

## Caracterización de agentes causales de enfermedades en el cultivo de mora (*Rubus glaucus*) en la finca manantial en la vereda Sabaneta, municipio de La Vega, Cundinamarca

Characterization of causal disease agents of blackberry crop (*Rubus glaucus*) in the Manantial Farm, in Sabaneta Pathway, municipality of La Vega, Cundinamarca

Diana Marcela Hernández Pachón<sup>1</sup>, Sandra Milena Árdila Panesso<sup>1</sup>, Jeimy Sofía Díaz Jiménez<sup>1</sup>, María Alejandra Perilla Gómez<sup>1</sup>, Danny Daniel Cubillos Pedraza<sup>1\*</sup>, Johan Camilo Serrano Sánchez<sup>1</sup>, María Fernanda Quesada Pacheco<sup>1</sup> & Nancy Lorena Pulido Ortiz<sup>1</sup>

Cómo citar: Hernández-Pachon, D. M., Árdila- Panesso, S. M., Díaz-Jiménez, J. S., Perilla-Gómez, M. A., Cubillos-Pedraza, D. C., Serrano-Sánchez, J. C., Quesada-Pacheco, M. F., y Pulido-Ortiz, N. L. (2018). *Revista Ciencias Agropecuarias*, 4(1) 9-17. DOI: 10.36436/24223484.239

**Resumen** El cultivo de mora constituye alternativas productoras de exportación y elaboración de subproductos a nivel nacional. Sin embargo, este cultivo es susceptible a diversos patógenos que inciden en la calidad y rentabilidad del producto. Por tanto, el objetivo de la investigación fue caracterizar los agentes patógenos en el cultivo de mora. Este estudio se realizó en la finca El manantial en el municipio de la Vega, Cundinamarca. Se llevó a cabo un muestreo sistemático del 10% del total de plantas de mora observando signos y síntomas. Las muestras recolectadas se sometieron al diagnóstico por impronta directa y cámara húmeda; encontrando una incidencia del 34,8% de *Collectotrichum*; 18% de *Alternaria*, y 15,8% de *Oidium*. También se aislaron agentes patógenos como *Peronospora*, *Botrytis*, *Phoma*, entre otros. De los microorganismo observados, fueron aislados *Collectotrichum sp* y *Fusarium sp* para evaluar el control químico y biológico a partir de tres tratamientos T:O (Oxicloruro de cobre), T:N (Nistatina) y T:T (*Trichoderma harzianum*) a concentraciones de 1:10 y 1:20. Dichos tratamientos fueron sometidos a un análisis de varianza, concluyendo que la mejor concentración es de 1:10 para los tres tratamientos. Por otro lado, se realizó una comparación de inhibición de acuerdo con la escala de Elías y Arcos (1984) y se observó que el tratamiento biológico es más efectivo teniendo grados de afectación superiores a la escala. Por tanto, el tratamiento con *Trichoderma harzianum* como biocontrolador podría ser una alternativa sustentable en el control de agentes fitopatógenos en el cultivo de mora.

**Palabras clave:** Pudrición del fruto, Mildeo polvoso, Mildeo veloso, Antracnosis, Antagonismo.

**Abstract.** Blackberry crops represent an exportation alternative and production of by-products at national level. However, this specie is highly susceptible to various phytopathogens that affect the quality and profitability of the product. Therefore, the objective of the research was to characterize the pathogens in the blackberry's cultivation. This study was carried out in the "El manantial" farm located in the municipality of La Vega, Cundinamarca. A systematic sampling of 10% of total blackberry plants was carried out observing signs and symptoms. The samples collected were diagnosed by direct imprinting and by using a wet chamber. We found an incidence of 34.8% of *Collectotrichum*; 18% of *Alternaria*, and 15.8% of *Oidium*. Pathogens such as *Peronospora*, *Botrytis*, *Phoma*, among others were identified. Between microorganisms observed, *Collectotrichum sp* and *Fusarium sp* were isolated to evaluate their effect as chemical and biological controls from three treatments T:O (Copper oxychloride), T:N (Nystatin) and T:T (*Trichoderma harzianum*) at concentrations of 1:10 and 1:20. These treatments were subjected to an analysis of variance, concluding that the best concentration was 1:10. On the other hand, an inhibition comparison was made according to the scale of Elías and Arcos (1984). It was observed that the biological treatment was more effective with degrees of affectation superior to the scale. Therefore, treatment with *Trichoderma harzianum* as a biocontrol might be a sustainable alternative for phytopathogenic control in blackberry crops.

**Key words:** Fruit rot, Powdery mildew, Hairy mildew, Anthracnose, Antagonism.

### INTRODUCCIÓN

En Colombia el cultivo de mora es empleado para la exportación y la elaboración de productos procesados destinados al consumo nacional (1), siendo un cultivo que provee alternativas de producción a pequeños y grandes productores (2). "Colombia produce aproximadamente 100 mil toneladas/año de mora de Castilla *Rubus glaucus* (Benth). Los departamentos de Cundinamarca, Santander, Huila y Antioquia son los mayores productores, con cerca del 70% de la cosecha nacional" (3).

A su vez, este cultivo es afectado por enfermedades que deterioran su rendimiento y productividad, dentro de las cuales se encuentra la Pudrición del fruto, Antracnosis del fruto, Mildeo polvoso, Mildeo veloso, entre otras. La pudrición del fruto o moho gris (*Botrytis cinerea Pers*) causa lesiones de color café claro en el ápice de las hojas (2). La Antracnosis del fruto, muerte descendente o secadera causada por *Collectotrichum gloesporioides*, es una enfermedad que genera manchas ovaladas de color morado o violáceo tanto en tallos como en ramas, que los cubren parcial o totalmente (4). Por otro parte, el Mildeo polvoso (*Oidium spp*) se caracteriza por la aparición de

<sup>1</sup> Ingeniería Agronómica, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Cundinamarca. Extensión Facatativá.

\* ddcubillos@ucundinamarca.com

parches cloróticos sobre la superficie, y crecimiento de esporas en forma de polvo blanco (2). El Mildeo veloso (*Peronospora sparsa*) ataca formando manchas irregulares de coloración morado; esta enfermedad es más evidente en hojas jóvenes. Otras enfermedades son Roya (Gerwasia largeheimii), Marchitez y pudrición de las raíces (*Verticillium sp.*, *Fusarium sp.*, *Rosellina sp.*) y, Agalla de la corona (*Agrobacterium tumefaciens*) (2).

A pesar de que los cultivos de mora presentan estas enfermedades, se realizan controles siendo aceptados en los mercados internacionales ya sea como producto congelado o fresco. Asimismo, “en la producción de frutas tropicales en el año 2011 se ubicó en el puesto diez, con 462.762 toneladas de diferentes frutas producidas, aportando un 3% al total de la producción mundial que fue de 15.754.040 toneladas” (5). El cultivo de mora en Colombia es uno de los más populares en departamentos como Risaralda, Cundinamarca, Boyacá, Caldas y Valle del Cauca (6). El departamento de Cundinamarca es una de las zonas productoras de frutales más importantes del país con más de 13.000 Ha sembradas, este es el segundo producto más importante de la región y, su producción está entre las 10 y 30 toneladas por hectárea según sea su tecnificación (7).

Del mismo modo, el control fitosanitario (químico y biológico) y manejo cultural de las enfermedades interviene de manera directa en la producción sustentable del cultivo, es decir, el “uso eficiente de los recursos no renovables, mejorando la calidad de vida de los agricultores y la sociedad como un todo” (8). Ante la presencia de enfermedades se reduce la productividad lo que se traduce en pérdidas económicas para el agricultor, toma precios elevados para el consumidor, y en algunas situaciones con lleva a la ruina y hambrunas de la región (9).

Para el control de las enfermedades se implementa el uso de hongos antagonistas como control biológico de los fitopatógenos (10); el género *Trichoderma* se destaca por ser uno de los más utilizados en el biocontrol de patógenos fúngicos, además de contribuir con el medio ambiente e incentivar la producción sustentable del cultivo de mora (*Rubus glaucus*) (11). Por tanto, el objetivo principal del proyecto fue caracterizar los agentes causales de enfermedades en el cultivo de mora (*Rubus glaucus*) en la finca manantial de la vereda sabaneta en el municipio de la Vega, Cundinamarca; además de evaluar el antagonismo de *Trichoderma harzianum* con algunos de los agentes patógenos con el fin de motivar la producción sustentable de la finca.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

La investigación se realizó en la finca El Manantial ubicada en el caserío el vino, de la vereda sabaneta en la vega Cundinamarca, al noroccidente de Bogotá D.C; se encuentra dentro de la provincia de Gualivá y pertenece a la zona de distrito de manejo cuenta con una temperatura promedio entre 13 a 18°C. Los límites de la vereda son: Al norte de los municipios de Vergara y Nocaima; Al sur

del municipio de Facatativá; Al occidente del municipio de Sasaima; Al oriente de los municipios de Supatá y San Francisco (12).

La fase del laboratorio se realizó con el programa de ingeniería agronómica, de la Universidad de Cundinamarca, extensión Facatativá. El Municipio de Facatativá, se encuentra ubicado geográficamente en el extremo occidental de la Sabana de Bogotá D.C. a 42 Km de la ciudad capital, su altitud en la cabecera municipal es de 2586 msnm, con una temperatura promedio de 14°C (13).

### **Etapas de campo**

Para la observación de signos y síntomas de enfermedades que se presentan en el cultivo, se realizó un muestreo sistémico en donde de 2500 plantas de mora se seleccionó el 10%; las muestras fueron tomadas cada 4 camas del inicio, mitad y final de la cama; para la colección del material vegetal se tomó hojas, tallos, frutos y flores, los cuales fueron depositados en bolsas de papel previamente etiquetadas y, posteriormente fueron trasladadas al laboratorio de la Universidad de Cundinamarca, extensión Facatativá.

Etapas en laboratorio para la caracterización del agente causal de las enfermedades en el cultivo de mora

De acuerdo con los síntomas y signos evidenciados durante la colección del material vegetal en campo, se realizaron tres procedimientos para la caracterización de los agentes causales de las enfermedades.

### **Montaje de impronta directa de material recolectado.**

Se realizó el montaje de impronta directa de cada una de las muestras (hojas, tallo, fruto y flores) recolectadas. En primer lugar, se coloca una gota de azul de lactofenol sobre un portaobjetos, luego se corta un trozo de cinta adhesiva transparente y se realiza una impresión al material vegetal afectado, posteriormente es llevado al portaobjetos, se retira el exceso de colorante y se realiza la observación al microscopio en el objetivo de 40x en donde, se reconoció la morfología (micelios, esporas, septos, coloración, conidios) de los hongos. Se tomó registro fotográfico de cada montaje realizado.

### **Montaje de cámara humedad al material recolectado.**

Se tomaron bolsas herméticas ziploc de 15x18 cm y una toalla absorbente húmeda en donde fue colocado el material vegetal durante 8 días a temperatura ambiente (14°C) tiempo en el cual se observó el desarrollo del hongo sobre la superficie de la muestra. Posteriormente, se realizó la observación microscópica con el fin de caracterizar y confirmar el agente causal.

### **Aislamiento de los diferentes agentes causales.**

Luego de haber confirmado cada uno de los agentes causales de acuerdo con sus signos y síntomas

evidenciados en cada muestra vegetal, se realizó la siembra directa de una fracción del material vegetal en cajas de Petri con agar PDA (agar de papa dextrosa) con un pH 5.5, colocándolas a temperatura ambiente (14°C), durante 8 días, para identificarlas nuevamente. Luego, se procedió al aislamiento y la purificación de la cepa para poner a prueba el antagonismo mediante tratamiento químico y biológico.

### Incidencia y Severidad

Para determinar el porcentaje de incidencia y severidad de las enfermedades encontradas, se tomaron 4 hojas, tallos, y frutos afectados (de cada planta evaluada), se contempló que en promedio una planta de mora posee 55 hojas, de 3 a 4 tallos y 50 frutos. Para determinar el porcentaje de incidencia se toma el número de plantas afectadas por la enfermedad multiplicado por 100 y dividido en el número total de plantas muestreadas. Para la severidad, se toman el número de hojas afectadas por 100, dividido en el promedio de hojas que posee una planta de mora. Asimismo, se realiza este procedimiento con tallos y frutos.

Montaje de pruebas antagónicas con ingredientes activos químicos (Oxicloruro de Cobre y Nistatina) y control biológico (*Trichoderma harzianum*)

Después de obtener las cepas puras de los hongos patógenos *Fusarium sp* y *Colletotrichum sp*, se preparó agar PDA, con las condiciones antes mencionadas; sobre la superficie del agar se inculo ambos hongos de forma masiva para obtener uniformidad en el crecimiento; simultáneamente se realizaron tres tratamientos: dos químicos y uno biológico, los cuales fueron evaluados a dos concentraciones 1:10 (para esta concentración se utilizó 0.5 g de cada uno de los tratamientos en 5 ml de agua) y 1:20 (para este caso fue 0.25g en 5 ml). Los tratamientos se denominaron T:O tratamiento químico con oxicloruro de cobre, T:N tratamiento químico con nistatina, los cuales se encontraban en el laboratorio de la universidad, y T:T tratamiento biológico con *Trichoderma harzianum* con concentración de 2x10<sup>8</sup> UFC/g de sustrato suministrado por el profesor Daniel Cubillos.

Para realizar la prueba de sensibilidad o antagonismo se utilizaron discos de papel con un diámetro 0.7 mm impregnados con las concentraciones ya conocidas de los diferentes tratamientos, en cada disco de agar con el patógeno se colocó cuatro discos impregnados. La elección de los tratamientos a probar dependió de tipo de patógeno y del foco de infección. Los tratamientos se difunden desde el papel al agar de una forma radial. Posteriormente se incubaron las placas durante 8 días a temperatura ambiente (14°C) y luego se midieron los halos de inhibición para verificar el porcentaje de sensibilidad. El antagonismo de los diferentes tratamientos se comprobó estudiando el Diámetro de Crecimiento Antagonista (DCA) y se realizó una comparación con la tabla de por Elías y Arcos (Tabla 1) (11,14) para evaluación de la capacidad antagónica.

**Tabla 1.** Escala creada por Elías y Arcos (1984) para evaluación de la capacidad antagónica (mico parasitismo), de acuerdo con la medida de la invasión de la superficie, colonización y esporulación.

Grado	Capacidad antagónica
0	Ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
1	Invasión de ¼ de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
2	Invasión de ½ de la superficie de la colonia hongo patógeno.
3	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno
4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno esporulación sobre ella.

### Diseño y análisis estadístico

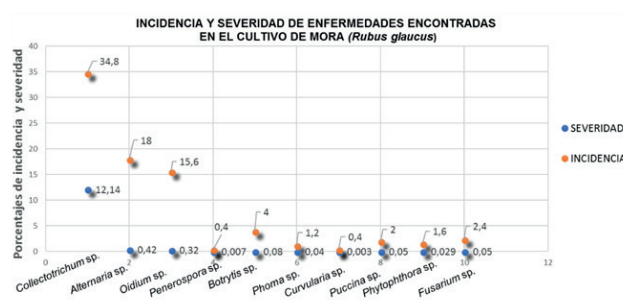
Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de acuerdo con diseño experimental de bloques completamente al azar (BCA) y una comparación de medias mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), para todas las variables con significancia estadística.

## RESULTADOS

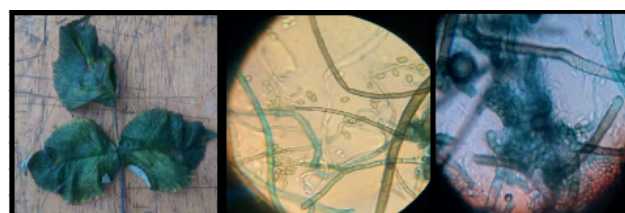
### Caracterización morfológica

Se caracterizaron 10 tipos de hongos en el material vegetal (hojas, tallo, y fruto) del cultivo de mora y los diferentes porcentajes de incidencia y severidad (Fig. S1), los cuales se presentan a continuación:

**Fig. S1.** Incidencia y severidad de enfermedades encontradas en el cultivo de mora (*Rubus glaucus*) en la finca manantial.



*Phoma sp* (Figura 1), se observó afectación en la parte superior de la planta, las hojas presentaban manchas pequeñas de color café o negro, algunas con anillos concéntricos. Este patógeno arrojó una severidad del **Figura 1.** Izq. Material vegetal con signos y síntomas de *Phoma sp*. Dcha. Identificación microscópica de *Phoma sp*. Esporas y micelio del agente causal (Objetivo de 40x).





0.04% e incidencia del 1.2%. A nivel microscópico se evidenció los picnidios en forma globosa con ostiolas. Las picnidiosporas fueron hialinas, de forma cilíndrica, redondeadas en los extremos, con un septo truncado en su centro, y micelio delgado enredado.

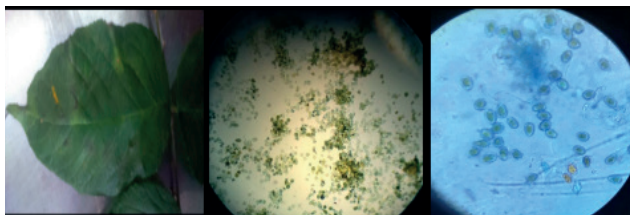
*Curvularia sp* (Figura 2), aparece como un distintivo mosaico amarillo y verde con un patrón típico que se extiende desde el ápice de la hoja hacia la base. Se encontraron hojas encojidas y de color gris. La severidad fue del 0.03% y una incidencia del 0.4%. Microscópicamente, las macroconidias tienen entre cuatro a cinco células separadas por tabiques transversales de modo simpodial de dos conidióforos curvos.

**Figura 2.** Izq. Material vegetal con signos y síntomas de *Curvularia sp*. Dcha. Identificación microscópica de *Curvularia sp*. esporas del agente causal (Objetivo de 40x).



*Puccinia sp* (Figura 3), presentaba síntoma de pústulas de color anaranjado sobre las hojas. Al observar el envés, se notan tumores pequeños. En los tallos produce agrietamientos; ataca también flores y frutos, donde se observa polvo de color naranja. Esta enfermedad tuvo una severidad del 0.05% y una incidencia del 2%. En el microscópico se observan uredosporas de color anaranjado claro, de forma generalmente piriforme, con un engrosamiento en la parte apical de la pared, característico de la especie.

**Figura 3.** De Izq. a Dcha. Observación síntomas de roya en material vegetal. Agente causal *Puccinia sp*. (Objetivo 10x y 40x)



*Peronospora sp* (Figura 4) se evidenció en las hojas un amarillamiento del borde hacia adentro, lo que conllevaba a confundirlo con una deficiencia nutricional; en los tallos presentaban lesiones irregulares de color blanco en las que crecía una vellosidad de color blanco o gris claro. Esta enfermedad presentó una incidencia del 0.4% y severidad del 0.007% en hojas; la severidad en tallos y frutos fue de 0.4%.

Poseen esporangióforos ramificados, no septados y de colores violáceos, los esporangios son de forma piriforme a fusiforme, unidos a los esporangióforos por su extremo final.

*Phytophthora sp* (Figura 5), los primeros síntomas de la

**Figura 4.** De Izq. a Dcha. Observación síntomas de mildew vellosos en material vegetal. Agente causal *Peronospora sp*.



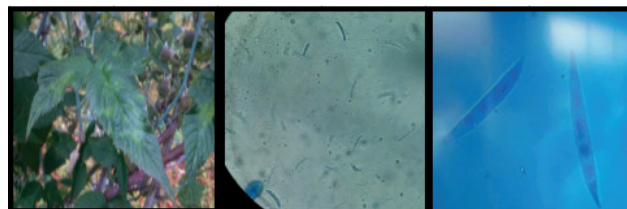
**Figura 5.** Izq. Material vegetal con signos y síntomas de *Phytophthora sp*. Dcha. Identificación microscópica de *Phytophthora sp*. Esporas y micelio del agente causal (Objetivo de 40x y 100x).



enfermedad se encontraron en las hojas donde se veía la presencia de necrosis en el margen del limbo foliar y marchitez; en los brotes clorosis y posterior marchitez. Esta enfermedad evidencia una severidad del 0.029% e incidencia del 1.6% correspondientes estos datos únicamente en hojas y brotes. A nivel morfológico se encontró que micelio hialino, y los esporangios tienen formas alimonadas y papiladas.

*Fusarium sp* (Figura 6) como síntoma inicial se evidenció un retraso en el crecimiento y clorosis leve de algunas hojas. Severidad del 0.05% e incidencia del 2.4% únicamente síntomas en las hojas, no se encontró presencia de marchitamiento, y decoloración en haces vasculares. A nivel microscópico se encontró conidios septados y hialinos, multicelulares y con forma característica de banana.

**Figura 6.** Izq. Material vegetal con evidencian de los primeros signos y síntomas de *Fusarium sp*. Dcha. Identificación microscópica de *Fusarium sp*. Esporas del agente causal (Objetivo de 40x y 100x).



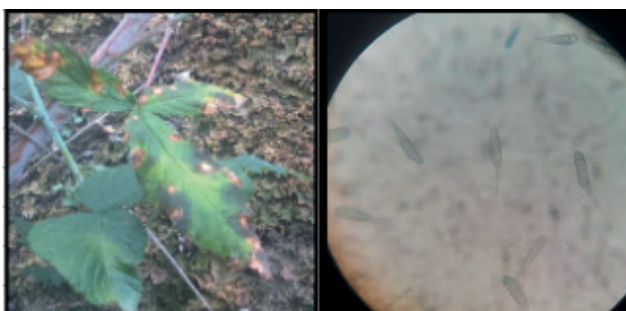
*Oidium sp* (Figura 7), los síntomas de esta enfermedad son aparición de parches cloróticos sobre la superficie, acompañados de deformaciones y enrollamientos de la lámina foliar; además de la aparición de un polvo o cenicilla blanca. La incidencia de esta enfermedad fue del 15.6% y una severidad del 0.32% únicamente en hojas. Microscópicamente se observaron apresorios lobulados, conidióforos ligeramente curvos, hialinos y conidios simples.

**Figura 7.** De Izq. a Dcha. Observación síntomas de mildew polvoso en material vegetal. Agente causal *Oidium* sp. (Objetivo 100x)



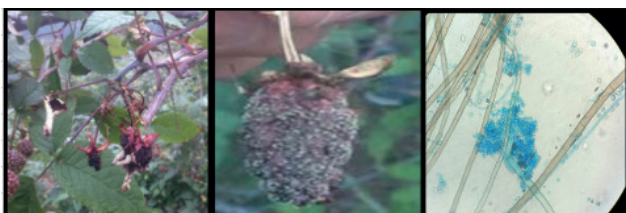
*Alternaria* sp (Figura 8) evidencia de síntomas en las hojas más viejas de la planta, en donde ocurre el amarillamiento generalizado de la hoja. Las lesiones son redondas, secas, de color café oscuro o negro, de bordes irregulares, con marcados anillos concéntricos rodeados de un halo clorótico. Con una incidencia del 18% y una severidad de 0.42%. A nivel microscopico, tiene un micelio de color oscuro, conidióforos cortos, simple y erectos; los conidios son grandes, alargados, oscuros, en forma de pera con septos transversales y longitudinales.

**Figura 8.** Izq. Material vegetal con evidencian de signos y síntomas de *Alternaria* sp. Dcha. Identificación microscópica de *Alternaria* sp. Esporas del agente causal (Objetivo 40x)



*Botrytis* sp (Figura 9), los síntomas se manifiestan principalmente en los frutos de la planta, se observaron lesiones de color café claro en el ápice de las hojas y, un crecimiento algodonoso en el envés; necrosis en pedúnculos. Presentó una incidencia del 12.4% en frutos con una severidad del 0.64%, mientras que en las hojas se evidencia una incidencia del 4% y una severidad 0.08%. Microscópicamente se observa conidioforos largos y ramificados, con racimos de conidios ovoides asemejándose a un racimo de uvas.

**Figura 9.** De Izq. a Dcha. Observación síntomas de moho gris en material vegetal. Agente causal *Botrytis* sp. Esporas y micelio del agente causal (Objetivo 40x)



*Collectrochium* sp (Figura 10), se observaron manchas ovaladas de color morado o violáceo en los tallos y

**Figura 10.** Izq. Material vegetal con evidencian de signos y síntomas de palo negro o antracnosis. Dcha. Identificación microscópica de *Colletotrichum* spp. Esporas del agente causal (Objetivo de 40x)

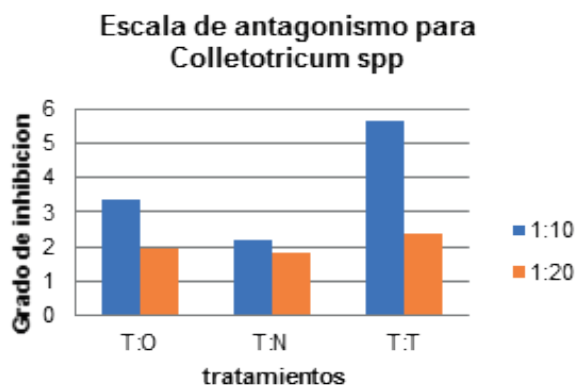


ramas, las hojas se marchitan, amarillan y mueren adheridas a la planta. Microscópicamente se observaron conidos incoloros, estos conidios presentan un extremo redondeado y otro agudo. Esta enfermedad tuvo una incidencia del 34.8% y una severidad del 12.14% afectado las hojas, y en tallos la incidencia fue del 9.2% y una severidad del 8.09%.

### Pruebas antagonicas

Las pruebas antagonicas se realizaron a partir de dos tratamientos químicos T:O (oxicloruro de cobre) y T:N (nistatina) y, un tratamiento biológico T:T (*Trichoderma harzianum*). Al medir el diámetro de crecimiento antagonista (DCA) de los patógenos con cada tratamiento se observó competencia y antibiosis, en el cual se encontró que los tratamientos con T:T se desarrollaron en forma de competencia antibiótica mientras que los tratamientos T:O y T:N solo presentan antibiosis, la eficiencia en cuanto a la capacidad o sensibilidad antagonica se vio evidenciada en los tratamientos de concentración 1:10.

Para la evaluación de la capacidad antagonica de los tratamientos se realizó una comparación con la escala propuesta por Elías y Arcos (1984) en donde, 4° corresponde a la invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno y 0° ninguna invasión. Para el control de *Colletotrichum* se evidenció que el mejor tratamiento fue el biológico T:T con un promedio de 1.6 cm de halo de inhibición representando aproximadamente el 5.65° > 4° lo que significa que hubo una invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno con posible esporulación si se deja incubando por más tiempo (Fig. S2). Seguimiento del tratamiento T: O con un promedio de **Fig. S2.** Comportamiento antagonista de *Colletotrichum* spp bajo tratamientos T: O (Oxicloruro de cobre), T: N (Nistatina) y T: T (*Trichoderma* sp) en concentración de 1:10 y 1:20.



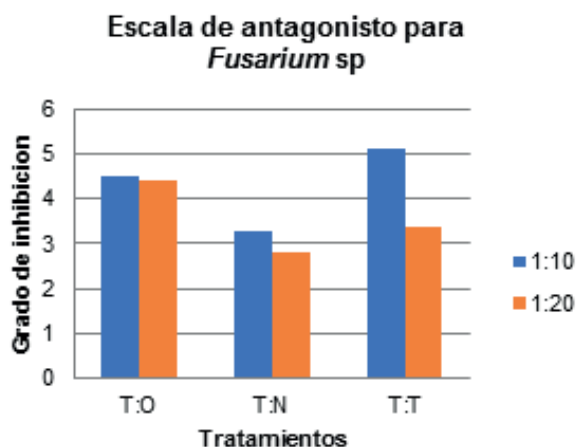


**Tabla 2.** Análisis de varianza según la distribución F (Fischer) para evaluar diferencias significativas entre los tratamientos antagonistas contra *Collectotrichum sp* y *Fusarium sp*.

Origen de las variaciones	SM	GL	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>TRATAMIENTOS</b>	12,26968783	5	2,453937566	5,39782173	0,043956775	5,050329058
<b>HONGOS EVALUADOS</b>	3,10178855	1	3,10178855	6,82287188	0,047551173	6,607890974
<b>ERROR</b>	2,273081338	5	0,454616268			
<b>TOTAL</b>	17,64455772	11				

0.95 cm representando el  $3.35^{\circ} < 4^{\circ}$  con una capacidad antagonista de invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno. Por otro lado, la concentración 1:20 de los tratamientos presentó el mismo comportamiento destacando el tratamiento T:T con un porcentaje de inhibición del  $2.38^{\circ} < 4^{\circ}$ , es decir, que solo hubo una invasión de  $\frac{1}{2}$  por parte del *Trichoderma harzianum* en la superficie de la colonia de *Collectotrichum sp*, comportamiento similar que mostró el tratamiento T:O con un porcentaje final de  $1.95^{\circ} < 4^{\circ}$ , mientras que el tratamiento T:N el  $1.85^{\circ} < 4^{\circ}$  mostro una invasión de  $\frac{1}{4}$  de la superficie de la colonia del patógeno.

Los comportamientos son similares para las pruebas antagonistas contra *Fusarium sp*, el tratamiento más eficiente se sigue evidenciando con T:T en una concentración de 1:10 produciendo una invasión eficiente mayor a  $4^{\circ}$  de acuerdo con la escala de antagonismo; con un promedio de 1.45 cm de halo de inhibición que representa  $5.12^{\circ}$ , la eficacia de T:O ante este patógeno fue de 1.27 cm con una escala antagonista de  $4.5^{\circ}$ , es decir, que para los tratamientos T:O y T:T la Invasión fue en su totalidad eficiente en superficie repeliendo la colonia del hongo patógeno; en menor eficiencia se evidencia el tratamiento T:N para combatir *Fusarium* con  $3.27^{\circ}$  (Fig. S3). De acuerdo a las pruebas antagonistas con una concentración mayor de 1:20 para *Fusarium*, se evidenció que el comportamiento varía de acuerdo al tratamiento puesto que hubo mayor eficiencia con T:O que con **Fig. S2.** Comportamiento antagonista de *Collectotrichum spp* bajo tratamientos T: O (Oxicloruro de cobre), T: N (Nistatina) y T: T (*Trichoderma sp*) en concentración de 1:10 y 1:20.



T:T como se ha observado en los análisis anteriores, para este caso el tratamiento T:O tuvo una eficiencia de  $4.42^{\circ}$  mientras el  $3.35^{\circ}$  de eficiencia se mostró para el tratamiento TT y, finalmente el comportamiento de T:N sigue siendo menor a los demás tratamientos con  $2.83^{\circ}$ .

De acuerdo con el análisis estadístico (ANOVA) y al evaluar los tratamientos para antagonismo de Fitopatógenos del cultivo de la mora se evidencia que los tratamientos evaluados contra los patógenos a combatir presentan diferencia en el valor ya que la distribución F es mayor al punto crítico del valor F ( $5.39 > 5.05$ ) por lo tanto se concluye que hay una diferencia significativa de  $\pm 0.34$  con un grado de significancia del 0.05%, de acuerdo a los comportamientos de los hongos ante los tratamientos se observó de igual manera que la distribución del valor F es mayor al punto crítico de F ( $6.82 > 6.60$ ) con una diferencia de  $\pm 0.22$  con confiabilidad del 95% (Tabla 2).

De acuerdo con los resultados, se rechaza la hipótesis nula en que los efectos de tratamientos ( $\beta$ ) son todos iguales ( $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$ ) por ende se acepta la hipótesis alterna ( $H_a: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$ ) y se concluye que hay al menos un efecto de tratamiento que es diferente a los demás y que genera control biológico contra los patógenos antes evaluados.

## DISCUSIÓN

La caracterización de agentes causales fue realizada a partir de los signos y síntomas encontrados en campo además de las características morfológicas encontradas en la fase de laboratorio y corroboradas con literatura.

*Phoma sp*, de acuerdo con Molina (2010) (15) se observa en la parte más joven de la planta, presenta síntomas de manchas pequeñas en las hojas de coloración café oscuro a negro y que pueden desarrollar anillos concéntricos conforme van creciendo. Asimismo, morfológicamente se identifican las picnidiosporas hialinas, de forma cilíndrica, redondeadas en los extremos, con un septo truncado en su centro, y micelio delgado enredado (gonosporas) (16). Dicha descripción coincide con la caracterización realizada. Así mismo, la incidencia y severidad encontrada para esta enfermedad no es significativa en la productividad de mora.

*Curvularia sp* no presentó una severidad e incidencia significativa que genere un daño económico; según la INIAP (s.f) (17) aparece como un distintivo mosaico

amarillo y verde con un patrón típico que se extiende desde la punta de la hoja hacia abajo. Las hojas eventualmente se encojen y cambian a un color gris. A su vez, Forbes, Sahm, Weissfeld, & Trevino (2002) (18) indican que las macroconidias tienen entre cuatro a cinco células separadas por tabiques transversales de modo simpodial de dos conidióforos curvos. Las células centrales crecen rápidamente, son más grandes en los extremos, su aspecto es característico ya que es curvo o bumerán.

*Puccinia sp* es el agente causal de la roya (19). De acuerdo con Agrios (2011) (20) es un parásito obligado, que presenta uredosporas de color anaranjado claro, de forma generalmente piriforme, con un engrosamiento en la parte apical de la pared, característico de la especie. Con respecto a la incidencia y severidad presentada se concluye que no es significativa dentro de la actividad productiva del cultivo.

Según el ICA (2011) (3) *Peronospora sp.* es el agente causal del mildew veloso evidenciando lesiones irregulares de color blanco con crecimiento de vellosidades de color blanco o gris claro, y los frutos también se veían afectados cuanto a la maduración desigual. Asimismo, el hongo no presenta las condiciones ambientales favorables para su desarrollo ya que se presenta principalmente en épocas lluviosas con alta humedad en el ambiente y temperaturas moderadas a bajas (3). Del mismo modo, se confirmaron los rasgos morfológicos característicos de acuerdo con Agrios (2011) (20) quien adiciona que los esporangios son de forma piriforme a fusiforme, unidos a los esporangióforos por su extremo final, tienen una pared fina y poseen una tenue papila en su zona proximal. Adicional a ello, se encontró *Phytophthora sp.* los síntomas observados coinciden con los descritos por Medina (s.f) (21); asimismo, no se encontraron síntomas en las raíces de necrosis, lo que da indicio a que el hongo no es un agente causal primario, de acuerdo con la incidencia y severidad la cual no es significativa. La descripción morfológica coincide con la de Ares (2015) (22) quien afirma que el micelio produce esporangióforos ramificados de crecimiento indeterminado y es hialino, y los esporangios tienen formas alimonadas y papiladas.

Por otro lado, *Fusarium sp* genera un enanismo en la planta, clorosis leve de algunas hojas, la cual progresa hacia un grado moderado y finalmente una pudrición en los haces vasculares (23), en campo, no se encontró presencia de marchitamiento, y decoloración en haces vasculares, lo cual indica que hasta ahora está iniciando la enfermedad o ha tenido un control por parte del agricultor; a nivel microscópico las características morfológicas encontradas coinciden con la descripción de Ortiz & Hoyos (2012) (24). *Oidium sp* es el agente causal del mildew polvoso, de acuerdo con Boyle, Braun, & Kummer (2008) (25) contiene características únicas a nivel de microscopía estas son micelios antigénicos con apresorios lobulados, solitario o en pares opuestos, conidióforos ligeramente curvos, son hialinos y conidios simples. De la misma manera, los síntomas de esta enfermedad observados en campo fueron comparados de acuerdo con la descripción de Betancurt & García (2014) (5). La incidencia de esta enfermedad

fue del 15.6% correspondiente a síntomas iniciales de 39 plantas con una severidad del 0.32% únicamente en hojas. Estos datos deben tenerse en cuenta debido a que su incidencia puede aumentar de manera potencial, al ser un microorganismo que "presenta liberación explosiva de conidias, además de que sus brotes epidemiológicos son rápidos severos e irreversibles" (26).

Por otra parte, el ICA (2011) (3) describe que los síntomas de *Alternaria sp.* se presentan en las hojas más viejas de la planta, en donde ocurre el amarillamiento generalizado de la hoja. Del mismo modo, las lesiones son redondas, secas, de color café oscuro o negro, de bordes irregulares, con marcados anillos concéntricos rodeados de un halo clorótico. A nivel microscópico las características morfológicas coincidieron con las descripciones de Agrios (2011) (20). La incidencia de esta enfermedad fue del 18% con una severidad de 0.42% de igual forma, se recomienda realizar un seguimiento de los signos y síntomas de la enfermedad para tener un control fitosanitario a tiempo. *Botrytis sp* es el agente causal del moho gris y una de las enfermedades más importantes para el cultivo ya que interfiere directamente en la calidad del fruto reduciendo la productividad, generando un daño económico para el productor. Los datos morfológicos coinciden con los descritos por Agrios (2011) (20). De acuerdo con Betancurt & García (2014) (5) a los síntomas se manifiestan principalmente en los frutos de la planta, necrosa los pedúnculos o tallos florales afectando el cuajado de los frutos, ocasionando la momificación de los mismos. Pese a que la incidencia fue del 12.4% en frutos con una severidad del 0.64%, se debe tener en cuenta el manejo de la enfermedad para evitar disminuir la productividad del cultivo.

Finalmente, se caracterizó *Collectrochium sp* el agente causal de Antracnosis, también conocida como el palo negro o muerte descendente del tallo. Esta enfermedad favorece su crecimiento en periodos lluviosos y altas humedades relativas (27). Los síntomas observados coinciden con los datos del DANE (2013) (4). Al igual que con las características morfológicas descritas por Perez, Saquero, & Beltran (2003) (27) afirmando que los conidios incoloros pueden ser cilíndricos, ovoides y encorvados en forma de acervolas; su citoplasma es uniforme, observándose que algunas de ellas presentan vacuolas de gran tamaño. Esta enfermedad representa mayor incidencia (34.8%) y severidad (12.14%) afectado de manera notoria la producción. Sin embargo, se ha venido manejando a través del control químico.

El *Trichoderma sp.* es empleado como control biológico; se ha reportado como hiperparásito de hongos fitopatógenos al atacar directamente y producir una lisis la cual afecta al micelio y los esclerocios. Además, el parasitismo ocurre mediante la penetración, engrosamiento de las hifas, producción de haustorios y la desorganización del contenido celular. Este control se ha implementado como una alternativa tecnológica eficiente económica y productivamente siendo un fungicida biológico de alta calidad que contribuye al ambiente (28).

## CONCLUSIONES

Se identificaron los agentes causales de las enfermedades presentes en el cultivo de mora a partir de los signos y síntomas, teniendo en cuenta el diagnóstico por cámara húmeda e impronta directa; observando como agentes causales *Phoma sp.*, *Curvularia sp.*, *Puccinia sp.*, *Phytophthora sp.*, *Fusarium sp.*, *Botrytis sp.*, *Peronospora sp.*, *Oidium sp.*, *Alternaria sp.*, y *Colletotrichum sp.*

La enfermedad que presenta mayor incidencia en el cultivo de mora es Antracnosis o palo negro (*Colletotrichum sp.*) con un 34,8%; debido a que se presentaron bastantes lluvias para la época de estudio por lo que favorece al desarrollo del patógeno en ciclos cortos.

El control más efectivo contra *Fusarium sp.* y *Collectotricum sp.* corresponde al tratamiento T:T, es decir el uso de *Trichoderma harzianum* como controlador biológico en concentración 1:10 siendo más efectivo respecto a los tratamientos químicos. Para que la finca El manantial tenga una producción sustentable se recomienda aplicar productos biológicos como *Trichoderma harzianum*, ya que este tiene como propósito la prevención y la reducción de los impactos ambientales, incentivando y facilitando el aumento de la competitividad y el desempeño ambiental, de tal manera que los aspectos de la productividad y la rentabilidad económica se relacionen estrechamente con la distribución de los beneficios, la calidad de vida y sea amigable con el medio ambiente.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la finca El manantial por permitir realizar el estudio fitopatológico en sus instalaciones y al señor José Toro por prestar su asesoría acerca del cultivo.

Agradecemos también, al señor Daniel Cubillos por suministrar la cepa de *Trichoderma harzianum* para realizar las pruebas de antagonismo además de ser guía durante la investigación.

## REFERENCIAS

1. Forero de la Rotta, M. C., & Muñoz, H. Enfermedades de la mora castilla. Boletín de Sanidad Vegetal N° 23. Instituto Colombiano Agropecuario ICA, 36. Colombia: Bogotá, Produmedios. (2001).
2. Leiva, C., & Nieto, F. Manejo fitosanitario del cultivo de mora (*Rubus glaucus*). Colombia: Bogotá, Produmedios; 2011. 32 p. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/getattachment/b7e061eb-ebd3-4f80-9518-c771712405eb/>
3. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Manejo fitosanitario del cultivo de la mora - Medidas para la temporada invernal. Colombia: Bogotá, Produmedios; 2011. 32 p. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/getattachment/b7e061eb-ebd3-4f80-9518-c771712405eb/>
4. DANE. El cultivo de la mora de Castilla (*Rubus glaucus*) frutal de clima frío moderado, con propiedades curativas para la salud humana. 2013. Recuperado

de [https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos\\_factores\\_de\\_produccion\\_nov\\_2013.pdf](https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_nov_2013.pdf)

5. Betancurt, E., & Garcia, E. Manual técnico del cultivo de mora bajo buenas prácticas agrícolas. Colombia: Medellín; 2014
6. Franco, G., & Giraldo, J. El cultivo de la mora. CORPOICA; 1998. 130 P.
7. El campesino. La fruta famosa: la mora. El campesino; 2016. Recuperado de <http://www.elcampesino.co/cultivo-de-mora/>
8. Osorio, G. Agricultura sustentable. Una alternativa de alto rendimiento. Ciencia UANL 2008; 77:81-XI. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/402/40211113.pdf>
9. Arauz, L. Fitopatología: un enfoque agroecológico. Costa Rica: Universidad de Costa Rica; 1998. 461 p. Recuperado de
10. Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Scielo 2009 14:21-24.
11. Ezziyyani, M., Pérez, C., Sid, A., Requena, M., & Candela, E. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales de Biología 2004 35:45-26.
12. Municipio La Vega (Cund). Ubicación de las veredas de La Vega, Cundinamarca. 2017. Recuperado de <http://www.lavega-cundinamarca.gov.co/MiMunicipio/Paginas/Informacion-del-Municipio.aspx>
13. Alcaldía de Facatativá, Cundinamarca. Información general. 2017. Recuperado de [http://www.facatativa-cundinamarca.gov.co/informacion\\_general.shtml](http://www.facatativa-cundinamarca.gov.co/informacion_general.shtml)
14. Veneros, R., & Rodríguez, M. Control biológico de *Trichoderma harzianum* RIFAI sobre hongos patógenos de frutos postcosecha de Carica papaya procedente de del distrito trujillo (Perú). REBIOL 2011, 31. Recuperado de [http://www.facbio.unitru.edu.pe/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=102&Itemid=149](http://www.facbio.unitru.edu.pe/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=102&Itemid=149)
15. Molina, J. Aislamiento y caracterización de hongos patógenos presentes en lulo, tomate de árbol y mora castilla potencialmente patógenos para cultivos de gulupa (*Passiflora edulis* var. *edulis* Sims) [Tesis de grado]. Colombia: Bogotá; Pontificia Universidad Javeriana. 2010.
16. Wiin, W., Allen, S., Jandan, W., Woods, G., Koneman, E., Procop, G., & Schreckenberger, P. Diagnóstico Microbiológico. 6ª Ed. Colombia: Bogotá; Panamericana. 2008. 1696 p.
17. INIAP. (s.f). Manejo enfermedades. Recuperado el 12 de octubre de 2017, de [http://sinagap.agricultura.gob.ec/infoproduccion/maiz/images/manejo\\_cultivo/curvularia.pdf](http://sinagap.agricultura.gob.ec/infoproduccion/maiz/images/manejo_cultivo/curvularia.pdf)



*Caracterización de agentes causales de enfermedades en el cultivo de mora (Rubus glaucus) en la finca manantial en la vereda sabaneta, municipio de La Vega, Cundinamarca*

18. Forbes, B., Sahm, D., Weissfeld, A., & Trevino, E. Diagnóstico microbiológico. Argentina: Buenos Aires; Médica Panamericana. 2002. 1160 p.

19. Daniele, G. Royas y carbones. Argentina: Córdoba. 2012. 43 p.

20. Agrios, G. Fitopatología. Limusa. 2011.

21. Medina, Y. (s.f.). Phytophthora: Características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales. Medidas de control. Recuperado el 12 de octubre de 2017, de <http://www.fao.org/docs/eims/upload/cuba/1060/cuf0022s.pdf>

22. Ares, A. J. Plantas leñosas ornamentales: control de enfermedades producidas por hongos y cromistas. España: Madrid; Mundi-prensa. 2015.

23. Castellanos, P., Botero, R., & Castrillon, C. Manejo integrado de enfermedades y plagas en Mora y tutores vivos en un sistema agroforestal. Colombia: Manizales; CORPOICA. 2003. 22 p.

24. Ortiz, E., & Hoyos, L. (2012). Descripción de la sintomatología asociada a fusariosis y comparación con otras enfermedades en gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) en la región del Sumapaz (Colombia). Revista colombiana de ciencias hortícolas, 6(1), 110-116.

25. Boyle, H., Braun, U., & Kummer, V. Taxonomy, host range and distribution of some powdery mildew fungi. *Schlechtendalia* 2008.

26. Bayer CropScience. (s.f.). Mildeo Polvoso.

27. Perez, L., Saquero, M., & Beltran, J. Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp. como agente causal de la antracnosis en ñame *Dioscorea* sp. Revista colombiana de Biotecnología 2003 24:35-41.

28. Guerra, E. Desarrollo Sustentable. (s.f.). Recuperado de [http://www.academia.edu/19676604/DESARROLLO\\_SUSTENTABLE](http://www.academia.edu/19676604/DESARROLLO_SUSTENTABLE)