días, contrario a los resultados de esta investigación, el cual fue de 42.10 mm.

En esta investigación se encontró al género *Colletotrichum* diseminado en zonas con altitudes superiores a los 1150 msnm, altitud del lugar en la que se realizó la investigación, lo que concuerda con Martínez & Zambrano (1992) quienes establecen que el género *Colletotrichum* se encuentra distribuido ampliamente en las zonas cafetaleras con altitudes de 1000 y 1300 msnm y asociados al café en forma saprófita o parásita.

Otros autores como Góngora (1991) y Torres *et al.* (1994) en sus estudios realizados en Nicaragua, establecen que este hongo no se limita a esas condiciones, ya que la enfermedad se presenta en todas las zonas cafetaleras, desde zonas bajas y secas hasta zonas altas y húmedas. En cuanto a *C. theobromicola* generalmente está restringido a ambientes tropicales cálidos (Rojas *et al.* 2010).

En relación al periodo de incubación de *C. gloeosporioides*, los síntomas en las plantas pueden manifestarse, dependiendo de las condiciones ambientales y susceptibilidad de la planta. En esta investigación el apareamiento de los síntomas o periodo de incubación ocurrió al sexto día. En los trabajos de Gutiérrez *et al.* (2003) y Mendoza *et al.* (2008), establecen que el periodo de incubación de *C. gloeosporioides* puede comenzar desde los 7 hasta los 24 días después que ocurre la infección. Mazariego (2017), determinó que los periodos de incubación de las cepas fueron de 3 y 4 días, por lo que en este caso, concuerda más con los primeros autores.

La incidencia de la enfermedad en las plantas, es un dato útil para estudiar la velocidad y patrón de avance de la enfermedad, en este estudio se observó que al aumentar el número días, mayor es el porcentaje de plantas infectadas, ya que basto con una pequeña porción de tejido infectado, para considerar una planta con síntomas de la enfermedad, esto en consideración a la metodología de French y

Hebert (1980) quienes establecen que incidencia es el número de unidades de plantas afectadas, expresadas en porcentaje.

En la prueba de patogenicidad, los síntomas que produjo *C. gloeosporioides* en las plantas por la inoculación de la cepa aislada de hoja, concuerdan con las de Gutiérrez *et al.* (2003) y Mendoza *et al.* (2008), quienes manifestaron que el daño por *Colletotrichum*, es más evidente en las hojas maduras, siendo más visibles en el ápice, bordes y luego en la parte central de la hoja, mientras que en las hojas jóvenes infecta con mayor facilidad en la época lluviosa. Contrario a Agrios (2005) y Gonzáles *et al.* (2006), que mencionan que el desarrollo de síntomas en las hojas maduras es limitado y por lo general permanece latente hasta que algún cambio fisiológico o algún daño a los tejidos estimulen su fase patogénica.

Freitas *et al.* (2013), también contradicen los resultados de sintomatología en esta investigación, ya que en su investigación sobre la patogenicidad de *C. boninense* y un aislado de *C. gloeosporioides* en hojas de café, ambos hongos causaron necrosis en hojas jóvenes, pero no en hojas maduras. Paresqui (2003), contrasta al mencionar en sus resultados, que las plantas inoculadas con el patógeno no pueden manifestar síntomas, sin embargo, él comprobó que al reaislar tejido inoculado, el organismo penetró en los tejidos, al obtener nuevamente al patógeno. Concluyendo que el organismo puede permanecer latente y presentar relación endofítica en los tejidos de *C. arabica*.

También se comprobó con esta investigación que *C. gloeosporioides* afecto a los nudos y entrenudos de las plantas, la sintomatología fue similar a la presentada en las hojas, se observó la presencia de acérvulos por lo tanto se completa el ciclo de vida del hongo, en los estudios de Gutiérrez *et al.* (2003), mencionan que la enfermedad puede iniciar en los entrenudos, ya que el ataque puede iniciar en donde cae el inóculo y encuentra condiciones favorables para causar la infección.

Dado que en esta investigación los síntomas producidos por *C. gloeosporioides* en nudos, entrenudos y tallos son similares a los causados en las hojas, se puede afirmar que *C. theobromicola* está asociada a esta enfermedad, tal como lo

establece Freitas *et al.* (2013), al reportar que *C. boninense* y *C. gloeosporioides* reproducen síntomas comunes, característicos de la enfermedad, por lo tanto, las estrategias de control deben considerar la ocurrencia de *C. theobromicola*.

El hongo posiblemente actuó como un oportunista, el hecho de no haber fertilizado a las plantas durante el ensayo probablemente fue un factor que produjo deficiencia nutricional, por lo tanto favoreció la susceptibilidad de la planta a la enfermedad, este resultado concuerda con Mendoza *et al.* (2008), quienes manifiestan que deficiencias nutricionales de elementos (N, P, K, B y Zn), factores ambientales (lluvia, temperatura y humedad relativa), ataques de plagas y enfermedades, suelos pobres en materia orgánica, estrés hídrico etcétera, son factores que favorecen la enfermedad.

La variedad Bourbon fue susceptible a *C. gloeosporioides*, lo cual concuerda con Guerra (2004), Mendoza *et al.* (2008), quienes reportaron que la enfermedad ataca diversas variedades de café, pero es más susceptible en la variedad bourbon. Ferreira *et al.* (2009), inóculo *C. gloeosporioides* sobre hojas de café, variedad Catuai Red, reportando síntomas similares a los resultados de esta investigación y confirma que la Var. Catuai Red es susceptible a la enfermedad.

*C. theobromicola* es una especie que se ha reportado como agente causal de antracnosis en diferentes especies de plantas como *Fragaria* sp, *Stylosanthes* sp, *Theobroma cacao* y *Coffea arabica* (Rojas *et al.* 2010, Weir *et al.* 2012 y Martínez *et al.* 2016), otros investigadores como James *et al.* (2014), reportan que *C. theobromicola* fue identificado a partir de dos plantas de *C. arabica*, en ubicaciones geográficamente diferentes y asociadas con síntomas de la enfermedad, pero que actualmente no hay evidencia en el literatura que indique que esta especie sea un patógeno de cultivo de café, mientras que Cristóbal *et al.* (2016), mencionan que esta especie es un posible patógeno del café.

En El Salvador *C. kahawae* no ha sido reportada. Sin embargo, es de preocuparse porque tiene importancia comercial porque afecta al fruto y ocasiona sintomatología semejante a *C. gloeosporioides* (Cristóbal *et al.* 2016).

## 9. CONCLUSIONES

A partir de la caracterización morfológica y el análisis molecular de la región ITS del ADNr se logró identificar a las especies *C. gloeosporioides* aislada de hojas y *C. theobromicola* aislada de ramas de café (*Coffea arabica*).

Las especies identificadas *C. gloeosporioides* y *C. theobromicola* corresponden a un 99% de similitud con secuencias depositadas en el GenBank, se recomienda utilizar la técnica molecular ITS en futuras investigaciones para la identificación de especies.

Para El Salvador, este es el primer informe donde se describen y reportan dos especies causantes de antracnosis en el cultivo de café, ambas correspondientes al género *Colletotrichum*: *C. gloeosporioides* antracnosis foliar y *C. theobromicola*, antracnosis en rama.

Se encontró variabilidad morfológica tanto a nivel macroscópico como a nivel microscópico de *C. gloeosporioides* y *C. theobromicola*, siendo más evidente en la forma y color de la colonia, en el micelio y en el tamaño de las conidias.

La caracterización macroscópica y microscópica, sumada con la prueba de patogenicidad, será de gran utilidad para la selección de variedades de café con tolerancia o resistencia a *Colletotrichum* spp.

Se constató que la cepa de *C. gloeosporioides* inoculada sobre plantas de la Var. Bourbon de 7 meses de edad es patogénica, comprobando los postulados de Koch, ya que se obtuvo una incidencia del 100% bajo condiciones de ambiente controlado.

El ciclo de vida de *C. gloeosporioides* inicia con un periodo de incubación de 6 días donde muestra los primeros síntomas y el periodo de latencia comienza desde el día 6 hasta el día 15, donde produce estructuras reproductivas.

El porcentaje de incidencia de *C. gloeosporioides* es proporcional al tiempo, posterior a la inoculación; y es suficiente un periodo de 45 días para evidenciar y evaluar el ciclo de la antracnosis en plantas de café.

La sintomatología en plantas de café de la variedad Borbón, es típica de la antracnosis provocada por *Colletotrichum*, iniciando en las hojas maduras, desde el borde hasta el centro de la lámina, afectando también a los nudos, entrenudos y tallos.

Con la prueba de patogenicidad, se comprobó que *C. gloeosporioides* es capaz de producir la enfermedad de manera independiente en varias partes de la planta, afectando nudos, entrenudos, tallos y las hojas en plantas de café.

## 10. RECOMENDACIONES

Realizar estudios similares en otras fincas o regiones del parque cafetalero que permitan confirmar la presencia de las especies reportadas en este estudio, con el fin de controlar la antracnosis.

Continuar las evaluaciones de patogenicidad de *C. gloeosporioides* y *C. theobromicola* en diferentes órganos (ramas, flores, frutos verdes y maduros), estados fenológicos, variedades y estrato altitudinal del cultivo de café.

Caracterizar las especies de *C. gloeosporioides* con respecto a sintomatología en diversos hospederos o aplicando otras técnicas moleculares como análisis filogenéticos y multigénicos, para la identificación a nivel de especies y mantener una base de datos microbiana más específica.

En las pruebas de patogenicidad, mantener las tarimas con las plantas a mayor altura, con el fin de evitar que patógenos del suelo alteren los resultados esperados.

Elaborar manuales ilustrativos de la sintomatología provocada por *C. gloeosporioides*; que facilite su detección y poder promover estrategias de control y manejo integrado de la enfermedad, tomando como base estos resultados.

Realizar estudios sobre variantes morfológicas de aislamientos del género *Colletotrichum*, asociadas al cultivo del café.

Realizar comparaciones entre las fincas certificadas versus fincas sin certificación con el propósito de evaluar el efecto del manejo sobre la incidencia de antracnosis.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press. San Diego, C.A, USA
- Agostin, J. P, Timer, L. W & Michell, D. J. 1992. Morphological and pathological characteristics of strains of *Colletotrichum gloeosporioides* from citrus. *Phytopathology* 82: 1377-1382 pp.
- Alarcón, A. L. 2012. Caracterización morfológica y molecular de *Colletotrichum* spp. asociadas a la antracnosis de *Lupinus mutabilis* (chocho) y *Solanum betacea* (tomate de árbol) en tres provincias del Ecuador. Ingeniería en Biotecnología. Departamento de Ciencias de la Vida. Escuela Politécnica del Ejército.
- [ANACAFE] Asociación Nacional del Café. 2006. Guía técnica de caficultura. Guatemala. 213 p.
- Baquero, M. J. & L. M. Pérez. 2002. Identificación y Caracterización de *Colletotrichum* spp. como agente causal de antracnosis en *Dioscorea* spp. Programa de Biología. Facultad de Ciencias y Educación. Universidad de Sucre.
- Barnett, H.L. & B.B. Hunter. 1980. Illustrated genera of imperfect fungi 3er. ed. Burgess Publishing Company, Minnesota. 241pp.
- Batista, L. R. 2016. Caracterización de *Colletotrichum* spp. el agente causal de antracnosis en los cultivos del Maracuya (*passiflora edulis* Sim f. *favicarpa* Deg) y de la granada (*Punica granatum*) en la región Nor este de Brasil.
- Cadena, G. & A. Gaitán. 2006. Las enfermedades del café: logros y desafíos para la caficultura colombiana del siglo XXI. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. Costa Rica. 77: 89-93
- Castaño, J. 2002. Principios básicos de fitoepidemiología. Primera Edición. Universidad de Caldas.

Castellanos, G., C. Jara. & G. Mosquera. 2011. Guías prácticas de laboratorio para el manejo de patógenos del frijol. *Colletotrichum lindemuthianum* Enfermedad: Antracnosis. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). (3): 3-39. Disponible en: [http://ciat.cgiar.org/wp-content/uploads/z/04/guia\\_practica3.pdf](http://ciat.cgiar.org/wp-content/uploads/z/04/guia_practica3.pdf)

[CSC] Consejo Salvadoreño del Café. 2013. El Cultivo del Café en El Salvador. Disponible en: <file:///C:/Users/Administrador/Downloads/el%20cultivo%20del%20cafe%20en%20el%20salvador%202013.pdf>

Contreras, C. A. 2006. Caracterización y pruebas de patogenicidad cruzada entre aislamientos de *Colletotrichum* spp. obtenidos de frutos de lulo (*Solanum quitoense*), tomate de árbol (*Solanum betacea* Sendt), granadilla (*Passiflora ligularis* Juss), mango (*Mangifera indica* L) y tallos de mora (*Rubus glaucus* Benth) con síntomas de antracnosis. Microbiología Agrícola y Veterinaria. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá Colombia.

Cristóbal-Martínez A, Yáñez-Morales M, Solano-Vidal R, Segura-León O & Hernández-Anguiano A. 2016. Diversity of *Colletotrichum* species in coffee (*Coffea arabica*) plantations in Mexico. European Journal of Plant Pathology. 147:605-614. Disponible: <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-016-1029-0>

Fernández, V. 1996. Introducción a la Fitopatología. INTA. Buenos Aires. Argentina. 435-440 pp.

Freitas R. L., E. Maciel-Zambolim., L. Zambolim., DT Lelisy ET Caixeta, UP Lopes y OL Pereira. 2013. *Colletotrichum boninense* causando antracnosis en cafetales en Brasil. Volume 97, Number 9. 1255 pp.

French, E. R. & T. T. Hebert. 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. San José. Costa Rica. 47-190p.

- Freeman, S. & T. Katan. 1997. Identification of *Colletotrichum* Species Responsible for Anthracnose and Root Necrosis of Strawberry in Israel. Department of Plant Pathology. Vol. 87 (5), 516- 521 p.
- Fuentes, C. & J. L. Blanco, 2007. Los postulados de Koch: Revisión histórica y perspectiva actual. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias. 1 (2): 262-266.
- Flora de Nicaragua. 2017. Tropicos.org.. Missouri Botanical Garden [Internet]. 4344 Shaw Boulevard - Saint Louis, Missouri 63110. [Consultado el 22 May. 2016]. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/27900016>
- Gil, L. F., V. M. Varzea. & M. D. Silva. 2002. La enfermedad de las cerezas del café –CBD- causada por *Colletotrichum kahawae*. CENICAFE. Avances técnicos. Disponible en: <http://infocafes.com/descargas/biblioteca/219.pdf>
- Gilchrist-Saavedra. L., G. Fuentes-Dávila., Martínez-Cano. C., López- Atilano.R., Duveiller. E., Singh. M. H. & A. García. 2005. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. Segunda edición. México, D.F.: CIMMYT.
- Góngora, G.J. 1991. Reconocimiento y distribución de las principales enfermedades fungosas que afectan al cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en el departamento de Matagalpa, Región VI, Nicaragua. Tesis de Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 89 p.
- Gonzales, M. H., Barrios. G., Rovesti L & Santos R. 2006. Manejo Integrado de Plagas Manual Práctico. Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV). Cuba. 75-77pp.
- Guerra, B. D. 2004. Experiencias del manejo de las enfermedades fungosas presentes en el cultivo de café, en finca de pequeños caficultores en la aldea la Montaña, Moyuta, Jutiapa. Instituto de Investigaciones Agronómicas. Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Guharay, F., J. Monterrey., D. Monterroso & CH. Staver. 2000. Manejo Integrado de Plagas en el Cultivo de Café. 1<sup>ra</sup> ed. CATIE. Managua, Nicaragua. 267 pp.
- Gutiérrez, Y., M. Barrios., P. Moraga. & A. Monzón. 2003. Antracnosis, seria amenaza. Boletín informativo n°2: Grupo Café Nicaragua. Managua, Nicaragua. 13 p.
- Harp, T.L., Pernezny, K., Lewis Ivey M.L. Miller, S.A. Kuhn, P.J., Datnoff L. 2008. The etiology of recent pepper anthracnose outbreaks in Florida. Crop Protection 27: 1380-1384.
- Hood, R., & R. N. Steward. 1997. Factors affecting symptoms expression in *Fusarium* wilt of *Dianthus*. Phytopathology.
- James, R.S., Ray, J., Tan, Y. P & Shivas, R.G. 2014. *Colletotrichum sianense*, *C. theobromicola* and *C. queenslandicum* from several plant species and the identification of *C. asianum* in the Northern Territory, Australia. Australia an Plant Disease Notes. 9(1) , 1-6.
- Jeffries, P., J. C. Dodd., M. J. Jeger & R. A. Plumbley. 1990. The Biology and control of *Colletotrichum* species on tropical crops. Plant Pathology. (39): 343- 366.
- [MARN] Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2016. Perfil Climatológico Anual 2015-2016. El Salvador.
- Marulanda, A., I. Isaza & A.M. Ramírez. 2007. Identificación de la especie de *Colletotrichum* responsable de la antracnosis en la mora de castilla en la región cafetera en Colombia. Grupo de biodiversidad y biotecnología. Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Tecnológica de Pereira. 585-590 p
- Martínez, M. & C. Zambrano. 1992. Variantes morfológicas de cepas del género *Colletotrichum*, asociadas al cultivo del café *Coffea arabica*, L. en

diferentes pisos altitudinales de la región centro occidental de Venezuela. *Agronomía Tropical*. 44 (4): 567-577.

Martínez. E., Barrios. G., Rovesti. L., Santos. R. 2006. Manejo Integrado de Plagas. Manual Práctico. Antracnosis del café (*Colletotrichum gloeosporioides* [Penz.] Sacc.) – Anamorfo (*Glomerella cingulata* [Stonem.] Spauld. y Schrenk) – Teleomorfo. 75-77 pp.

Mazariego, G. 2017. Aislamiento y patogenicidad de poblaciones de *Colletotrichum* spp. causante de antracnosis en El Salvador. Presentación. Gerencia CENTA-Café. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Disponible en: <file:///C:/Users/Administrador/Downloads/10%20Gabriela%20Mazariegos%20.pdf>

Mendoza, R., A, Monzón., I, Herrera., Y, Gutiérrez & C. López. 2008. La antracnosis del café (*Colletotrichum* spp.), un grave problema fitosanitario en plantaciones cafetaleras. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*. Costa Rica. No. 79-80. 108-116 p.

[NCBI] National Center for Biotechnology Information. 2017. Caracterización Molecular por ITS. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> [Consultado el 22 de may. del 2017).

Noack, F. 1902. Las manchas de las hojas de los cafetos. San Pablo, Brasil, *Boletín da Agricultura*.

Oliva, P. C. 2009. Caracterización morfológica, patogénica y bioquímica de aislamientos de *Colletotrichum* spp. asociados al cultivo de café (*coffea arabica*) en Guatemala. Instituto de Investigaciones Agronómicas. Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala.

Ortiz-Romero, N., S. Ayvar-Serna., A. Mena-Barrera & J.A. Alcántara-Jimene. 2014. Etiología, incidencia y severidad de enfermedades fúngicas foliares del cultivo de café. *Foro de Estudios sobre Guerrero*. 1(1): 59-65.

- Orozco, E. F. 2003. Caracterización morfológica, molecular, bioquímica y patógena de aislados de *Colletotrichum* spp. asociados al café en Minas Gerais en comparación con *Colletotrichum kahawae*. Tesis doctorado, Minas Gerais, Brasil, UFLA.
- Pérez, L. M., M.J Sarquero & J. D. Beltran. 2003. Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp. como agente causal de la antracnosis en ñame *Dioscorea* sp. Revista Colombiana de Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. (5): 24-35p. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77650104>
- Perfect E.S., Hughes B. H., Ó Connell J. R & Green R. J. 1999. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. Fungal Genetics and Biology 27: 186-198.
- Paresqui, L. 2003. Patogenicidad de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. en café (*Coffea arabica* L.). Tesis presentada a la Universidad Federal de Viçosa Minas Gerais Brasil. Para obtener título de "Magister Scientiae".
- [PROCAFE] Fundación Salvadoreña para Investigaciones del café. 1997. Manejo integrado de la Antracnosis del cafeto causada por el hongo *Colletotrichum* sp. Boletín Técnico. Santa Tecla, La libertad, El Salvador, C.A.
- [PROCAFE] Fundación Salvadoreña para Investigaciones del café. 2014. Diagnóstico de la caficultura de El Salvador. Santa Tecla, La libertad, El salvador, C.A. Disponible en: <http://www.procafe.com.sv/menu/ArchivosPDF/2015/Diagnostico%20de%20a%20Caficultura%202014.pdf>
- [PROCAFE] Fundación Salvadoreña para Investigaciones del café. 2001. Manual del caficultor. Santa Tecla, La libertad, El salvador, C.A.
- Ramos, C., B. Alegría., R. Rodríguez & M. Martínez. 2010. Guía para la innovación de la caficultura de lo convencional a lo orgánico. FUNDESYRAM. San Salvador. El Salvador. 11- 12 p.

- Reyes, D.J. 2006. Evaluación de alternativas para el manejo de antracnosis (*Colletotrichum* spp) en el cultivo del café (*Coffea arabica* L) en fincas de los departamentos de Carazo, Granada y Masaya. Departamento de Protección Agrícola y Forestal. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua.
- Reyes-Amado & Morales-García. 2007. Determinación de la temperatura óptima de desarrollo in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. en aguacate “hass”, en la zona aguacatera de Michoacán, México. ISBN No 978-956-17-0413-8.
- Rodríguez, A. F. 2007. Caracterización molecular de poblaciones de *Colletotrichum* spp. asociadas a *Coffea arabica* en Colombia y su aplicación en el diagnóstico del CBD. Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C.
- Rojas E. I., Rehner S. A., Samuels G. J., Van Bael S. A., Herre E. A., Cannon, P. F., Chen, R., Pang, J., Wang, R., Zhang, Y., & Sha, T. (2010). *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panama: multilocus phylogenies distinguish pathogen and endophyte clades. *Micología* 102 (6): 1318–1338.
- Ruiz, C. 2016. Distribución y frecuencia de *Colletotrichum* spp. en la fruta de papaya (*Carica papaya* L.) híbrido ‘Pococí’ en las zonas productoras de Parrita, Guácimo y San Carlos. Universidad de Costa Rica. Facultad de Ciencias Agroalimentaria. Escuela de Agronomía.
- Smith, B. J & L. L. Black. 1990. Morphological, Cultural and Pathogenic Variation Among *Colletotrichum* Species isolated from Strawberry. *Plant disease* 1(74): 69-76p
- Than, P. P., H. Prihastuti., S. Phoulivong., P. W. Taylor & K. D. Hyde. 2008. Chili anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. *Journal of Zhejiang University Science*. 9 (10): 764- 778.

- Torres, C. M., Y. Gutiérrez., D. Monterroso & J. Góngora. 1994. Síntomas causados por *Colletotrichum* spp. en café en Nicaragua. Revista Manejo Integrado de Plagas No. 32. 8-11pp.
- Van de Graaf, P., M. E. Joseph., M. J. Chartier-Hollis. & T. M. O' Neill. 2002. Prepenetración stages in infection of clematis by *Phoma clematidina*. Plant pathology. Vol 51. 331-337 pp. Consultado: 04 de jun de 2016. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/230136218\\_Prepenetration\\_stages\\_in\\_infection\\_of\\_Clematis\\_by\\_Phoma\\_clematidina\\_Plant\\_Pathol](https://www.researchgate.net/publication/230136218_Prepenetration_stages_in_infection_of_Clematis_by_Phoma_clematidina_Plant_Pathol)
- Waller, J.M., P.D Bridge., B. Black. & G. Hakiza. 1993. Characterization of the Coffe Berry Disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* sp. nov. Mycological Research. 97 (8): 989-994.
- Weir, B. S., Johnston, P.R, & Damm, U. 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. Studies in Mycology. 73:115-180. Disponible: [www.studiesinmycology.org](http://www.studiesinmycology.org)

#### COMUNICACIÓN PERSONAL

- Mazariego, E. 2017. Ing. Agrónomo. Técnica Investigadora de la División CENTA-CAFÉ. [Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal "Enrique Álvarez Córdova"] CENTA. Km.33.5 carretera a Santa Ana, Ciudad Arce, La libertad. El salvador.
- Martínez, F. 2016. Mandador de la Finca San Pedro. Empresa Exportadora (COEX). Santa Ana. El salvador.

## ANEXOS

Anexo 1. Hoja de registro de aspectos de morfología macroscópica de *Colletotrichum*, aislada del tejido de hoja de *C. arabica*.

Repet.	Color de la colonia	Patrón de crecimiento	Contorno de la colonia	Tipo de micelio	Aspecto del micelio	Coloración del fondo o revés de la colonia
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						

Anexo 2. Hoja de registro de aspectos morfología macroscópica de *Colletotrichum*, aislada del tejido de rama de *C. arabica*.

Repet.	Color de la colonia	Patrón de crecimiento	Contorno de la colonia	Tipo de micelio	Aspecto del micelio	Coloración del fondo o revés de la colonia
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						

Anexo 3. Hoja de registro del crecimiento micelial de *Colletotrichum*, aislada del tejido hoja de *C. arabica*.

Repet. Cepa 1 (hoja)	RADIOS				PROMEDIO
	a	b	c	d	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

Anexo 4. Hoja de registro del crecimiento micelial de *Colletotrichum*, aislada del tejido rama de *C. arabica*.

Repet. Cepa 2 (rama)	RADIOS				PROMEDIO
	a	b	c	d	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

Anexo 5. Categoría de formas de las conidias de *Colletotrichum* spp. (Smith & Black 1990).

<b>Forma</b>	<b>Descripción</b>
Falcada	Lados ahusados en ambos extremos.
Fusiforme	Lados rectos, con un extremo punteado y el otro redondo.
Cilíndrica	Lados rectos y ambos extremos redondeados.

## Anexo 6



UNIVERSIDAD DE  
COSTA RICA

Centro de Investigaciones  
en Protección de Cultivos

Laboratorio de  
Técnicas Moleculares  
aplicadas a la Fitoprotección



16 de noviembre 2017

TM-501

Señorita,  
Yanci Angel  
Universidad de San Salvador

Características de la muestra:

**Género/especie/variedad:** hongos aislados

**Recolectada por:** se ignora

**Cláusula:** ninguna

El análisis del ADN se realizó a partir de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). Se analizó la región ITS del ADNr. Los resultados fueron confirmados mediante electroforesis en gel de agarosa (0.8%). La secuenciación se realizó mediante producto de PCR purificado a una concentración de 50 ng/μl. Los resultados pueden ser enviados como archivos adjuntos al correo electrónico si son solicitados, incluyendo los cromatogramas.

Los resultados según el BLAST (GenBank-NCBI) muestran los siguientes resultados:

ID: #HM, para un total de 1402 bases analizadas, 1396 corresponden a un 99% de similitud con muestras de *Colletotrichum gloeosporioides* (número de accesoión JX258732.1).

ID: #RR, para un total de 1402 bases analizadas, 1396 corresponden a un 99% de similitud con muestras de *Colletotrichum gloeosporioides* (número de accesoión JX258732.1).

ID: #RAMA, para un total de 1402 bases analizadas, 1396 corresponden a un 99% de similitud con muestras de *Colletotrichum theobromicola* (número de accesoión KC512126.1).

Atentamente,



Dra. Mónica Blanco Meneses

Laboratorio de Técnicas Moleculares Aplicadas a la Fitoprotección

Anexo 7. Mediciones de cepas de *Colletotrichum*

mediciones	Cepa 1 (aislada de hoja)		Cepa 2 (aislada de rama)	
	Largo	Ancho	Largo	Ancho
1	16.18	4.24	14.38	3.17
2	22.29	4.95	15.02	4.47
3	14.39	3.15	14.35	3.27
4	15.04	4.67	16.83	5.49
5	15.73	5.02	20.91	6.01
6	18.30	6.61	21.11	6.37
7	14.37	4.99	14.43	3.84
8	16.76	5.61	16.97	5.21
9	22.79	6.59	14.25	3.46
10	17.19	5.90	15.87	6.58
11	16.69	5.63	20.07	6.21
12	14.29	4.81	15.94	4.54
13	16.18	4.36	17.98	5.37
14	14.42	3.17	16.93	5.23
15	15.12	5.10	20.82	6.01
16	16.01	5.86	17.63	5.45
17	14.61	3.27	14.38	5.15
18	19.47	5.36	15.93	4.23
19	18.53	5.42	15.42	4.37
20	18.11	3.12	18.92	5.54
21	19.28	5.41	21.02	6.11
22	21.07	6.55	17.49	5.27
23	18.61	5.96	16.93	5.34
24	17.62	6.67	16.94	5.34
25	18.77	6.78	15.96	5.59
26	16.68	4.24	14.48	3.17
27	21.29	6.95	15.62	4.97
28	14.39	3.15	14.65	3.97
29	14.44	4.67	16.30	5.49
30	14.81	4.02	20.21	6.25
31	16.30	5.61	21.00	6.19
32	14.57	4.88	14.63	3.64
33	17.76	5.31	16.67	5.21
34	21.23	6.39	14.65	3.98
35	17.22	4.12	15.97	5.38
36	17.00	5.73	21.67	6.31
37	14.20	4.81	15.44	4.14
38	16.13	4.56	16.88	5.37
39	14.32	3.17	17.03	5.23

40	15.12	5.10	19.72	5.01
41	18.01	5.86	18.93	5.45
42	14.29	3.57	15.38	5.15
43	19.37	4.63	14.90	4.23
44	18.13	5.42	15.92	4.37
45	29.12	6.21	18.28	5.54
46	17.08	3.41	21.00	6.11
47	19.01	5.55	17.99	5.20
48	19.00	5.96	16.64	5.34
49	17.06	6.69	16.94	5.14
50	17.17	4.69	15.70	4.75
<b>Promedio</b>	<b>17.31</b>	<b>5.08</b>	<b>17.06</b>	<b>5.06</b>

## GLOSARIO

**Acérvulo:** cuerpo fructífero asexual, subepidérmico, en forma de plato que produce conidios en conidióforos cortos.

**Aislado:** una sola espora o cultivo y los cultivos que se derivan de ellos. Se utiliza también para indicar las colecciones de un patógeno obtenidas a diferentes tiempos.

**Aislamiento:** separación de un patógeno a partir de su hospedante y su cultivo en un medio nutritivo.

**Antracnosis:** enfermedad que se manifiesta como lesiones negras profundas de la hoja, tallo o fruto y que es causada por hongos que producen sus esporas asexuales en un acérvulo.

**Apresorio:** extremo hinchado de una hifa o tubo germinativo que facilita la fijación y penetración de un hongo en su hospedante.

**Asca:** célula en forma de saco de una hifa que pasa por meiosis y que contiene a las ascosporas (por lo común, ocho).

**Biótrofo:** organismo que puede vivir y multiplicarse solamente en otro organismo vivo.

**Cepa:** progenie de un solo aislamiento en un cultivo puro; aislado; grupo de aislados similares; una raza. En los virus de las plantas, es un grupo de aislados virales que comparten en común la mayoría de sus antígenos.

**Clamidospora:** espora asexual de pared gruesa que se forma por la modificación de una célula de las hifas de un hongo.

**Clorosis:** amarillamiento de los tejidos normalmente verdes, debido a la destrucción de la clorofila o a la imposibilidad de sintetizarla.

**Conidio:** espora asexual de un hongo formada en el extremo de un conidióforo. Estructura resultante de la reproducción asexual de los hongos.

**Conidióforo:** hifa especializada sobre la cual se forman uno o más conidios.

**Enfermedad:** cualquier mal funcionamiento de las células y tejidos del hospedante, que resulta de la irritación continúa por un agente patogénico o factor ambiental y que lleva al desarrollo de síntomas.

**Enfermedad infecciosa:** enfermedad que es causada por un patógeno y que se desplaza desde una planta enferma hasta una sana.

**Fitopatógeno:** microorganismos que producen enfermedades en las plantas.

**Haustorio:** proyección de hifas de un hongo que actúa como órgano de absorción en las células del hospedante.

**Hifa:** ramificación simple de un micelio.

**Hospedante:** planta que es invadida por un parásito y de la cual éste obtiene sus nutrientes.

**Infección:** establecimiento de un parásito dentro de una planta hospedante.

~ latente: etapa en la que un patógeno infecta a su hospedante sin que este último muestre síntoma alguno.

**Inoculación:** arribo o transferencia de un patógeno sobre su hospedante.

**Inocular:** mecanismo por el que se pone en contacto un patógeno con una planta hospedante o con un órgano de ésta.

**Inóculo:** partes de los patógenos que entran en contacto con el hospedante.

**Intercelular:** que se localiza entre las células.

**Intracelular:** que se localiza dentro de las células.

**Invasión:** disseminación de un patógeno en su hospedante.

**Lesión:** daño sufrido por una planta debido al ataque de un animal o de un agente físico o químico.

**Micelio:** hifa o masa de hifas que constituyen el soma de un hongo.

**Micrómetro ( $\mu\text{m}$ ):** unidad de longitud que equivale a una milésima parte de un milímetro.

**Muerte descendente:** muerte progresiva de retoños, ramas y raíces que por lo general se inicia en la parte superior de la planta.

**Necrótico:** muerto y decolorado

**Necrosis:** síntoma de enfermedad en las plantas caracterizado por la muerte prematura de las células de un tejido u órgano.

**Patogenicidad:** capacidad que tiene un patógeno para producir enfermedad.

**Patógeno:** organismo que causa enfermedad.

**Período de incubación:** período comprendido entre la penetración de un patógeno en su hospedante y la aparición de los primeros síntomas en este último.

**Raza:** en una especie, grupo de apareamiento genéticamente distinto (con frecuencia también en el aspecto geográfico) // Grupo de patógenos que infectan a una serie dada de variedades de plantas.

**Signo:** patógeno, sus partes o productos que se observan sobre una planta hospedante.

**Síntoma:** reacción o alteración interna y/o externa que sufre una planta como resultado de su enfermedad.

**Susceptibilidad:** incapacidad de una planta para resistir el efecto de un patógeno u otro factor perjudicial.

**Tejido:** conjunto de células de estructura similar que llevan a cabo una función especial.

**Latente:** organismo que no induce la aparición de síntomas en su hospedante.