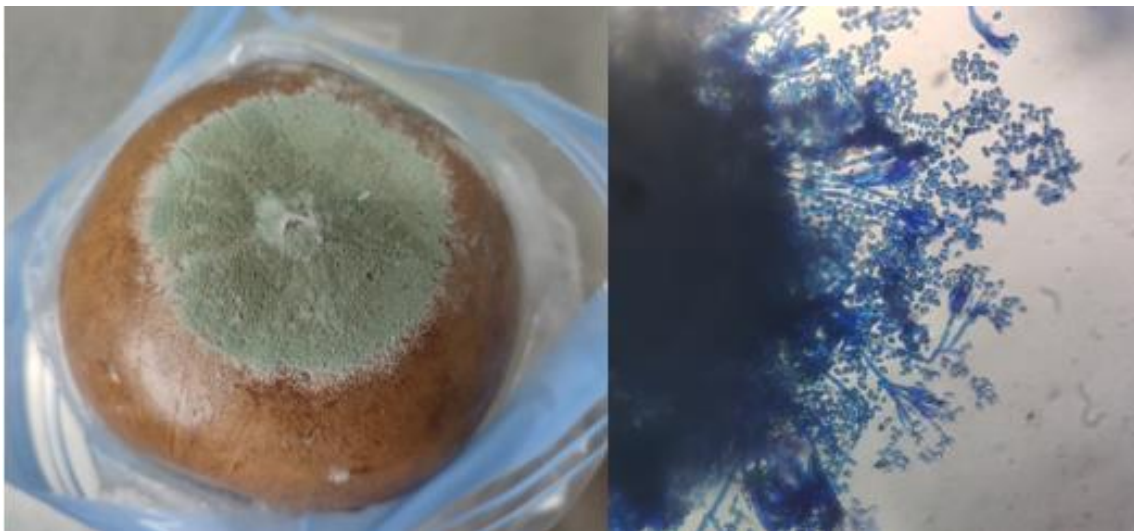


Diagnóstico y manejo del agente causal asociado a la pudrición del fruto de borjón  
(*Alibertia patinoi* (Cuatrec.) Delprete & CH Perss.), en postcosecha y bajo condiciones in vitro en  
el Distrito Especial de Buenaventura (Valle del Cauca), Colombia

Daniel Esteban Marín Ochoa

Luis Fernando Delgado Gutierrez



Universidad del Pacífico

Programa de Agronomía

Buenaventura, Colombia

2024

Diagnóstico y manejo del agente causal asociado a la pudrición del fruto de borjón  
(*Alibertia patinoi* (Cuatrec.) Delprete & CH Perss.), en postcosecha y bajo condiciones in vitro en  
el Distrito Especial de Buenaventura (Valle del Cauca), Colombia

Daniel Esteban Marín Ochoa  
Luis Fernando Delgado Gutierrez

Trabajo de grado, presentado como requisito para optar al título de: Agrónomo

Director: MSc. Carlos Emiro Arboleda Riascos  
Codirector: Ing. Francisco José Sánchez Marín

Línea de investigación: Protección de Cultivos

Semillero de Investigación:  
Diagnóstico y manejo integrado de plagas y enfermedades de plantas (DIMIPE)

Universidad del Pacífico  
Programa de Agronomía  
Buenaventura, Colombia  
2024

## DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada a nuestras familias, quienes con su apoyo y esfuerzo se han convertido en nuestro motor para realizar y culminar nuestra formación como profesionales y a cada una de las personas que a lo largo de este camino nos han motivado a continuar a pesar de las dificultades.

También, queremos dedicar este trabajo de grado de manera especial a la memoria de nuestros seres queridos que ya no nos acompañan físicamente, pero que han dejado una huella imborrable que estará presente a lo largo de nuestras vidas; siempre los llevaremos en nuestros corazones y pensamientos.

Att:

Fernando Delgado

---

**LUIS FERNANDO DELGADO GUTIERREZ**

DANIEL E. MARÍN O.

---

**DANIEL ESTEBAN MARÍN OCHOA**

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente, nos gustaría agradecer a Dios por permitirnos finalizar nuestra formación académica, por prestarnos la vida y darnos salud para desarrollar esta tesis, así mismo, agradecemos a la Universidad del Pacífico por abrirnos las puertas de la institución y brindarnos la oportunidad de encaminar nuestro proceso como futuros profesionales, agradecemos especialmente al programa de Agronomía por su constante apoyo en el transcurso de nuestra formación académica y a cada uno de los docentes que han compartido y puesto a disposición su conocimiento, siendo fuente de inspiración y motivación para cada uno de nosotros.

Seguidamente, deseamos expresar un sincero agradecimiento para cada uno de los compañeros que han compartido con nosotros durante este largo camino universitario, su compañía y afecto han sido gratos y les deseamos el mayor de los éxitos en la culminación de sus estudios y en su vida laboral.

Así mismo, manifestamos nuestra gratitud al MSc., en Biotecnología, Camilo Velázquez por todas las contribuciones en el desarrollo de esta investigación; igualmente, agradecemos a las personas que colaboraron en la obtención de equipos y materia prima para desarrollar la fase experimental, a las personas que de alguna u otra manera colaboraron en la realización de esta tesis y a aquellos que dedicaron su tiempo para revisar este trabajo, aportando sugerencias, comentarios y correcciones que ayudaron a mejorar la presentación de este documento.

Por último, expresamos un profundo y sincero agradecimiento para nuestro director de tesis, el MSc., en Sanidad Vegetal, Carlos Emiro Arboleda Riascos, por su experiencia, comprensión, paciencia, guía, conocimientos y aportes que han contribuido enormemente en este proceso de investigación y han sido parte fundamental para la elaboración de esta tesis; de igual manera, extendemos nuestros agradecimientos para nuestro codirector de tesis, el Ing. Agrónomo, Francisco José Sánchez Marín por el acompañamiento en este trabajo de grado y por sus aportes en la planeación experimental y en el procesamiento y análisis de datos. Les deseamos a ambos muchos éxitos en su vida personal y profesional.

## RESUMEN

La pudrición del fruto en borjón ha sido una enfermedad que ha estado presente por décadas en las comunidades del pacífico colombiano donde se cultiva esta especie, durante este periodo de tiempo no se han realizados estudios concluyentes que permitieran identificar el patógeno asociado a esta enfermedad o plantear estrategias de control para esta patología. En este estudio se recolectaron muestras del patógeno de frutos maduros infectados en el corregimiento N°8 del distrito especial de Buenaventura (Valle del Cauca), con el fin de identificar por medio de características morfológicas, morfométricas y moleculares el patógeno asociado a esta enfermedad; así mismo, se realizaron experimentos de control de la enfermedad a base de soluciones de carbonato de sodio con concentraciones de 1%, 5% y 10% bajo condiciones in vitro e in vivo. Los análisis morfológicos y moleculares indicaron que el hongo en cuestión pertenece al género *Talaromyces*, pero no fueron concluyentes a la hora de identificar la especie. En cuanto a las estrategias de control, los tres tratamientos fueron efectivos para inhibir el desarrollo del hongo en condiciones in vitro, mientras que la concentración de carbonato de sodio al 10 % fue la que presentó mejor efectividad al ser aplicado directamente en frutos.

**Palabras clave:** *Talaromyces*, patología, in vitro, in vivo, características morfológicas, características morfométricas, características moleculares.

## ABSTRACT

Fruit rot in borojón has been a disease that has been present for decades in the Colombian Pacific communities where this species is grown. During this period of time, no conclusive studies have been carried out to identify the associated pathogen to this disease or to propose control strategies for this pathology. In this study, samples of the pathogen were collected from infected ripe fruits in the corregimiento N°8 of the special district of Buenaventura (Valle del Cauca), in order to identify by means of morphological, morphometric and molecular characteristics the pathogen associated with this disease; likewise, control experiments were carried out with sodium carbonate solutions with concentrations of 1%, 5% and 10% under in vitro and in vivo conditions. Morphological and molecular analyses indicated that the fungus in question belongs to the genus *Talaromyces*, but were not conclusive in identifying the species. As for control strategies, all three treatments were effective in inhibiting fungal development under in vitro conditions, while the 10% sodium carbonate concentration was the most effective when applied directly to fruit.

**Key words:** *Talaromyces*, pathology, in vitro, in vivo, morphological characteristics, morphometric characteristics, molecular characteristics.

## CONTENIDO

	Pag.
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>1. OBJETIVOS .....</b>	<b>4</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>5</b>
2.1. ASPECTOS GENERALES DEL BOROJÓ ( <i>Alibertia patinoi</i> (Cuatrec.) Delprete & CH Perss.) .....	5
2.1.1. Origen.....	5
2.1.2. Condiciones ambientales favorables .....	6
2.1.3. Descripción morfológica .....	6
2.2. EL BOROJÓ COMO UNIDAD PRODUCTIVA.....	7
2.2.1. Técnicas de propagación.....	7
2.2.2. Siembra .....	8
2.2.4. Control de arvenses .....	9
2.2.5. Podas.....	9
2.2.6. Productividad .....	9
2.2.7. Cosecha y postcosecha .....	10
2.2.8. Plagas y enfermedades .....	10
2.2.9. Usos del borojó .....	11
2.3. POSIBLES AGENTES CAUSALES ASOCIADOS A LA PUDRICIÓN DEL FRUTO EN BOROJÓ .....	11
2.3.1. Género <i>Penicillium</i> .....	11
2.3.2. <i>Penicillium digitatum</i> (Pers.) Sacc.....	12
2.3.3. Género <i>Talaromyces</i> .....	14
2.4. TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FITOPATÓGENOS .....	17
2.4.1. Identificación morfológica .....	17
2.4.2. Identificación morfométrica .....	18
2.4.3. Identificación molecular .....	19

2.5. USO DE CARBONATOS Y BICARBONATOS DE SODIO COMO CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS.....	20
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
3.1. LOCALIZACIÓN.....	21
3.2. IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL BASADOS EN CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS .....	21
3.2.1. Caracterización morfológica .....	22
3.3. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD.....	22
3.4. IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DEL HONGO MEDIANTE ADNr Y ADNmt.....	22
3.4.1. Extracción de ADN .....	22
3.4.2. Amplificación de ADN y secuenciación.....	23
3.4.3. Alineación de secuencias y análisis filogenéticos .....	23
3.5. ESTRATEGIAS DE CONTROL A BASE DE CARBONATO DE SODIO .....	24
3.5.1. Experimento 1.....	24
3.5.2. Experimento 2.....	25
3.5.3. Experimento 3.....	26
3.6. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS .....	27
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
4.1. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA .....	27
4.1.1. Macromorfología .....	27
4.1.2. Micromorfología y Morfometría.....	28
4.2. IDENTIFICACIÓN MOLECULAR .....	30
4.3. ESTRATEGIAS DE CONTROL.....	34
<b>5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>7. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>43</b>



**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 44**

**ANEXOS..... 54**

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pag.</b>
<b>Figura 1.</b> Arbusto de borjón.....	5
<b>Figura 2.</b> Inflorescencia masculina y flor femenina.....	6
<b>Figura 3.</b> Fruto de borjón.....	7
<b>Figura 4.</b> <i>Talaromyces sp.</i> A. Colonias, de izquierda a derecha, CYA, MEA, YES. B. Elevación central. C. Pliegues profundos. D. Exudados. E-F. Conidióforos. G. Conidios. ....	29
<b>Figura 5.</b> BLAST de las secuencias obtenidas de la región ITS.....	30
<b>Figura 6.</b> BLAST de las secuencias obtenidas del segmento $\beta$ – Tubulina.....	30
<b>Figura 7.</b> Filogenias ML de ITS para la especie <i>Talaromyces sp.</i> ....	32
<b>Figura 8.</b> Filogenias ML de BenA para la especie <i>Talaromyces sp.</i> .....	33

## LISTA DE GRÁFICAS

	<b>Pag.</b>
<b>Gráfica 1.</b> Diámetro de la colonia para cada tratamiento.....	34
<b>Gráfica 2.</b> Efecto in vitro (cajas Petri con PDA) del carbonato de sodio sobre el hongo <i>Talaromyces sp.</i> .....	35
<b>Gráfica 3.</b> Porcentaje de severidad en función del tiempo de la enfermedad para cada tratamiento.....	36

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pag.</b>
<b>Tabla1</b> . Prueba de separación de medias. ....	37
<b>Tabla2</b> . Análisis de varianza.....	37

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Pag.</b>
<b>Anexo 1.</b> Conidióforos de <i>Talaromyces sp.</i> a 40X con azul de metileno.....	54
<b>Anexo 2.</b> Conidios de <i>Talaromyces sp.</i> a 100X con azul de metileno.....	54
<b>Anexo 3.</b> Frutos de borjój del corregimiento empelados en los diseños experimentales.....	55
<b>Anexo 4.</b> Inoculación del fitopatógeno <i>Talaromyces sp.</i> en frutos de borjój. ....	55
<b>Anexo 5.</b> Soluciones de carbonato de sodio a diferentes concentraciones. ....	56
<b>Anexo 6.</b> Almacenamiento de frutos de borjój, tras ser inoculados con <i>Talaromyces sp.</i> .....	56
<b>Anexo 7.</b> Expresión del hongo en frutos inoculados con <i>Talaromyces sp.</i> .....	57
<b>Anexo 8.</b> Peso del carbonato de sodio en balanza analítica de precisión.....	57
<b>Anexo 9.</b> PDA a diferentes concentraciones de carbonato de sodio. ....	58
<b>Anexo 10.</b> Almacenamiento de experimento in vitro. ....	58
<b>Anexo 11.</b> Monitoreo de experimento in vitro. ....	59
<b>Anexo 12.</b> Clasificación de frutos para los diseños experimentales. ....	59
<b>Anexo 13.</b> Secado de los frutos después de la sumersión en los tratamientos. ....	60

## INTRODUCCIÓN

El borojó (*Alibertia patinoi* (Cuatrec.) Delprete & CH Perss.), es una especie que crece y se desarrolla normalmente en los trópicos húmedos del pacífico y la costa atlántica colombiana sin el acompañamiento técnico y profesional para su establecimiento, sostenimiento y manejo en postcosecha, es cultivado tradicionalmente por comunidades de etnias afrodescendientes e indígenas. “Al ser una fuente de alimentación humana y debido a las condiciones edafoclimáticas favorables presentes en estas regiones y a la atribución de propiedades medicinales y afrodisiacas” (Hincapié et al., 2012) es considerada una especie con alto potencial agrícola; por lo cual, este fruto puede llegar a ser fundamental para satisfacer algunas de las necesidades básicas de estos grupos étnicos que por mucho tiempo han sufrido problemas económicos y de inseguridad alimentaria.

Debido a las condiciones socioeconómicas particulares que presenta la región pacífica colombiana y al desconocimiento en producción agrícola por parte de las comunidades rurales, son pocos los agricultores que establecen unidades productivas extensivas con esta especie como cultivo principal, por lo que aún es considerada como una especie promisoría. Esta planta representa ingresos económicos para gran parte de los pequeños agricultores dentro de estas comunidades étnicas, sin embargo, su comercialización se ha visto restringida al comercio local como consecuencia de factores internos y externos que generan carencias en el manejo técnico, agronómico, agroindustrial y comercial de las unidades productivas agrícolas de la región.

En el Distrito Especial de Buenaventura, se ha observado que el fruto de borojó presenta problemas fitosanitarios en la etapa de postcosecha, pero, el desconocimiento por parte de los productores y comerciantes y el desinterés por realizar investigaciones profesionales ha generado que hasta el momento no se tenga claridad a cerca del género y/o especie del agente causal de la pudrición del fruto o moho verde del borojó, y por ende, que no se cuente con alguna práctica de manejo sostenible y accesible para los pequeños agricultores que aún no han logrado solucionar esta problemática que “hasta el momento se creía era causada por hongos pertenecientes al género *Penicillium sp.*” (Viáfara et al., 2013), “los cuales comúnmente suelen alimentarse de materia orgánica en descomposición, con un amplio rango de distribución, pudiendo sobrevivir en diferentes contextos ambientales y con poca oferta nutricional” (Overy et al., 2005, Pitt & Hocking, 2009); este mismo género de hongos ha sido reportado en cultivos de cítricos, causando significativas pérdidas económicas. Por tal motivo, es de suma importancia realizar estudios científicos concretos que permitan identificar el patógeno causante de esta enfermedad quiescente y plantear estrategias de manejo en postcosecha para disminuir las pérdidas económicas a los productores y/o comerciantes de este producto agrícola en esta zona del pacífico colombiano.

Por otra parte, estudios han demostrado que “a partir de diferentes estados teleomórficos del género *Penicillium sp.*, se originan los géneros *Talaromyces sp.*, y *Eupenicillium sp.*” (Pitt, 1979; Houbraeken et al., 2020); estos nuevos géneros presentan características macroscópicas y microscópicas y sintomatología similares a las reportadas para *Penicillium sp.* Por ello, es indispensable realizar la identificación del patógeno usando taxonomía integrativa (morfología, morfometría y molecular) que permita establecer la identidad del agente causal de la patología, en ese sentido, los caracteres moleculares lograrán determinar la variabilidad intra e interespecífica entre la especie y los demás géneros.

Los hongos fitopatógenos particularmente suelen identificarse morfológicamente a través de estructuras reproductivas, específicamente a partir del micelio; macroscópicamente se puede reconocer de acuerdo a la forma de la colonia, color y tamaño, y microscópicamente por medio de sus hifas, distribución de conidios y esporas; Pero, “debido a la complejidad y similitud morfológica de algunos organismos y a factores ambientales que influyen en la expresión genética, la mayoría de las veces resulta complejo identificarlos” (Saif et al., 2020). “Para lograr la identificación de hongos, se emplea con mayor frecuencia la secuenciación de las regiones ITS del ADN ribosomal, específicamente con los primers ITS 1 e ITS 4” (White et al. 1990; Zhang et al., 2017), las cuales “permiten diferenciar estos organismos por sus características intra e interespecíficas, logrando reconocer su filogenia por su alto grado de preservación y variabilidad” (Saltos, 2012).

“La pudrición de frutos se puede presentar en las etapas iniciales como parches blandos, acuosos, decolorados y de diversos tamaños, esto se ve reflejado en diferentes fragmentos de los frutos afectados” (Agrios, 2002). Actualmente, no hay claridad acerca de los posibles daños morfológicos en la parte comestible del fruto (mesocarpio) de borojó y de la cuantía de las pérdidas económicas que se pueden llegar a generar por la presencia de este patógeno. Existen autores como (Viáfara et al., 2013) que afirman que “este patógeno puede acortar el periodo de vida del futo en postcosecha”. Mientras que, (Londoño, 1999) dice que “el agente causal de la pudrición del fruto no incide en daños en el mesocarpio del fruto, debido a que este se presenta regularmente en la parte externa (epicarpio)”. Sin embargo, existen altas probabilidades de que el fruto se vea afectado principalmente en su estética y calidad, causando rechazo por parte de los consumidores y dificultando su comercialización.

De acuerdo con lo anterior, es necesaria la implementación de técnicas de control sostenibles para esta enfermedad que no generen impactos ambientales o de salud pública por efectos de residualidad de moléculas tóxicas como comúnmente sucede con los controles donde se utilizan productos de síntesis química; para esto, es necesario llevar a cabo una descripción y análisis de la enfermedad en entornos in vivo e in vitro, sentando las bases para garantizar un manejo técnico sostenible e inocuo para prevenir o controlar esta patología.

“Los bicarbonatos y carbonatos son sales que comúnmente son utilizados en alimentos para la regulación y/o optimización de procesos como fermentación, control de pH y podredumbre; además de ser utilizados para controlar algunos organismos fitopatógenos” (Fallik, E. et al 1997; Müller & Anchorena 2001). Prácticas de manejo en poscosecha de la fruta cítrica para mejorar su calidad exportable. El USDA catalogó gran parte de los bicarbonatos y carbonatos como parte de los ingredientes de productos etiquetados y clasificados como orgánicos. Según lo reportado por (Smilanick et al., 1997; Palou, 2018), “la sumersión de frutos enfermos por moho verde en carbonato de sodio en concentraciones bajas, resulta en un buen control para esta enfermedad en comparación con fungicidas comerciales”. Se ha demostrado en estudios previos que el carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) controla el moho verde incluso al ser aplicado después de haber transcurrido un tiempo considerable desde la inoculación del patógeno; lo cual resulta de suma importancia debido a que las infecciones quiescentes en frutos como el borjón se presentan en heridas causadas durante las etapas de cosecha y pos cosecha.

Esta iniciativa tiene una relevancia social importante, pues las comunidades rurales del pacífico colombiano comúnmente cultivan esta especie como modo de pan coger y no como agrosistemas a gran escala, no obstante, es una fuente importante de ingresos económicos que contribuyen a satisfacer necesidades básicas de las familias pertenecientes a estas comunidades, por lo que esta propuesta busca generar alternativas de manejo en postcosecha para este fruto y tener un impacto directo o indirecto en el desarrollo económico de este territorio colombiano.



## 1. OBJETIVOS

Objetivo General:

Diagnosticar y establecer una estrategia de manejo para agente causal asociado a la pudrición del fruto en borjón (*Alibertia patinoi* (Cuatrec.) Delprete & CH Perss.), en postcosecha y bajo condiciones in vitro en el D.E. Buenaventura.

Objetivos específicos:

- Determinar mediante caracteres morfológicos el agente causal primario de la pudrición del fruto o moho verde asociado al fruto de borjón en poscosecha.
- Establecer la identidad taxonómica del agente causal del moho verde en borjón basado en características moleculares.
- Proponer estrategias de manejo para el agente causal asociado a la pudrición del fruto de borjón utilizando carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) en diferentes concentraciones.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ASPECTOS GENERALES DEL BOROJÓ (*Alibertia patinoi* (Cuatrec.) Delprete & CH Perss.).

#### 2.1.1. Origen

El borojó es un arbusto que se encuentra dentro de la familia de las Rubiáceas, es originario de Suramérica, en el área comprendida entre el sur de Panamá, el pacífico colombiano y el noroccidente de Ecuador. “Esta planta, tiene como nombre común “cabeza colgante”, nombrado así por las comunidades indígenas Embera que habitan estas zonas del Chocó biogeográfico debido a la forma como los frutos cuelgan de las ramas” (Lasso, 2020).

**Figura 1.** Arbusto de borojó.



**Fuente:** Propia.

En Colombia, el borojó es nativo del departamento del Chocó, beneficiado por las condiciones edáficas y ambientales de esta región y la relación con las demás especies arbóreas que se desarrollan en esta zona; es conocida como una especie tropical y silvestre, por lo cual, fue una planta desconocida por los botánicos durante mucho tiempo. Desde este departamento se distribuyó el material vegetal de esta especie (semillas y plantas), el cual permitió la propagación de la misma a lo largo y ancho de la región pacífica colombiana, especialmente en el municipio de Buenaventura ubicado en el departamento del Valle del Cauca (Córdova, s.f).

### 2.1.2. Condiciones ambientales favorables

Las regiones donde crece y se desarrolla esta especie, normalmente presentan precipitaciones por encima de los 4.000 mm anuales, temperatura promedio por año de 28 °C y con una humedad relativa igual o superior al 85%. Imprescindiblemente, esta especie necesita del sombrero que origina la vegetación arbórea del bosque. Estas condiciones, permiten tener alguna aproximación sobre los requerimientos edafoclimáticos y los posibles manejos que se deberían contemplar para el establecimiento del borojó como cultivo; aunque hasta el momento, no se tiene certeza sobre la posibilidad de que esta especie se pueda extender hacia otras regiones que presentan condiciones ambientales diferentes (Córdova, s.f).

### 2.1.3. Descripción morfológica

Esta planta es un arbusto que integra el grupo de las angiospermas, puede llegar a crecer entre 3 a 5m de altura, presenta un tallo leñoso y erguido, sexualmente son plantas dioicas (planta macho y hembra) por lo que su polinización es cruzada; la planta masculina es proveedora de polen, mientras que la femenina es donde se presenta la formación de los frutos. Hasta el momento, la diferenciación entre planta macho y hembra solo se puede efectuar cuando estas se encuentran en etapa reproductiva. El tipo de las inflorescencias de la planta masculina es en racimo y de color blanco crema; mientras que, en las plantas femeninas, sus flores son terminales, solitarias, y de color similar a las flores macho (Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversiones [CORPEI], 2005).

**Figura 2.** Inflorescencia masculina y flor femenina.



**Fuente:** Propia.

El fruto de borjój, es una baya carnosa, con un diámetro que oscila entre 7 a 12 cm, su forma es esférica, al inicio de la formación presenta un color verde claro y cuando alcanza el estado de maduración su color cambia a café intenso. La parte carnosa del fruto (mesocarpio) es de color café y con una textura que presenta una sensación pegajosa al tacto, cada fruto puede contener entre 90 a 640 semillas y se cosecha cuando estos caen de la planta (Giraldo et al, 2004).

**Figura 3.** Fruto de borjój.



**Fuente:** Propia.

## 2.2. EL BOROJÓ COMO UNIDAD PRODUCTIVA

### 2.2.1. Técnicas de propagación

La planta de borjój, se puede propagar por semillas, estas se seleccionan de frutos maduros regularmente de las mejores plantas. Posteriormente, a las semillas se les retira los residuos del mesocarpio con agua y se dejan secar durante 48 horas. La germinación de la semilla se presenta con mayor regularidad en sustratos orgánicos con buena humedad, alta capacidad de infiltración y en condiciones de sombrero, las semillas de este fruto pueden tardar en germinar aproximadamente treinta días; luego de que se presenta la emergencia, las plántulas son trasplantadas a bolsas de vivero con sustrato orgánico, donde permanecen por aproximadamente 6 meses para luego ser plantadas en sitio definitivo (López, 2000).

El borojó es una especie dioica y presenta una problemática de diferenciamiento sexual durante su etapa vegetativa, por lo cual, no se puede reconocer el macho (no productor de fruto) de la hembra (productora de frutos) al momento de realizar la propagación de esta especie de manera sexual, por lo cual, el reconocimiento sexual solo se puede efectuar cuando las plantas se encuentran en etapa reproductiva al identificar el tipo de flor que presenta cada individuo; lo cual influye de manera negativa en la producción y no permite estimar el rendimiento por hectárea (Medina, 2007).

La multiplicación vegetal de manera asexual en el borojó se realiza a través de diversas partes de la planta como acodos y estacas; los acodos, se practican en arbustos hembra que presentan vigorosidad y buena producción, particularmente, se usa el acodo aéreo hiriendo una rama de la planta superficialmente (en la corteza), acomodando suelo en plástico y sujeto en el lugar para que se den las condiciones de enraizamiento. Aproximadamente en 90 días el acodo aéreo estará listo para ser desprendido del arbusto y ser embolsado.

Para el caso de la multiplicación por estacas, también se seleccionan arbustos hembra fuertes y con buena producción, se debe utilizar la parte terminal de las ramas con una medida de unos 30 cm aproximadamente; los entrenudos deben ser cortos y se deben realizar heridas en la base de la misma y colocar en sustrato empleando enraizantes. Cabe mencionar, que este proceso se debe llevar a cabo con poca luminosidad y con riego constante; después de algunos días la estaca estará lista para ser embolsada (López, 2000).

### 2.2.2. Siembra

La siembra del borojó se debe realizar en cuadro o al tres bolillo en distancias de siembra de 4m entre surcos y 4m entre plantas; Cabe mencionar, que las distancias de siembra pueden aumentar o disminuir según las condiciones ambientales y la topografía del lote. Los hoyos para el establecimiento definitivo de cada planta deben tener medidas de 40 cm x 40 cm x 40 cm como mínimo. Cada hoyo debe prepararse con abono orgánico y cal agrícola como regulador de pH, es relevante sembrar las plantas en tiempos de lluvia, dado que esta especie requiere de esta condición para su óptima adaptación y desarrollo (López, 2000).

### 2.2.3. Sombrío

Para este cultivo, es indispensable el sombrío en sus etapas iniciales, por esto, es importante la asociación del mismo con alguna especie forestal o de otra especie

cultivable, por ejemplo, las musáceas son una alternativa eficiente para cumplir esta función, se plantan antes de establecer el cultivo principal (borojó). El sombrío debe de iniciar en un 80 % y reducirse prolongadamente a un 30% hasta los 24 meses de edad de la planta. (Mosquera & Arenas, 1995).

#### 2.2.4. Control de arvenses

El control del arvenses en este cultivo es de suma importancia, por esta razón se debe realizar controles de las mismas como mínimo cada 4 meses o cuando se requiera, sin embargo, se pueden emplear controles culturales como el establecimiento de especies leguminosas forrajeras (Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversiones [CORPEI], 2005).

#### 2.2.5. Podas

En cuanto a las podas en el borojó, se deben realizar a partir de los 24 meses de edad de la planta, esto quiere decir que en el primer año la planta no requiere de ninguna labor de poda permitiendo que la planta pueda desarrollarse de manera óptima y presentar una mayor productividad (Mosquera & Arenas, 1995).

Otra manera de reconocer el momento preciso para efectuar las podas es cuando la planta alcance los 120 cm de altura, en este momento se puede realizar el despunte con herramientas de poda, con el objetivo de que la planta emita ramificaciones y no alcance alturas muy elevadas que compliquen las labores de manejo y cosecha (López, 2000).

#### 2.2.6. Productividad

La producción del arbusto de borojó inicia a los 36 meses de haber sido establecido en el sitio definitivo, pero, la formación de los primeros frutos comienza a partir de los 24 meses. Inicialmente, las plantas producen entre 5 a 6 frutos en promedio, en el transcurso de los meses aumenta y se normaliza a los 6 años de edad de la planta, alcanzando producciones de hasta 40 frutos por arbusto (López, 2000).

Cabe señalar, que en “las plantas multiplicadas de forma asexual la producción puede ser más prematura” (Mosquera & Arenas, 1995).

El rendimiento estimado con distanciamientos de siembra de 3m entre planta y 4m entre surcos es de 30.000 frutos al año. Es importante que el 5 % de los arbustos sean machos en la unidad productiva, con la principal intención que haya una buena y efectiva polinización (Mosquera & Arenas, 1995).

#### 2.2.7. Cosecha y postcosecha

Los frutos de borjón regularmente se recogen del suelo después de desprenderse de forma natural del arbusto, lo que indica que estos han alcanzado un 100 % de madurez y son óptimos para ser consumidos, por lo anterior, se recomienda realizar un monitoreo constante del cultivo en la etapa de cosecha, garantizando la recolección frecuente de los frutos y así evitar pérdidas de frutos por daños causados por insectos al estar en contacto con el suelo. “En la etapa de postcosecha, los frutos se lavan con agua limpia y se almacenan en ambientes frescos, con poca humedad y bajo la sombra” (Nutriward, 2005).

Desde la fecundación hasta la maduración y caída del fruto pueden transcurrir de 9 a 12 meses y pese a que este fruto se descompone rápidamente, la pulpa de los frutos puede almacenarse hasta 6 meses en temperaturas y en recipientes herméticos (Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversiones [CORPEI], 2005).

#### 2.2.8. Plagas y enfermedades

En el cultivo de borjón no se han reportado plagas y/o enfermedades que afecten significativamente la producción y el rendimiento; pero es relevante mencionar, que la especie *Atha cephalotes* (hormiga arriera) debe ser controlada oportunamente, ya que este insecto puede defoliar el arbusto de borjón; su control se puede realizar a través del uso de insecticidas o controles culturales (Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversiones [CORPEI], 2005).

Por otra parte, se ha evidenciado que los frutos de borjón son susceptibles al ataque de un hongo (moho verde) en la etapa de postcosecha, afectando su calidad y vida útil, y ocasionando pérdidas económicas a los productores, ya que los frutos afectados por este hongo son difícilmente comercializados debido a su mal aspecto.

### 2.2.9. Usos del boroj6

En la agroindustria, el boroj6 tiene muchos usos. "En la actualidad, este se usa como fuente de alimentaci6n, principalmente como fermentado (chicha), mermelada, salsas, helados, bebidas artesanales, shampoo, mascarillas, entre otras. Frecuentemente el boroj6 se comercializa en pulpa de fruta procesada, principalmente para la elaboraci6n de jugo" (Nutriward, 2005).

## 2.3. POSIBLES AGENTES CAUSALES ASOCIADOS A LA PUDRICI6N DEL FRUTO EN BOROJ6

De acuerdo con algunos estudios que se han realizado en el distrito especial de Buenaventura, basados en la observaci6n de la sintomatolog6a y las caracter6sticas macrosc6picas del pat6geno asociado a la 6nica enfermedad que se ha reportado en el fruto de boroj6, se ha considerado hasta ahora que se trata de un hongo perteneciente al g6nero *Penicillium sp.*, posiblemente la especie *P. digitatum* pues presenta caracter6sticas sintomatol6gicas similares a las asociadas a este pat6geno en otros cultivos.

### 2.3.1. G6nero *Penicillium*

#### 2.3.1.1. Generalidades

*Penicillium* es un g6nero de hongos filamentosos, hialinos y sapr6fitos que pertenecen al filo Ascomycota, los cuales forman micelio haploide que poseen septas, producen conidios y raras veces producen esporas sexuales llamadas ascosporas; macrosc6picamente, las colonias presentan color azul, gris oliva, verde, tonos rosados o azul verdoso dependiendo de la especie, y normalmente son de crecimiento r6pido.

Este tipo de hongos producen un micelio que contiene ascosporas (esporas sexuales), septos y conidios (esporas asexuales); a la etapa conidial o asexual se le denomina fase anaforma o imperfecta, mientras que a la fase sexual se le conoce normalmente como etapa teleomorfa o perfecta; sin embargo, durante la mayor parte de los estados de crecimiento no se forman las estructuras sexuales y por ende son dif6cilmente encontradas en tejidos vegetales enfermos, en cambio, es muy frecuente encontrar en plantas enfermas micelio y conidios, los cuales son lo suficientemente 6tiles a la hora de identificar al hongo (Agrios, 2005).



“Este género de hongos produce enfermedades en plantas cultivables que pueden manifestarse como manchas foliares, tizones, canchros, marchitamientos vasculares, pudriciones blandas, pudriciones de raíz, tallo y fruto y antracnosis” (Agris, 2005).

De acuerdo con las características sintomatológicas de la patología observadas en campo y con la macro y micro morfología evidenciada en laboratorio en algunos estudios previamente realizados para tener claridad acerca del agente causal de la pudrición del fruto en borjón, se ha conjeturado de que podría tratarse del hongo *P. digitatum*, causante del moho verde en cultivos de cítricos.

### 2.3.2. *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc.

#### 2.3.2.1. Taxonomía

El hongo *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc., fue clasificado y caracterizado por Saccardo en 1881. Su clasificación taxonómica indica que pertenece a la clase Fungi, división Ascomycota, clase Eurotiomycetes, orden Eurotiales, familia Trichocomaceae y género *Penicillium*.

#### 2.3.2.2. Importancia de la especie

Este hongo es de suma importancia en la agricultura pues es el causante del moho verde de los cítricos, según un estudio realizado por (Tuset, 1988), *P. digitatum* es el causante del 60 al 80% de la pérdida total en postcosecha en naranjas y mandarinas durante la etapa de comercialización, y representó del 30 al 55% de la pérdida en lugares de almacenamiento de las empacadoras de cítricos.

Así mismo, (Ceponis et al., 1986) encontró “en inspecciones realizadas a cítricos procedentes de Florida California que el moho verde estaba presente en aproximadamente el 30% de los envíos registrados. Del mismo modo”, (Pelser, 1977) reportó que “en Londres el moho verde representaba el 75% de la descomposición total en naranjas de la variedad Valencia procedentes de Sudáfrica; e igualmente fue el causante de la pudrición de más del 50% de pomelos y limones”.

### 2.3.2.3. Proceso de infección

El *P. digitatum* (moho verde) generalmente causa mayores pérdidas durante la etapa de comercialización porque los frutos están expuestos a condiciones donde predomina la temperatura ambiente y donde causa la infección a través de las heridas presentes en el exocarpo. Comúnmente, “estas heridas en los frutos son producidas durante las etapas de cosecha y/o postcosecha o durante su comercialización, pero en algunas ocasiones esta infección puede ocurrir antes de que los frutos sean cosechados, a través de heridas causadas por insectos” (Palou, 2014). Los frutos que son infectados antes de la cosecha normalmente caen del árbol, pero según lo reportado por (Eckert & Eaks, 1989; Barkai, 2001), “la fruta infectada en menos de tres días antes de la cosecha no puede detectarse como enferma y puede cosecharse como sana”.

Las esporas de hongos provenientes de frutos que se descomponen en el suelo dentro de los cultivos, las zonas de almacenamiento, el transporte y los sitios de comercialización, son trasladadas numerosamente por acción de las corrientes de aire, contaminando frutos sanos en zonas cercanas. Sin embargo, si el exocarpo del fruto no manifiesta lesiones no se presenta la infección, porque los conidios ubicados en la superficie de la cáscara no pueden germinar. Por el contrario, los conidios situados en lesiones, rompen las glándulas sebáceas o atraviesan y se ubican en el albedo de la piel y causan una infección irreversible dentro de 48 horas con temperaturas óptimas que oscilan entre 20 y 25°C (Palou, 2014).

### 2.3.2.4. Sintomatología

A medida que se presenta el crecimiento del hongo, se desarrolla un micelio adherido al epicarpio de color blanco en el centro de la lesión, el cual se expande de forma circular. Generalmente, la esporulación comienza entre los 3 a 5 días a temperaturas ambiente entre 15 y 28°C, se extiende radialmente y forma una textura aterciopelada. Después de 7 a 8 días el centro de la lesión adquiere color verde oliva y a su alrededor crece un micelio en forma de banda de color blanco y de textura densa, delimitado por una porción de cáscara en descomposición bastante firme; con el tiempo, todo el fruto es cubierto completamente en su superficie por esporas, y el fruto comienza a reducir su tamaño (Palou, 2014).

### 2.3.2.5. Control de *Penicillium digitatum*

Debido a su gran importancia económica, el control del moho verde y azul, ha sido el mayor reto en postcosecha para la producción de cítricos en todo el mundo, por tal motivo, es

importante analizar la eficacia y efectividad de los programas de manejo para esta enfermedad; ya que durante muchos años se ha controlado mediante la aplicación de fungicidas de síntesis industrial. Sin embargo, a pesar de la eficacia de los fungicidas químicos industriales, en los últimos años ha surgido la preocupación sobre la contaminación ambiental y los riesgos para la salud humana y animal causados por los residuos de estos fungicidas, lo cual conlleva a prohibir el uso de algunos de los ingredientes activos disponibles en el mercado.

Del mismo modo, los mercados internacionales exigen cada vez más productos agrícolas con bajos niveles de pesticidas para garantizar la salubridad y la seguridad de los consumidores. A su vez, el uso continuo e intensivo de estos compuestos químicos sintéticos ha generado la proliferación de biotipos resistentes a estos fungicidas comerciales, lo que disminuye significativamente la efectividad de estos tratamientos de control y aumenta las pérdidas económicas y los costos de producción.

Por tal motivo, se han estudiado diferentes métodos de control para esta enfermedad y poder ejecutar planes de manejo integrado eficaces que disminuyan las pérdidas económicas por causa de este patógeno. Algunos de los métodos alternativos para los fungicidas de síntesis industrial que se han utilizado para controlar esta patología son: extractos naturales (aceites), sustancias GRAS (químicos no tóxicos) como los carbonatos y bicarbonatos, fungicidas de bajo riesgo a base de azufre o sulfato de cobre, otros productos químicos como el peróxido de hidrogeno, bórax, dióxido de azufre, ácido bórico y el etanol (Palou, 2007), al igual que el uso de la temperatura (inmersión en agua caliente o la refrigeración), recubrimiento con ceras, irradiación con rayos UV y el control biológico con hongos antagonistas.

### 2.3.3. Género *Talaromyces*

#### 2.3.3.1. Generalidades

El género *Talaromyces* fue incluido en 1955 para acomodar especies teleomórficas del género *Penicillium* con ascomatas (reproducción sexual). Posteriormente, “estudios filogenéticos revelaron que el género *Penicillium* era polifilético mientras que las especies de *Talaromyces* y miembros del subgénero *Biverticillium* pertenecían a un clado distinto de *Penicillium*” (LoBuglio et al., 1993). Por lo cual, todas las especies aceptadas de *Penicillium* subgénero *Biverticillium* fueron transferidas al género *Talaromyces*.

Antes de entrar a regir el cambio de nomenclatura para la clasificación de hongos, se utilizaba el nombre *Penicillium* como género para las formas clonales (anamorfos) de

hongos y *Talaromyces* para las formas sexuales (teleomorfos) de hongos. No obstante, después de 2013, los hongos fueron reclasificados de acuerdo con su relación genética entre sí, desde entonces, los géneros *Penicillium* y *talaromyces* agrupan especies capaces de reproducirse solamente de forma asexual y otras que se reproducen de manera sexual (Universidad de Buenos Aires, 2023).

A partir de allí se han descubierto nuevas especies de hongos pertenecientes a este género; (Samson et al., 2011) “clasificaron 71 especies de *Talaromyces*”; posteriormente, nuevos estudios como los realizados por (Yilmaz et al., 2014) sobre la taxonomía detallada del género *Talaromyces* utilizando un enfoque polifásico basado en filogenia multigénica, morfología y extrolitos de las regiones de los genes ITS,  $\beta$ -tubulina (Ben A) y RPB2; dieron como resultado “la clasificación de 88 especies divididas en siete secciones diferentes (Bacillispori, Helici, Islandici, Purpurei, Subinflati, *Talaromyces* y Trachyspermi)”. En los últimos años han aumentado los estudios acerca del género *Talaromyces* dando como resultado que hasta el año 2021, se hayan identificado alrededor de 175 especies, de las cuales 76 taxones abarcan la sección *Talaromyces*, lo que la convierte en la sección más grande de este género.

#### 2.3.3.2. Importancia del género *Talaromyces* sp.

Según diferentes estudios, el género *Talaromyces* contiene especies que tienen gran importancia en distintas áreas como la medicina, la industria alimentaria y la agricultura; por ejemplo, “se ha reportado que *Talaromyces marneffe* es un patógeno que causa una micosis fatal en personas inmunodeficientes en países del continente asiático como Tailandia, China, Vietnam y Taiwán” (Hien et al., 2001), caso similar a lo reportado por (Yilmaz et al., 2012), quienes “aislaron *Talaromyces amestolkiae* y *Talaromyces stollii* de los pulmones y el esputo de pacientes inmunodeprimidos”. A demás según amplios estudios, “se ha reportado que *Talaromyces marneffe* es la única especie dimórfica perteneciente a este género, que produce un crecimiento filamentoso a 25°C y una fase de levadura a 37°C” (Andrianopoulos, 2002).

También se han descrito otras especies de *Talaromyces* de importancia médica; Por ejemplo, según aislamientos realizados por (Weisenborn et al., 2010), “se observó la presencia de *T. indigoticus* en lesiones cutáneas y ungueales de un hombre afectado por onicomiosis en el oeste de Panamá”. Por otra parte, se ha identificado la presencia de algunas especies de *Talaromyces* asociadas a diferentes enfermedades; por ejemplo, “se ha evidenciado que *Talaromyces piceus* causó tanto fungemia” (Horre et al., 2001) y “osteomielitis costal en una enfermedad granulomatosa crónica ligada al cromosoma X” (Santos et al., 2006).

Por otra parte, se ha reportado que unas pocas especies de este género causan enfermedades en animales, según lo descrito por (de Vos et al., 2009), “*Talaromyces radicus* causó una

infección mortal en un perro pastor alemán”; así mismo, se reportó por parte de (Tomlinson et al., 2011) que “*Talaromyces helicus* causó linfadenitis granulomatosa en un perro labrador retriever”.

Se ha informado también, que “*T. stipitatus*, *T. trachyspermus*, *T. helicus*, *T. wortmannii*, *T. bacillisporus*, *T. macrosporus* y *T. flavus* producen ascosporas resistentes al calor que provocan el deterioro de los jugos y demás productos a base de frutas” (Dijksterhuis, 2007). Del mismo modo, según lo reportado por diversos autores, “algunas especies pertenecientes al género *Talaromyces* producen micotoxinas dentro de productos alimenticios (*T. purpurogenus*) causando daños hepáticos severos dependiendo el grado de concentración de rubratoxina” (Yilmaz et al., 2012). Otra especie de gran interés agrícola y médico es *T. islandicus*, el cual “afecta el arroz en etapa de pos cosecha causando grandes pérdidas económicas por el deterioro que causa en la estética del producto (amarillamiento), además de producir micotoxinas como luteoskyrin, islanditoxina, cicloclorotina y eritroskyrina, las cuales son agentes cancerígenos y hepatotóxicos” (Yilmaz et al., 2014).

Del mismo modo, se ha descrito que *T. radicus*, y *T. wortmannii*, *T. rugulosus* y *Talaromyces islandicus*, producen Rugulosina y Skirina. “La rugulosina es un pigmento antraquinóide con un efecto antibacteriano específico contra las bacterias *Staphylococcus aureus*” (Yamazaki et al., 2010) y también “demostró ser moderadamente activo contra *Pythium* y que podría ser un hepatocarcinógeno” (Ueno et al., 1980; Mousa & Raizada, 2013).

Igualmente, diferentes autores han reportado que “las especies de *Talaromyces* comúnmente producen pigmentos de color amarillo, naranja y rojo en sus micelios; como lo son los pigmentos policétidos de azafilona como las mitorubrininas (mitorubrina, mitorubrinol, acetato de mitorubrinol y ácido mitorubrínico” (Kalra et al., 2020) y “los pigmentos rojos de *Monascus* (N-glutaril monascorubramina, N-glutarilrubropunctamina, monascorubramina, monascina, PP-R y otros” (Mapari et al., 2009).

Por otra parte, se ha identificado gracias a diferentes estudios que *T. minioluteus*, *T. albobiverticillius*, *T. marneffeii*, *T. atroroseus*, *T. albobiverticillius*, y *Talaromyces purpurogenus* producen altas cantidades de mitorubrininas; sin embargo, sólo se ha identificado que *T. atroroseus* produce de forma regular y eficiente las familias biosintéticas de la azafilona, mitorubrininas y pigmentos de *Monascus* sin contenidos de micotoxinas y, es por esto, que es una especie de gran potencial para ser utilizada para la producción biotecnológica de estos pigmentos (Frisvad et al., 2013).

Cabe resaltar que en el ámbito de la agricultura “se ha encontrado una especie de hongo antagonista dentro de este género, *Talaromyces flavus*, el cual es utilizado como agente de biocontrol de fitopatógenos presentes en el suelo como, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Verticillium albo-atrum*” (Gohel et al., 2006); además, se ha demostrado en diferentes estudios que “esta especie de hongo antagonista anula de manera eficiente la marchitez en cultivos como el tomate” (Rezaee, et al.,2010) “la berenjena, la papa, el algodón y el pepino” (Naraghi et al., 2010, & Naraghi et al., 2012).

De acuerdo con las características particulares que presentan algunas de las especies pertenecientes a este género, así como la capacidad para producir enzimas y pigmentos solubles hace que *Talaromyces* sea un género importante para la biotecnología. “Entre las especies productoras de enzimas se encuentran *T. pinophilus* que produce endoglucanasa y celulasa” (Pol et al., 2012), “*T. rugulosus* la cual produce  $\beta$ -rutinosidasa y fosfatasa” (Narikawa et al., 2000), “*T. cellulolyticus* que se considera un importante degradador de la celulosa” (Houbraken et al., 2014) y “*T. funiculosus* que produce celulasa” (Maeda et al., 2013).

## 2.4. TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FITOPATÓGENOS

### 2.4.1. Identificación morfológica

Para la identificación de hongos, es de suma utilidad realizar diagnósticos basados en las características morfológicas que presentan dichos organismos, de tal forma que pueda inferir su forma de diseminación, su desarrollo y reproducción; esta información resulta de gran utilidad para comprender su comportamiento y poder tomar decisiones de manejo y/o control de patologías vegetales a las cuales se asocian.

De acuerdo con lo anterior, Los hongos fitopatógenos se pueden identificar por los síntomas que causan en los tejidos vegetales o por los signos o estructuras que presentan al ser observados por equipos de observación especializada como estereoscopios y microscopios.

#### 2.4.1.1. Síntomas

Son manifestaciones visuales que aparecen en los tejidos vegetales al ser infectados y colonizados por microorganismos fitopatógenos.

Los síntomas pueden ser de tipo morfológicos que se presentan en la parte exterior de los tejidos enfermos, histológicos que se presentan internamente y fisiológicos. Estos

organismos fitopatógenos pueden producir dos tipos de síntomas; los síntomas localizados: las necrosis, clorosis y chancros; y los síntomas sistémicos: las pudriciones, la marchitez, la muerte descendente, los tizones y el Damping Off (Granados – Montero, 2018).

#### 2.4.1.2. Signos

Los signos son estructuras morfológicas del hongo que pueden ser de tipo vegetativo o de reproducción, que se encuentran presentes en el síntoma característico de la patología, y que, en ciertas enfermedades como los mildiús, los carbonos y las royas permiten la identificación del agente causal.

Si el patógeno se encuentra en etapa asexual es probable observar conidióforos, conidios, esporangióforos, picnidios, esporangios, esporodóquios, zoosporas y acérvulos. Por el contrario, si el patógeno se encuentra en etapa sexual se podrán observar estructuras como anteridios, oogonios, peritecios, apotecios, teliosporas, cleistotecios y oosporas. Tanto en la etapa sexual como en la fase asexual es factible encontrar micelio, si el hongo presenta hifas cenocíticas es factible que el organismo pertenezca al grupo de los Chromistas; así mismo, si presentan septos simples es probable que el hongo sea Ascomicete y si el organismo presenta septos doliporos con fíbulas es un hongo que pertenece al grupo de los basidiomicetes (Granados – Montero, 2018).

#### 2.4.2. Identificación morfométrica

“La identificación morfométrica de hongos fitopatógenos se fundamenta en la visualización y medición de estructuras específicas que permitan asociarlas a los géneros y/o especies reportadas de acuerdo con los grupos taxonómicos” (Carris et al., 2012). Las principales características observadas y estudiadas para la clasificación e identificación morfométrica de hongos son:

Morfología de la colonia, color de la colonia (anverso y reverso), conidios (forma, tamaño), tipo de esporas (sexuales o asexuales), estructuras (esporangios, conidióforos o cuerpos fructíferos), esporas de resistencia (teliosporas o esclerocios), características del micelio (septado o cenocítico, toruloso o liso), forma, color, tamaño y de las esporas y presencia, número y tamaño de flagelos.

Para realizar la identificación morfométrica de hongos se deben seguir los siguientes pasos: **a.** Localizar las estructuras características del hongo y elaborar montajes, **b.** Observar los montajes con el uso de un microscopio para determinar el género y/o la especie del hongo comparando las características analizadas con las claves taxonómicas y las características reportadas en la literatura especializada (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria [SENASICA], 2018).

#### 2.4.3. Identificación molecular

A pesar de que el método de caracterización morfológica o fenotípica es el estándar para la identificación de la mayoría de hongos, los métodos moleculares son una herramienta indispensable en los estudios que surgieron como consecuencia procesos complicados de identificación bioquímica y/o fenotípica. El uso de la enzima TAQ polimerasa fue el sistema pionero para identificar cepas de hongos en bebidas, alimentos y en humanos; desde entonces, las pruebas moleculares empezaron a ser alternativas complementarias a las pruebas de identificación fenotípica, teniendo como particularidad el brindar una mayor especificidad y singularidad de los ensayos (Cifuentes & Espinosa, 2008).

El proceso de identificación molecular de hongos comienza con la extracción de ADN de aislamientos puros, en los que se ve involucrada directamente la genómica, la proteómica y la metabolómica de cada individuo y que son fundamentales dentro de la clasificación taxonómica (Lurá et al., 2003)

Seguidamente, el ADN se somete a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual es una de las primeras técnicas moleculares y cuya finalidad es la ampliación de un fragmento de ADN de la muestra en estudio; allí se amplifica la región ITS (ITS1 e ITS4) y el gen  $\beta$ -tubulina (Bt2a y Bt2b).

Posteriormente, se realiza la alineación de las secuencias obtenidas, utilizando la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, 2024) mediante el Targeted Loci Nucleotide (BLAST), el cual permite determinar la identidad del organismo en estudio mediante la comparación de la secuencia obtenida con la base de datos para secuencias reportadas de la región espaciadora transcrita interna (ITS); teniendo en cuenta dos parámetros para la identificación: el E-value, cuyo valor debe estar cercano a 0,0 y la identidad cuyo porcentaje debe oscilar entre el 90 y el 100 %. Finalmente, “se realiza la construcción del árbol filogenético con la ayuda de softwares especializados” (Suarez – Contreras et al., 2022).



## 2.5. USO DE CARBONATOS Y BICARBONATOS DE SODIO COMO CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS

Estudios realizados han demostrado que los carbonatos de sodio son más eficaces para controlar el moho gris de la uva, ya que reduce mayormente la germinación de esporas de *Botrytis cinerea* en comparación con los bicarbonatos de sodio y de potasio. Por otra parte, “la alcalinidad de los carbonatos modifica el pH ácido que favorece la actividad enzimática de los hongos y por lo tanto este proceso metabólico es inhibido y los hongos son eliminados” (Anon, 1999; Juárez – Santillán et al., 2022).

Así mismo, se ha demostrado que la aplicación foliar de bicarbonato de sodio con una concentración del 0,5 % tiene una alta eficacia para el control de la mancha foliar de la vid (*Pseudocercospora vitis*) y presentó mejores efectos que la mezcla de cal bordelesa. No obstante, la aplicación de bicarbonato sódico causó fitotoxicidad en concentraciones superiores al 1% (Park et al., 2014).

Según lo reportado por (Jamar et al., 2007) el bicarbonato de sodio al 1% aplicado en plántulas de manzano redujo significativamente la severidad de la sarna del manzano (*Venturia inaequalis*) en las hojas reduciendo la gravedad de la costra hasta en un 6,9 %; del mismo modo, Las investigaciones in vitro demostraron que el bicarbonato de sodio redujo el desarrollo del crecimiento colonial de *V. inaequalis* a medida que aumentaba su concentración.

Por otra parte, también se demostró en un estudio realizado por (Vaca – Castro, 2022) que el bicarbonato de sodio en concentración del 2% fue el tratamiento más efectivo como control de la antracnosis (*Colletotrichum sp.*) en frutos de papaya (*Carica papaya*) en la etapa de postcosecha, ya que inhibió el crecimiento del hongo patógeno sin alterar las características físico-químicas ni la calidad del fruto.

Del mismo modo, (Rodríguez – Guzmán et al., 2022) demostraron que el carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) en concentración del 2% provocó una inhibición del 100% del crecimiento micelial, germinación y esporulación del hongo *Geotrichum candidum* agente causal de la pudrición ácida del tomate y que hasta el momento se ha comprobado su potencial para infectar gran variedad de frutas y hortalizas.

Por último, se ha demostrado que la combinación de Bicarbonato de Sodio más Jabón produce un mejor control de Mildiu Polvoriento (*Sphaerotheca Fuliginiae*) en el cultivo del Melón, disminuyendo considerablemente la severidad de la enfermedad,

obteniendo mayores rendimientos/hectárea y obteniendo mayores ingresos económicos, estos resultados se atribuyen a que el jabón actúa como coadyuvante lo que permite que el Bicarbonato de Sodio se adhiera a la planta por más tiempo (Calderón – Correa et al., 2006).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. LOCALIZACIÓN**

Las muestras de borojó se colectaron en el corregimiento N°8 del distrito especial de Buenaventura (Valle del Cauca), el cual “presenta una precipitación anual aproximada de 7.000 mm/año, una temperatura media de 26 °C y una humedad relativa del 89 %” (IDEAM, 2010).

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de fitopatología del campus principal de la Universidad del Pacífico ubicada en el barrio el triunfo del distrito especial de Buenaventura, Valle del Cauca. Coordenadas: 3°50'52"N 76°59'57"O.

#### **3.2. IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL BASADOS EN CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS**

Con el fin de aislar el agente fitopatógeno, se tomaron muestras de frutos de borojó que presentaban la sintomatología característica de la enfermedad y posteriormente se realizó el aislamiento del hongo patógeno siguiendo la metodología sugerida por Agrios, (2005). **1.** Se realizó la caracterización de los síntomas de enfermedad en las muestras colectadas basados en forma, color, textura, elevación y humedad; Seguidamente, se realizaron improntas para observar características microscópicas y/o signos del patógeno a través de observaciones al microscopio de luz y usando azul de lactofenol para teñir las estructuras. **2.** Para el aislamiento de los hongos, se fraccionó la muestra en secciones de 25 mm<sup>2</sup>, tomando tejido enfermo y sano. **3.** Los cortes fueron envueltos en gasa para facilitar la desinfección. **4.** En cabina de flujo laminar, se realizó la desinfección superficial de los cortes efectuando el siguiente procedimiento: Se sumergió la gasa con los cortes en etanol al 70% durante 1 minuto; Posteriormente, se retiró el exceso de etanol realizando tres lavados con agua destilada, para nuevamente, sumergir la gasa con los cortes en hipoclorito de sodio al 2%; Igualmente, se removió el exceso de hipoclorito con tres lavados con agua destilada. **5.** para remover el exceso de agua, la gasa con los cortes se puso sobre una toalla de papel estéril. **6.** Usando una pinza estéril, se depositó cada corte en una caja petri con PDA acidulado. **7.** Las cajas Petri con los explantes se incubaron a 25 °C durante 5 días. **8.** Seguidamente, se realizaron improntas de las

colonias para determinar el género del agente causal de la enfermedad mediante la observación y análisis de características macro-morfológicas de los aislamientos del hongo como la coloración de la colonia, el diámetro y la coloración al reverso de la colonia; y de las características micro-morfológicas como la presencia de ramificación, conidióforos, fiálides cleistotecios, conidios y esclerocios para luego “ser cotejadas con las claves taxonómicas” (Barnet & Hunter, 1972).

### 3.2.1. Caracterización morfológica

La caracterización morfológica se realizó con base en las recomendaciones de identificación para el género *Talaromyces* de Yilmaz et al. (2014). Los caracteres de la colonia se evaluaron en Agar autolisado de Levadura Czapek (CYA), Agar Extracto de Malta (MEA) y Agar Sacarosa Extracto de Levadura (YES). Las cepas se inocularon en tres puntos sobre estos medios en cajas Petri de 90 mm. Las cajas se incubaron en la oscuridad durante 7 días a 25 °C. El color de las colonias se determinó utilizando la tabla Munsell para tejidos vegetales (SKU M50150). Las observaciones microscópicas se realizaron con un microscopio de fase Zeiss AxioLab A1 con cámara AxioCaM MRc5 y el software ZEN Blue v. 3.1. Se realizaron 30 mediciones de los conidios y otras estructuras morfológicas para calcular el promedio, la desviación y los valores mínimo y máximo.

### 3.3. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

La patogenicidad del aislamiento se determinó mediante la inoculación de discos de crecimiento activo del hongo (5 mm diámetro) en frutos de borjón sanos en estado de maduración realizada por aspersión a una concentración de  $1 \times 10^6$  esporas/ml, los frutos inoculados estuvieron bajo condiciones de humedad relativa de aproximadamente 90 % y a una temperatura de 25 °C según la metodología de Guédez et al, (2010).

### 3.4. IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DEL HONGO MEDIANTE ADNr Y ADNmt

#### 3.4.1. Extracción de ADN

El ADN genómico de cada aislamiento cultivado en PDA durante 7 días a 25 °C se extrajo siguiendo el protocolo de Dellaporta et al., (1983) modificado por Velásquez -Ortiz, (2023). En donde, el micelio del hongo se recogió en un tubo eppendorf de 1.5 mL. Se adicionó 500 µL del buffer de extracción (100 mM Tris - HCl (pH 7.2), 10 mM de EDTA (pH 8.0), SDS al 10 %) y se maceró con un pistilo de plástico durante 5 minutos. Posteriormente, se incubó a 65 °C durante 1 hora y se le agregó 500 µL de Fenol/Cloroformo/Alcohol Isoamílico (25:24:1), se mezcló por

inversión durante 30 segundos y se centrifugó a 13.000 r.p.m durante 12 minutos a temperatura ambiente. Se transfirió el sobrenadante a un nuevo tubo eppendorf y se adicionó 500  $\mu$ L de Cloroformo/Alcohol Isoamílico (24:1), se mezcló por inversión durante 30 segundos y se centrifugó a 13.000 r.p.m durante 12 minutos. El sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo eppendorf y se adicionó 50  $\mu$ L de Acetato de Sodio 3M pH 5.2 y se mezcló por inversión durante 30 segundos. Se agregó 500  $\mu$ L de Etanol absoluto frío y se dejó incubando a -20 °C durante 2 horas. Posteriormente, se centrifugó a 13.000 r.p.m durante 15 minutos y se eliminó el sobrenadante. El pellet se lavó con 500  $\mu$ L de etanol frío al 70 % y se centrifugó a 13.000 r.p.m por 5 minutos. Se eliminó el sobrenadante y el etanol sobrante se dejó evaporar durante 20 minutos en cabina de flujo laminar. Finalmente, el pellet se suspendió en 25  $\mu$ L de buffer TE 1X (10 mM de Tris, 1 mM de EDTA (pH 8)) con RNasa A (10 mg/mL) y se incubó a 37 °C por 30 minutos. El ADN se visualizó en un gel de agarosa al 0.8 % y se almacenó a -20 °C.

### 3.4.2. Amplificación de ADN y secuenciación

Mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se amplificó la región ITS y el gen  $\beta$ -tubulina, utilizando los cebadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'); Bt2a (5'-GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC-3') y Bt2b (5'-ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC-3'), respectivamente. Los programas de amplificación de las dos regiones se llevaron a cabo en reacciones de PCR independientes, para ITS consistió en una desnaturalización inicial a 95 °C por 3 min, seguida de 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 45 seg, una hibridación a 55 °C por 30 seg, una extensión a 72 °C por 1 min y una extensión final a 72 °C por 10 min, y para el gen  $\beta$ -tubulina una desnaturalización inicial a 94 °C por 5 min, seguida de 40 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 seg, una hibridación a 59 °C por 1 min, una extensión a 72 °C por 30 seg y una extensión final a 72 °C por 5 min en un termociclador MultiGene Optimax (Labnet International, EE. UU). Los productos de PCR se purificaron siguiendo el protocolo de purificación PEG6000 de Schmitz & Riesner (2006). Tras la purificación, los productos de PCR se enviaron a secuenciar en ambos sentidos a Bioneer Inc. (Daejeon, Corea del Sur).

### 3.4.3. Alineación de secuencias y análisis filogenéticos

Las secuencias resultantes de ITS y  $\beta$ -tubulina se editaron utilizando el programa Geneious versión 2023.2.1. Las secuencias consenso se sometieron a un análisis de similitud mediante el programa BLAST de NCBI. La alineación de secuencias se realizó con el algoritmo Clustal W junto con las secuencias ex-tipo reportadas en literatura para cada especie y los árboles filogenéticos se construyeron en el programa MEGA X utilizando el método de máxima verosimilitud (ML) con 1000 bootstrap (BS). Se utilizó el modelo Tamura 3 parámetros (T92) con distribución gamma (+G) como modelo óptimo para la sustitución de nucleótidos para la región

ITS y Kimura 2 parámetros (K2) con distribución gamma (+G) como modelo óptimo para la sustitución de nucleótidos para el gen  $\beta$ -tubulina.

### 3.5. ESTRATEGIAS DE CONTROL A BASE DE CARBONATO DE SODIO

Con el objetivo de evaluar la efectividad del carbonato de sodio como alternativa de control para el hongo asociado a la pudrición del fruto de borajó, se realizaron tres ensayos experimentales, de los cuales dos de ellos se aplicaron directamente a frutos y el restante fue evaluado en aislamientos del hongo en condiciones in vitro.

#### 3.5.1. Experimento 1

De acuerdo con la metodología de Smilanick et al., (1997) y ajustada a la morfología del fruto de borajó, se realizó un diseño experimental completamente al azar con 4 tratamientos, cada uno de ellos con 10 repeticiones; los frutos presentaban características similares y el mismo estado de madurez; cada uno fue inoculado con el hongo asociado a la enfermedad ( $1 \times 10^6$  UFC/ $\mu$ l por fruto). 24 horas después, fueron asperjados en la solución de carbonato de sodio en concentraciones de 1% (tratamiento 1), 5% (tratamiento 2), 10% (tratamiento 3) y se contó con un testigo negativo, el cual solo se asperjó con agua destilada estéril con un pH de 8.3. Después de aplicados los tratamientos, los frutos fueron almacenados a una temperatura de 27 °C y una humedad relativa mayor al 90 % y se realizaron mediciones del diámetro de la colonia durante 6 días.

##### 3.5.1.1. Preparación del inóculo

Se tomó agua destilada estéril y un cultivo puro del hongo asociado a la pudrición del fruto para preparar la solución madre. Luego, se procesaron muestras de 1  $\mu$ l de la solución madre en la cámara neubauer determinando que por cada 1  $\mu$ l de la solución madre había 6.550.000 esporas del hongo y, por último, adicionando agua destilada estéril se llevó esta solución a una concentración de  $1 \times 10^6$  UFC/ $\mu$ l.

##### 3.5.1.2. Inoculación del patógeno

Se utilizó un asa micológica esterilizada para realizar un corte en el fruto de aproximadamente 4 mm<sup>2</sup>, Después, se inoculó el patógeno en el fruto con 1  $\mu$ l de la solución, que corresponde a una concentración de  $1 \times 10^6$  UFC/ $\mu$ l. Este procedimiento se llevó a cabo en una cámara de flujo laminar, los frutos se desinfectaron superficialmente en periodos de 1 minuto con alcohol

al 70% e hipoclorito al 2% y luego se enjuagaron con agua destilada estéril antes de realizar la inoculación.

### 3.5.1.3. Preparación de las soluciones de carbonato de sodio

Se usaron 4 probetas de 5000 ml cada 1 destinada a 1 tratamiento. A la probeta del tratamiento 1 se le agregó 5 g de carbonato de sodio (concentración del 1%), a la del tratamiento 2 se le agregó 25 g de carbonato de sodio (concentración del 5%), a la del tratamiento 3 se le agregó 50 g de carbonato de sodio (concentración del 10%) y siendo el tratamiento 4 el testigo, no se le agregó carbonato de sodio. Las probetas se enrazaron a 5000 ml con agua destilada estéril con un pH de 8.3, homogenizando la mezcla con una varilla de agitación para finalmente ser depositadas en recipientes atomizadores.

### 3.5.2. Experimento 2

En el segundo experimento, siguiendo la metodología de Bernal & Sisnández, (2001) y bajo condiciones in vitro, se evaluó un diseño experimental con 4 tratamientos, cada uno de ellos con 10 repeticiones, cada repetición contó con 10 cajas de petri, Estas fueron esterilizadas previamente y se les adicionó una solución de 25 ml de PDA con diferentes concentraciones de carbonato de sodio. En el tratamiento 1, a las cajas petri se les adicionó una solución de PDA con carbonato de sodio al 1%, así mismo, en el tratamiento 2, la solución fue de 5% de carbonato de sodio, en el tratamiento 3, la solución adicionada fue de 10% de la misma sal y por último, el tratamiento 4 siendo el testigo, las cajas petri solo contaban con el PDA. Posteriormente, se tomaron fracciones de micelio de 2mm de ancho por 2 mm de largo de un cultivo puro del hongo aislado y fueron sembradas en las cajas de petri de los diferentes tratamientos. La efectividad de los tratamientos se determinó midiendo el diámetro del micelio durante 6 días.

#### 3.5.2.1. Preparación de PDA con carbonato de sodio

En un beaker de 1000 ml se agregaron 39 g de PDA en un litro de agua destilada y se homogenizó la mezcla con la ayuda de una plancha de calentamiento y agitación y dos magnetos. Seguidamente, se esterilizó el PDA en un autoclave a una temperatura de 120 °C y una presión de 21 PSI durante 30 minutos. Posteriormente, en una cabina de flujo laminar, se dividieron los 1000 ml de PDA en 4 partes iguales (250 ml), cada una fue utilizada para un tratamiento diferente. Para llevarlas a las concentraciones establecidas de carbonato de sodio.

Para el tratamiento 1, se agregó 2.5 g de carbonato de sodio (concentración del 1%), para el tratamiento 2 se agregó 12.5 g (concentración del 5%), para el tratamiento 3 se agregó 25 g (concentración del 10%) y para el tratamiento 4 (testigo) no se le agregó carbonato de sodio. El carbonato y el PDA se homogenizó con la ayuda de una varilla de agitación.

### 3.5.2.2. Cultivo puro

**1.** Se tomaron muestras de frutos de borjón con síntomas característicos de la enfermedad; para el aislamiento del hongo, se fraccionó la muestra en secciones de 5mm de ancho X 5mm de largo aproximadamente, tomando tejido enfermo y sano. **2.** Los cortes fueron envueltos en dos capas de gasa. **3.** Para realizar una correcta desinfección del material, se sumergieron los cortes en etanol al 70% durante 1 minuto dentro de una cabina de flujo laminar, posteriormente, se retiró el exceso de etanol realizando tres lavados con agua destilada estéril, Nuevamente, se sumergió la gasa con los cortes en hipoclorito de sodio al 2%, se removió el exceso de hipoclorito con tres lavados con agua destilada estéril. **4.** Se removió el exceso de agua utilizando una toalla de papel estéril. **5.** Usando una pinza previamente esterilizada, se pasaron los cortes a cajas petri con PDA acidulado. **6.** Las cajas de Petri con los explantes se incubaron a 25 °C durante 5 días.

### 3.5.3. Experimento 3

En el tercer experimento, siguiendo la metodología de Smilanick et al., (1997) ajustada a la morfología del fruto y costumbres culturales de manejo del borjón en postcosecha de agricultores de la región, se evaluó un diseño experimental completamente al azar con 4 tratamientos, cada uno de ellos con 10 repeticiones, cada repetición contó con 10 frutos de borjón, cada fruto adquirió la enfermedad naturalmente dada la alta incidencia de la enfermedad en la zona. Posteriormente, cada fruto fue sumergido en soluciones de carbonato de sodio según el tratamiento: concentración del 1% (tratamiento 1), 5% (tratamiento 2), 10% (tratamiento 3) y el testigo solo se sumergió en agua destilada estéril con un pH de 8.3. Cada repetición se hizo con tiempos de inmersión de 5 minutos a 40 °C de temperatura. Después de aplicados los tratamientos, los frutos se dejaron secar totalmente, fueron empacados herméticamente dentro de bolsas plásticas transparentes, utilizando el método de embolsado que utilizan normalmente los productores y se almacenaron a una temperatura de 27 °C y una humedad relativa mayor al 90 %. La efectividad de los tratamientos se determinó midiendo durante 6 días la severidad de la enfermedad en los frutos.

### 3.5.3.1. Preparación de las soluciones de carbonato de sodio

Se usaron 4 recipientes de aluminio de 20 litros cada 1 destinado a 1 tratamiento. Al recipiente del tratamiento 1 se le agregó 50 g de carbonato de sodio (concentración del 1%), al del tratamiento 2 se le agregó 250 g de carbonato de sodio (concentración del 5%), a la del tratamiento 3 se le agregó 500 g de carbonato de sodio (concentración del 10%) y al tratamiento 4 (testigo) no se le agregó carbonato de sodio. A los recipientes se les adicionó 5000 ml de agua destilada estéril con un pH de 8.3, se homogenizó el agua con el carbonato y se elevó a una temperatura de 40 °C con la ayuda de planchas de calentamiento.

### 3.5.3.2. Medición de severidad

Para medir la severidad, se tomaron datos del progreso de la enfermedad en los frutos (porcentaje %), estas mediciones fueron realizadas por 10 personas, algunos conocedores y otros no. A partir de allí, se generaron promedios de las mediciones para hallar la severidad en cada día de medición. Cabe resaltar, que se realizó de esta forma dado que en el borojó aún no existe una escala de severidad patentada para esta enfermedad.

## 3.6. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Para los tres experimentos se realizó un ANOVA y una prueba de separación de medias con un nivel de significancia de ( $P > 0.05$ ).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA

#### 4.1.1. Macromorfología

**Diámetro de la colonia (7 días, en mm):** CYA 31-33; MEA 36-38; YES 38-40. **Tasa de crecimiento (cm/día):** CYA 0,47; MEA 0,56; YES 0,59. **Características de la colonia (25°C, 7 días):** Colonias en CYA con superficie aterciopelada, ligeramente elevadas en el centro, márgenes bajos, planos, enteros (4 mm), esporulación densa, pigmentación verde grisáceo (7.5GY 6/2), pigmento soluble ausente, exudado incoloro, pigmentación inversa amarillo pálido, centro marrón, pliegues ausentes. Colonias en MEA con superficie aterciopelada, márgenes bajos, planos, enteros (5 mm), esporulación densa, pigmentación verde grisáceo pálido (7.5GY 7/2), pigmento soluble ausente, exudado incoloro, pigmentación inversa amarillo pálido, centro marrón,



pliegues ausentes. Colonia en YES superficie aterciopelada, ligeramente elevadas en el centro, márgenes bajos, planos, enteros (2 mm), esporulación densa, pigmentación verde grisáceo (7.5GY 6/2), pigmento soluble ausente, exudado incoloro, pigmentación inversa marrón, pliegues radiales pronunciados (**Figura 4, A – B – C - D**).

#### 4.1.2. Micromorfología y Morfometría

**Conidióforos:** biverticilados a menudo con ramas subterminales.

**Estipes:** hialinos, lisos, de  $139,32 \pm 42,56$  (98,03-184,12) x  $30,99 \pm 1,66$  (25,53-39,93)  $\mu\text{m}$ .

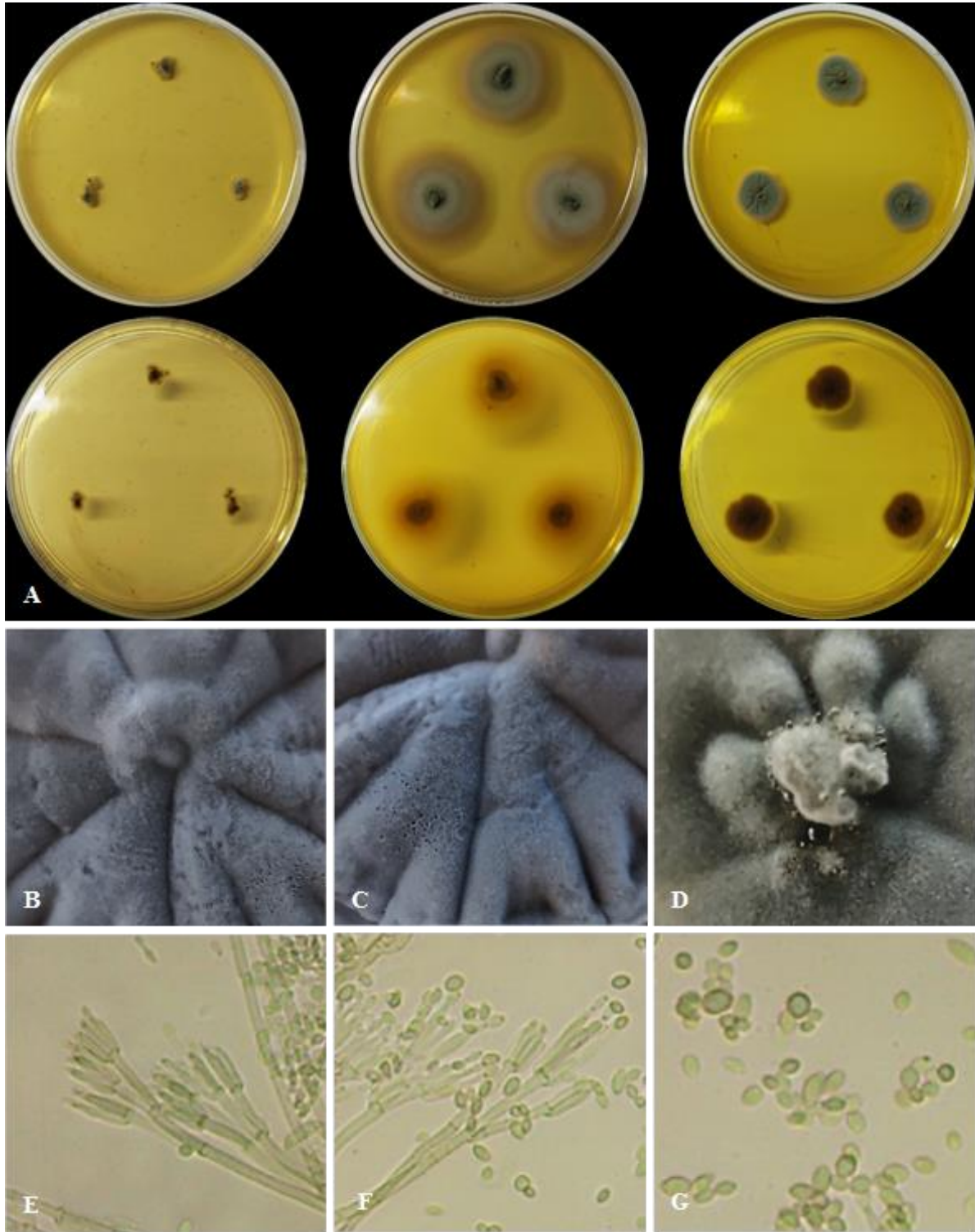
**Métulas:** de cuatro a seis, divergentes, de  $22,01 \pm 4,53$  (17,77-35,33) x  $3,35 \pm 0,22$  (3,01-3,71)  $\mu\text{m}$ .

**Fiálides:** acerosas, de  $18,21 \pm 0,52$  (4,25-6,24) x  $2,83 \pm 0,37$  (2,45-3,69)  $\mu\text{m}$ .

**Conidios:** lisos, elipsoidales, de  $5,33 \pm 0,52$  (4,25-6,24) x  $4,29 \pm 0,24$  (3,85-4,63)  $\mu\text{m}$ .

(**Figura 4, E – F - G**).

**Figura 4.** *Talaromyces* sp. **A.** Colonias, de izquierda a derecha, CYA, MEA, YES. **B.** Elevación central. **C.** Pliegues profundos. **D.** Exudados. **E-F.** Conidióforos. **G.** Conidios.



Fuente: Propia.

## 4.2. IDENTIFICACIÓN MOLECULAR

En este estudio se obtuvieron un total de 2 secuencias de ADN, correspondientes al segmento ITS y  $\beta$ -tubulina. Las secuencias para el segmento ITS mostró una similitud inferior al 99,5% con las secuencias depositadas previamente en el GenBank para dicho género, lo cual no permitió establecer la identidad taxonómica hasta nivel de especie. Igualmente, Para el segmento  $\beta$ -tubulina la coincidencia con tres especies del mismo género fue inferior al 99,5 %, por lo cual, estos porcentajes de similitud no son concluyentes para determinar con certeza la especie causante de la patología en borjón, aun cuando los marcadores usados son los sugeridos por diversos autores, lo que indica que probablemente estamos en presencia de una nueva especie del género *Talaromyces*.

Figura 5. BLAST de las secuencias obtenidas de la región ITS.

Sequences producing significant alignments		Download	Select columns	Show						
select all 100 sequences selected		GenBank	Graphics	Distance tree of results	MSA Viewer					
	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces sp. strain KAS5601 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer...</a>	<a href="#">Talaromyces sp.</a>	953	953	100%	0.0	98.18%	1258	<a href="#">MZ311870.1</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces sp. strain KAS5537 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer...</a>	<a href="#">Talaromyces sp.</a>	953	953	100%	0.0	98.18%	1233	<a href="#">MZ311869.1</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces bannicus strain BN7-3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spac...</a>	<a href="#">Talaromyces ban...</a>	952	952	99%	0.0	98.17%	561	<a href="#">MN615903</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces bannicus HMAS 248133 ITS region, from TYPE material</a>	<a href="#">Talaromyces ban...</a>	952	952	99%	0.0	98.17%	561	<a href="#">NR_173289</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces sp. strain YBS1-7 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1...</a>	<a href="#">Talaromyces sp.</a>	948	948	100%	0.0	97.99%	557	<a href="#">MN518430.1</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Fungal sp. strain MF22121 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8...</a>	<a href="#">fungal sp.</a>	948	948	100%	0.0	97.99%	573	<a href="#">MH911363.1</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces aculeatus isolate WRF-30 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed s...</a>	<a href="#">Talaromyces acul...</a>	948	948	100%	0.0	97.99%	690	<a href="#">QP557602.1</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces sp. D116-149 genomic DNA sequence contains ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, strain...</a>	<a href="#">Talaromyces kab...</a>	948	948	100%	0.0	97.99%	1009	<a href="#">LT558971.1</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces sp. SH-2016a strain DTO 281-C1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed sp...</a>	<a href="#">Talaromyces kab...</a>	948	948	100%	0.0	97.99%	804	<a href="#">KP851983.1</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces sp. SH-2016a strain DTO 244-D8 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed sp...</a>	<a href="#">Talaromyces kab...</a>	948	948	100%	0.0	97.99%	915	<a href="#">KP851982.1</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces sp. SH-2016a strain DTO 149-E1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed sp...</a>	<a href="#">Talaromyces kab...</a>	948	948	100%	0.0	97.99%	803	<a href="#">KP851979.1</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces primulinus isolate WZ-883 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene...</a>	<a href="#">Talaromyces pri...</a>	948	948	100%	0.0	97.99%	585	<a href="#">OP163533.1</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces kabodanensis genomic DNA sequence contains 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S r...</a>	<a href="#">Talaromyces kab...</a>	948	948	100%	0.0	97.99%	577	<a href="#">QW988426.1</a>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Talaromyces kabodanensis genomic DNA sequence contains 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S r...</a>	<a href="#">Talaromyces kab...</a>	948	948	100%	0.0	97.99%	584	<a href="#">QW987859.1</a>	

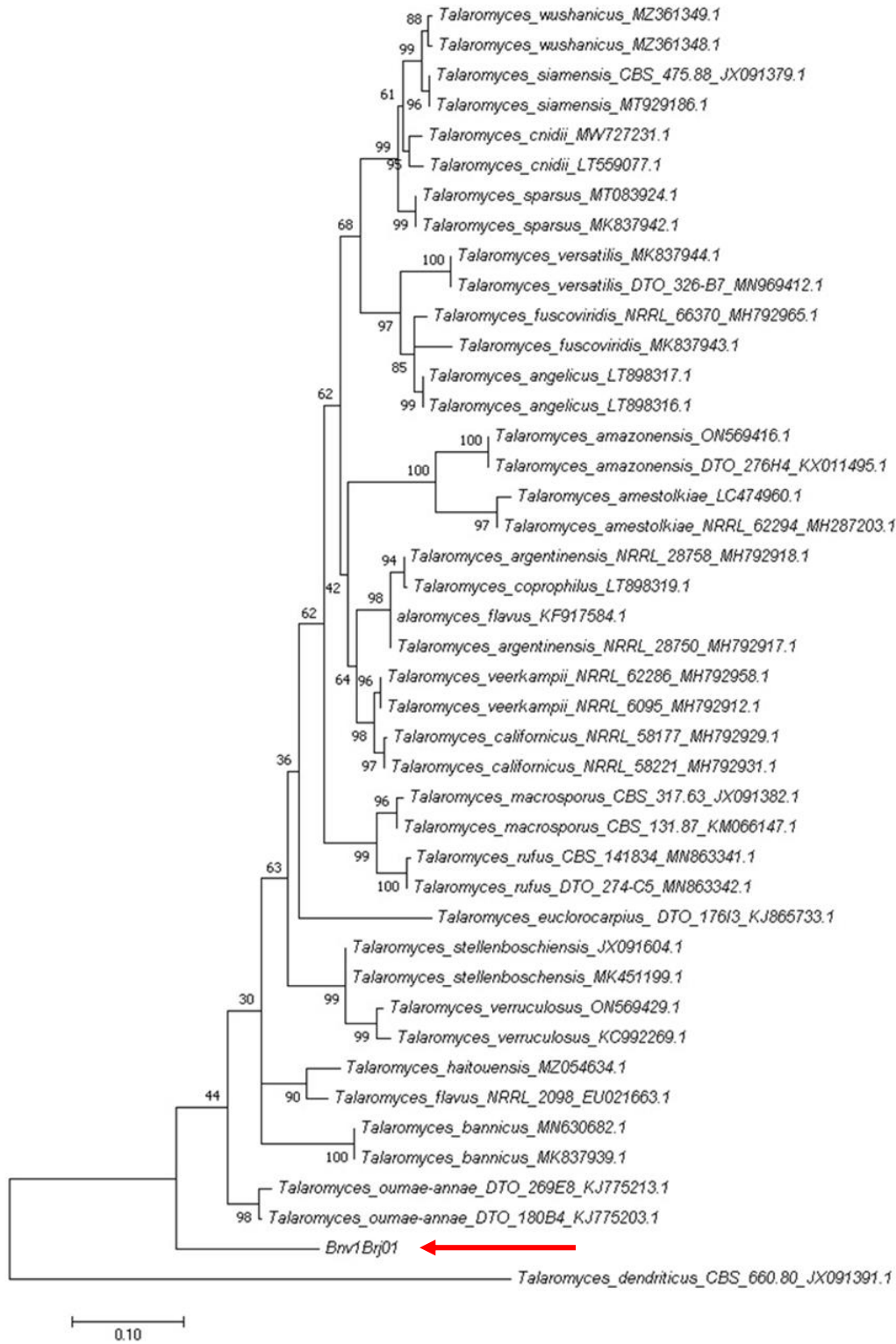
Fuente: Propia.

Figura 6. BLAST de las secuencias obtenidas del segmento  $\beta$  – Tubulina.

Sequences producing significant alignments		Download	Select columns	Show	100			
<input checked="" type="checkbox"/> select all 100 sequences selected		GenBank	Graphics	Distance tree of results	MSA Viewer			
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces oumae-annae strain DTO_180B4 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces ou...</a>	468	468	100%	6e-127	86.95%	433	<a href="#">KJ775203.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces oumae-annae strain DTO_289F6 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces ou...</a>	462	462	100%	3e-125	86.71%	433	<a href="#">KJ775213.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces haitouensis strain HR1-7 beta-tubulin (BenA) gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces hait...</a>	455	455	100%	4e-123	86.48%	417	<a href="#">MZ054634.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces wushanicus isolate CS17-05 beta-tubulin (BenA) gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces wus...</a>	455	455	100%	4e-123	86.71%	438	<a href="#">MZ361347.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces siamensis strain JXL41-1 beta-tubulin (BenA) gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces sia...</a>	449	449	100%	2e-121	86.48%	411	<a href="#">ON569426.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces cnidii strain DTO_269H8 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces cnidii</a>	446	446	100%	3e-120	86.25%	426	<a href="#">KJ775217.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces cnidii strain AS3_15896 beta-tubulin (benA) gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces cnidii</a>	446	446	100%	3e-120	86.25%	412	<a href="#">MW727231.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces siamensis isolate A3S2-39 beta-tubulin gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces sia...</a>	446	446	100%	3e-120	86.25%	464	<a href="#">KJ767038.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces wushanicus isolate CS17-04 beta-tubulin (BenA) gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces wus...</a>	444	444	100%	1e-119	86.25%	438	<a href="#">MZ361348.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces macrosporus strain BCC_14364 beta-tubulin gene, partial sequence</a>	<a href="#">Talaromyces ma...</a>	444	444	100%	1e-119	85.95%	465	<a href="#">AY753373.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces flavus strain NRRL_2098 beta-tubulin gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces flavus</a>	442	442	92%	3e-119	87.41%	413	<a href="#">EU021663.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces versatilis isolate 3708 beta-tubulin (benA) gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces ver...</a>	440	440	93%	1e-118	87.22%	672	<a href="#">MK837944.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces argentinensis isolate NRRL28758 beta-tubulin (BT2) gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces arg...</a>	440	440	100%	1e-118	85.95%	673	<a href="#">MH792918.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Talaromyces argentinensis isolate NRRL 28750 beta-tubulin (BT2) gene, partial cds</a>	<a href="#">Talaromyces arg...</a>	440	440	100%	1e-118	85.98%	674	<a href="#">MH792917.1</a>

Fuente: Propia.

Figura 7. Filogenias ML de ITS para la especie *Talaromyces* sp.



Fuente: Propia.



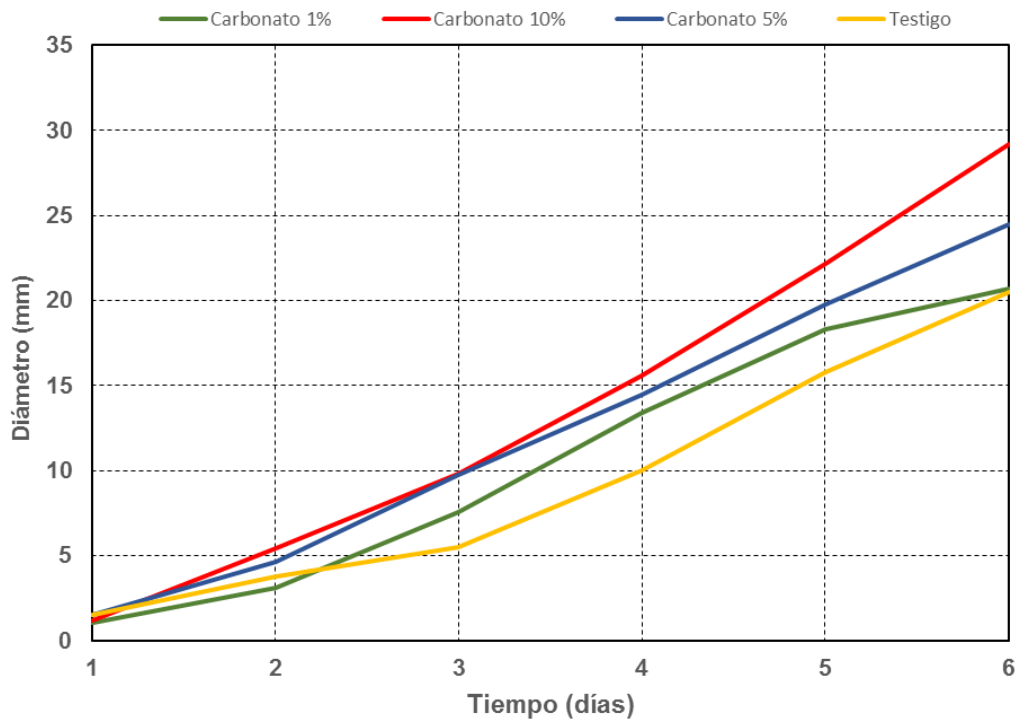


Se eligió *Talaromyces dendriticus* como grupo externo. El soporte en los nodos se indica encima de las ramas gruesas y está representado por valores de bootstrap superiores al 98 %. Modelo seleccionado: Tamura 3 parámetros (T92) + K2 + G para BenA.

### 4.3. ESTRATEGIAS DE CONTROL

La **gráfica 1**, Muestra el efecto del carbonato de sodio asperjado a diferentes concentraciones sobre el patógeno en frutos almacenados a una temperatura de 27 °C y una humedad relativa mayor al 90 %, como se describe en el capítulo anterior, en ese sentido se pudo observar que la aspersión de los frutos con agua destilada estéril (testigo) resulto ser el tratamiento más eficaz en la inhibición del crecimiento micelial del patógeno, alcanzando al sexto día un diámetro de 20mm, seguido por las concentraciones de carbonato de sodio al 1% y 5% con diámetros de 21 y 24 mm respectivamente y para la concentración del 10% se observó un diámetro de 29 mm aproximadamente al sexto día.

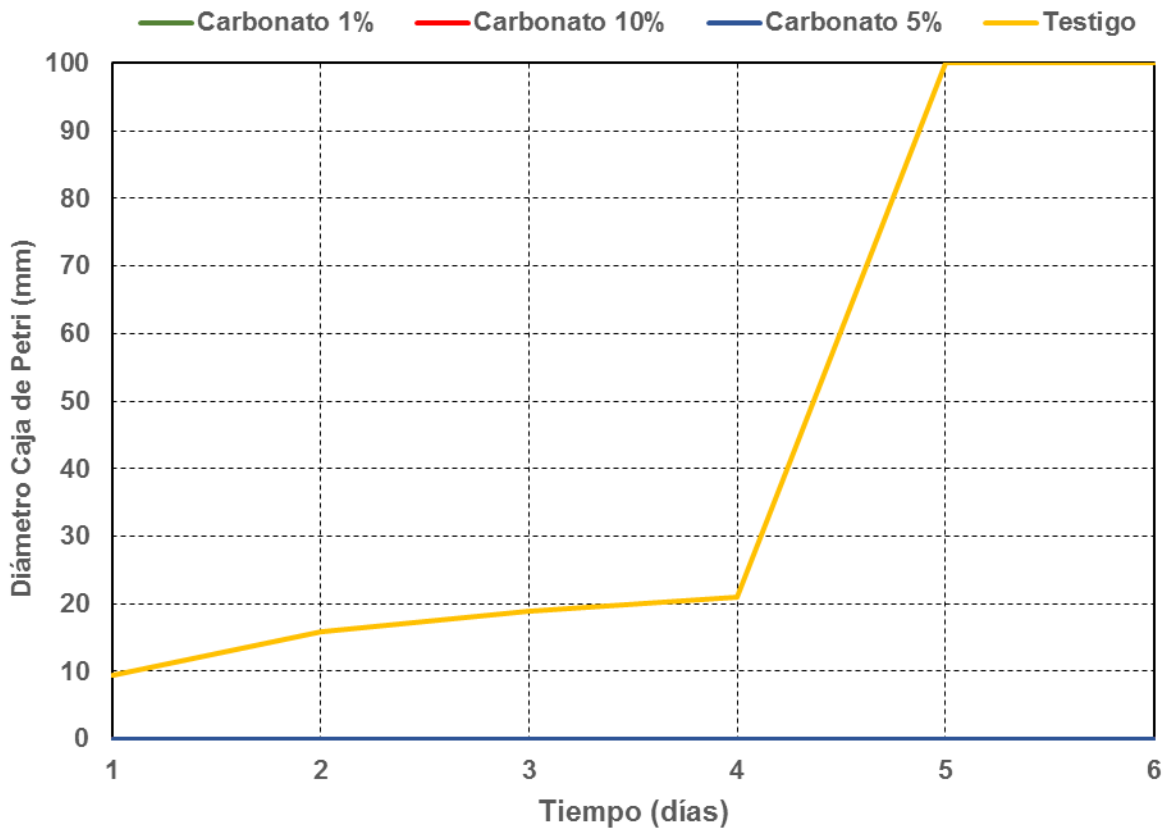
**Gráfica 1.** Diámetro de la colonia para cada tratamiento.



**Fuente:** Propia.

Los resultados del experimento 2, muestran el efecto in vitro (cajas Petri con PDA) del carbonato de sodio sobre el hongo *Talaromyces* sp., en ese sentido se pudo observar que las diferentes dosis de carbonatos ejercieron inhibición del 100% del patógeno (**gráfica 2**), por el contrario el tratamiento testigo mostro un rápido crecimiento, en ese orden de ideas 24 horas después de la siembra (hds) ya se observaba un crecimiento de 10mm y aunque el crecimiento del hongo no se detuvo si se puede evidenciar que durante las primeras 96 hds el patógeno estaba la fase de crecimiento lento, seguida por una fase de crecimiento rápido que ocurrió entre las 96 y 120 hds pasando de 20mm a 100mm en tan solo 24 horas y a partir de ese momento se generó lo que llamamos saturación de la capacidad de carga del sistema.

**Gráfica 2.** Efecto in vitro (cajas Petri con PDA) del carbonato de sodio sobre el hongo *Talaromyces* sp.



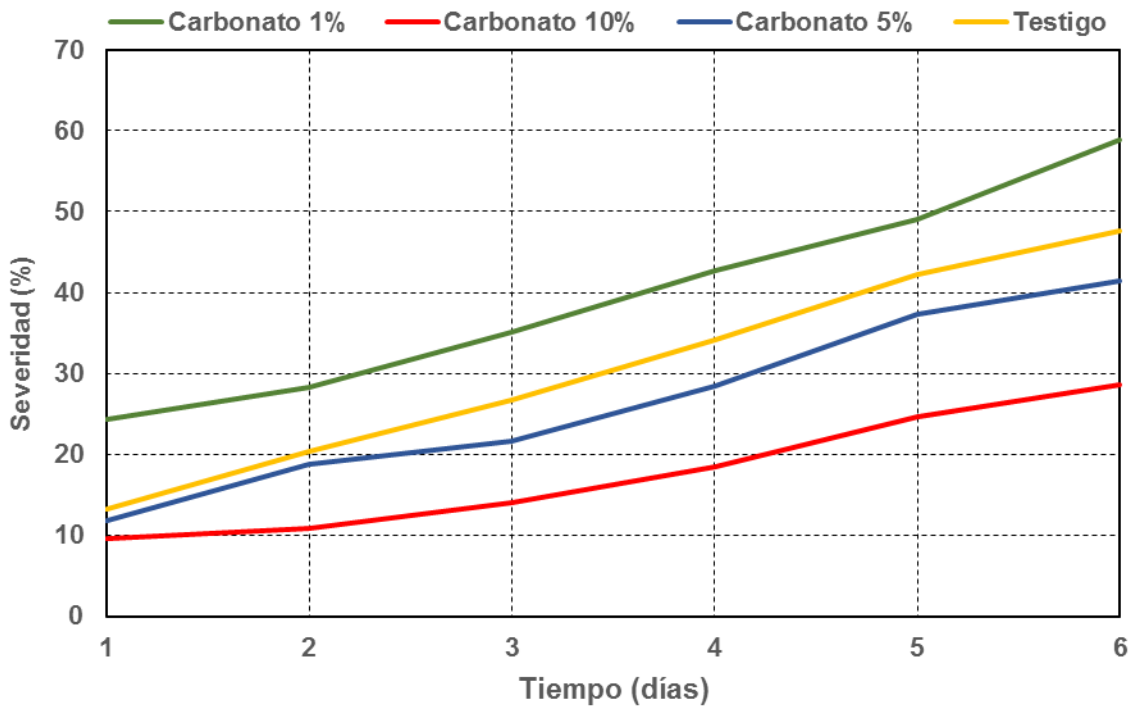
**Fuente:** Propia.

La **gráfica 3**, muestra el desarrollo de la patogenicidad (severidad) del hongo siguiendo el método tradicional del empaque del fruto en los diferentes tratamientos y conforme avanzaba el tiempo, en ese sentido, se observa que el tratamiento (carbonato 1%) fue quien mostró mayor severidad alcanzando un 60% en promedio al sexto día, seguido por el testigo que



alcanzo un poco menos de 50%, dicha diferencia entre estos dos tratamiento está relacionada al porcentaje de humedad a la del experimento, el tratamiento (carbonato 10%) fue quien mostró mayor eficiencia en la inhibición del crecimiento del patógeno, en ese sentido mostro un porcentaje inferior al 30%, cabe mencionar que sin importar la dosis usada en este estudio la patología se presentó mostrando un crecimiento logístico.

**Gráfica 3.** Porcentaje de severidad en función del tiempo de la enfermedad para cada tratamiento.



**Fuente:** Propia.

En la **tabla 1**, se muestran los promedios por tratamientos para las variables: diámetro en el fruto, diámetro en CP (Cajas Petri) y severidad, donde se evidenció que para el diámetro en el fruto no hubo diferencia estadísticamente significativa entre el testigo y la dosis 1%, sin embargo, si se observó diferencia significativa entre el tratamiento 10% con respecto a los demás tratamientos, aunque la concentración 5% mostro similitud estadística con los demás tratamientos. En cuanto al diámetro en CP se observó una diferencia estadística de las concentraciones 1, 5 y 10% respecto al testigo, finalmente para la variable severidad el tratamiento 10% se diferenció de los demás tratamientos mostrando mayor eficacia, en ese sentido entre el testigo y el tratamiento de 1% no se evidenció una diferencia muy marcada entre ellos.

**Tabla 1.** Prueba de separación de medias.

Tratamiento	Diámetro Fruto (mm)		Diámetro CP (mm)		Severidad (%)	
	Promedio	Grupo	Promedio	Grupo	Promedio	Grupo
Carbonato 1%	10,8	b	0,0	b	39,8	a
Carbonato 10%	14,2	a	0,0	b	17,7	c
Carbonato 5%	12,6	ab	0,0	b	26,3	bc
Testigo	9,6	b	16,3	a	30,8	ab

**Nota:** Dentro de una misma columna promedios con igual letra no difieren significativamente ( $P>0.05$ ).

**Tabla 2** Análisis de varianza.

Fuente de Variación	Gli	Diámetro Fruto (mm)		Diámetro CP (mm)		Severidad (%)	
		CM	Pr > F	CM	Pr > F	CM	Pr > F
Tratamiento	3	0,0236	0,023	0,28	<.0001	0,0046	0,00
Tiempo	5	0,2964	<.0001	0,01	<.0001	0,0045	<.0001
Tratamiento x Tiempo	15	0,0029	0,979	0,01	<.0001	0,0001	1,00
Promedio		11,8		4,2		28,6	
CV (%)		9,4		3,0		3,4	

## 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El género *Talaromyces sp.*, tiene una amplia distribución a nivel mundial y se encuentran en una amplia gama de ambientes. Se ha evidenciado que es en el suelo donde se han encontrado el mayor número de especies, pero así mismo se han aislado nuevas especies encontradas en aires acondicionados, clínicas, seres humanos, animales, plantas y miel de abejas, sin embargo, son pocos los registros de especies fitopatógenas pertenecientes a este género que causen enfermedades quiescentes y que tengan una importancia agrícola y agronómica relevante hasta la fecha.

Las características macro y micromorfológicas del hongo fitopatógeno observadas en este estudio (**figura 4**) muestran coincidencia con especies de *Talaromyces sp.*, reportadas recientemente por Sun et al., (2020). Al realizar una comparación de los resultados reportados por este autor se evidencia que el hongo analizado en este estudio comparte similitud general en las características micromorfológicas como conidióforos biverticilados, Estipes hialinos, Fiálides acerosas y conidios lisos y elipsoidales con *Talaromyces aspriconidius*; mientras que las características macromorfológicas como la forma de la colonia, color superficie, elevación, tipo de esporulación, pigmentación, presencia o ausencia de exudado, pigmentación inversa, color del centro de la colonia y la presencia o ausencia de pliegues varían de acuerdo a la especie debido a “la variabilidad intra e inter específica que pueden ser influenciadas por las condiciones ambientales del lugar donde se desarrollan” (Sun et al., 2020).

Para la identificación molecular del patógeno se siguió la metodología de (Saltos, 2012), quien “utilizó la secuenciación de las regiones ITS, específicamente los primers ITS 1 e ITS 4”; al igual que lo hicieron (Yao & Yi, 2015), en “la identificación de *Alternaria alternata* tomando tejidos enfermos de *Ficus microcarpa*” y, (Ravi & Nagalakshmi, 2012) en “la identificación de la misma especie en *Rumex vesicarius* a través de la misma técnica”. Pese a que en esta investigación se usaron las técnicas de amplificación realizadas por estos y otros investigadores, no se logró identificar la especie relacionada con la patología en estudio. Las secuencias obtenidas después del análisis molecular fueron depositadas en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) y fueron analizadas a través del Genbank, allí se observó que las secuencias obtenidas del patógeno pertenecían al género *Talaromyces sp.*, y no al género *Penicillium sp.*, como se creía inicialmente.

Por otra parte, al comparar mediante el BLAST las secuencias obtenidas con las secuencias reportadas, se encontró que presentaba un porcentaje de similitud del 98.17 % con *Talaromyces banicus* para la región ITS (**figura 5**), lo cual representa un valor muy bajo para determinar la especie del hongo en estudio; del mismo modo, al analizar las secuencias de la región BenA o  $\beta$  – tubulina (Bt2a y Bt2b) se encontró que estas secuencias presentaban un porcentaje de similitud del 86.95 % con *Talaromyces oumae-annae* (KJ775203 y KJ775213) además se observó una similitud de 86,4% con *Talaromyces haitouensis* (MZ054634) y *Talaromyces wushanicus* (MZ361347) (**figura 6**), lo cual también representa un valor muy bajo para determinar la especie del patógeno. A través de las filogenias ML se comparó las secuencias obtenidas con las secuencias registradas en el GenBank de organismos pertenecientes al género *Talaromyces sp.*, las regiones moleculares analizadas en este estudio (ITS y  $\beta$  – Tubulina) mostraron que el patógeno analizado se ubicó en un clado aparte y no se agrupó con ninguna de las especies comparadas; apoyados en la metodología para el procesamiento de datos de secuencias de Suarez –Contreras et al., (2022), se eligió a *Talaromyces dendriticus* como grupo externo (**figuras 7 y 8**).

Lo observado en el primer experimento (**gráfica 1**) permitió deducir que los resultados estuvieron fuertemente influenciados por la forma en la que fueron aplicadas las soluciones de Carbonato de sodio. Inicialmente, los tratamientos 1 (1%), 2 (5%) y 3 (10%) fueron asperjados sobre los frutos, mientras que el testigo no fue asperjado con ninguna solución, siguiendo la metodología utilizada en estudios anteriores como el de (Park et al., 2014), los cuales reportaron que la aspersión foliar con bicarbonato de sodio controló eficazmente la mancha foliar de la vid (*Pseudocercospora vitis*). Por lo cual, la variación en los resultados de esta investigación, contrastados con los reportados por estos autores tiene que ver con el órgano vegetal donde se aplicaron los tratamientos y la etapa fenológica en la que se aplicaron, puesto que al aplicar las soluciones en hojas de la vid in situ, el aire y las condiciones climáticas de la zona jugaron un papel determinante en la evaporación del exceso humedad; mientras que al aplicar este mismo método en frutos de borjón en etapa de postcosecha y bajo las condiciones ambientales del Distrito Especial de Buenaventura, se produjo un aumento en la humedad de los frutos al ser empacados y con ello, se dieron las condiciones ideales para el crecimiento y desarrollo del patógeno.

Dado los resultados iniciales, Al tercer día se procedió a elevar la humedad relativa en el testigo, aplicando a cada fruto agua destilada estéril. Los resultados obtenidos después de realizar esta modificación evidenciaron que la humedad es un factor determinante en el desarrollo del patógeno, puesto que el desarrollo de las colonias en el testigo, se vieron afectadas inicialmente por la baja humedad que presentaban los frutos en su almacenamiento, en comparación con los tratamientos donde se utilizó las soluciones de carbonato de sodio (**gráfica 1**). Al encontrar que (Smilanick et al., 1997) reportó una “alta efectividad controlando el moho verde en naranjas al sumergir los frutos en carbonato de sodio”; se dedujo que probablemente, el método de aspersión de las soluciones de carbonato de sodio en los frutos de borjón no permitieron una mejor adherencia del mismo, lo que lo hizo que este método no tuviera la eficacia esperada para el control de *Talaromyces sp.*; por tal motivo, se procedió a realizar el experimento 3 utilizando la metodología anteriormente mencionada.

Los resultados del experimento 2 (**gráfica 2**) fueron contundentes, las diferentes concentraciones de carbonato de sodio aplicados al PDA inhibieron totalmente el desarrollo de *Talaromyces sp* en las cajas de Petri, resultados muy similares a los reportados por (Rodríguez – Guzmán et al., 2022) en experimentos in vitro donde controlaron la germinación y esporulación del hongo *Geotrichum candidum* al 100 % utilizando carbonato de sodio en Agar PDA al 2%. Al igual, que (Bernal & Sisnández, 2001) quienes controlaron el crecimiento de *Penicillium digitatum* en medios de cultivo con el uso de carbonato de sodio en concentraciones menores al 1%. Por otro lado, cabe mencionar que, en las soluciones de carbonato de sodio con PDA realizadas en esta investigación, la temperatura influyó en la activación y disolución de la sal.

De acuerdo con lo reportado por varios autores como (Palou et al., 2001), el efecto del carbonato y bicarbonato de sodio como controlador de hongos fitopatógenos se debe a la inhibición en la expresión y la secreción de las poligalacturonasas, las cuales son enzimas que causan la rotura de las paredes celulares y el ablandamiento y malformación de tejidos vegetales.

A la hora de analizar y evaluar severidad de la enfermedad en función del tiempo (**gráfica 3**), se pudo determinar que la concentración más alta de carbonato de sodio, ejerció mayor control sobre el desarrollo de *Talaromyces sp.* Estos resultados se asemejan a los reportados en las investigaciones realizadas por Park et al., (2014) con el uso de bicarbonato de sodio y, Smilanick et al., 1997 & Rodríguez – Guzmán et al., (2022) utilizando carbonato de sodio para el control de hongos fitopatógenos.

Así mismo, este ensayo permitió determinar que el agua a una temperatura de 40 °C permitió la solubilidad total del carbonato de sodio, y a su vez, el periodo de inmersión de 5 min proporcionó una mejor adherencia de la sal en el fruto con la ayuda del embolsado tradicional que efectúan los agricultores del pacifico colombiano, lo que permitió la conservación hermética del fruto con porcentajes bajos de humedad; Resultados similares fueron reportados por (Smilanick et al., 1997) al “realizar estudios para controlar el moho verde en naranjas, con la diferencia que se realizó el almacenamiento de los frutos a bajas temperaturas después de aplicado los tratamientos”; Sin embargo, los autores descartan la influencia de la temperatura como control de la especie *Penicillium digitatum*.

Pese a que la temperatura del agua utilizada para la inmersión de los frutos no causó afectaciones al fruto, es importante mencionar que esta estrategia de manejo propuesta en este experimento debe realizarse con sumo cuidado y siguiendo todas las recomendaciones, ya que el uso de agua con temperaturas que sobrepasen los 40 °C, pueden ocasionar heridas y mal formaciones en los frutos.

Las pruebas estadísticas (**tablas 1 y 2**), corroboraron lo visto gráficamente. El diámetro de la colonia con el tratamiento de carbonato de sodio al 10 % registró el valor promedio más alto, difiriendo significativamente con el testigo y los demás tratamientos, pero, pese al favorecimiento de condiciones de humedad que hubo en el testigo, este no presentó diferencias significativas con los tratamientos 1 y 2. Por el contrario, el análisis estadístico evidenció que al implementar la estrategia de control de sumersión de los frutos en carbonato de sodio junto con las técnicas tradicionales de empackado se pudo constatar que, a una mayor concentración de carbonato de sodio, mejor control ejerce sobre el hongo fitopatógeno *Talaromyces sp*, ya que se presentó un mayor control con el tratamiento 3 cuya concentración de CS era del 10 %, mostrando diferencias significativas con el testigo y los demás tratamientos;

estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos por Smilanick et al., (1997) & Rodríguez – Guzmán et al., (2022). Finalmente, las mediciones del experimento in vitro (diámetro CP), muestran que el carbonato de sodio ejerce un control eficaz y eficiente del patógeno interrumpiendo su alimentación e inhibiendo totalmente el crecimiento y desarrollo de micelio en las cajas Petri, como lo reportan Bernal & Sisnández, (2001); & Rodríguez – Guzmán et al., (2022).

El efecto sales como carbonato de sodio sobre hongo fitopatógenos se ha documentado y explicado los modos de acción por diferentes autores, en ese sentido, “el carbonato de sodio inhibe o/y retrasa procesos como la germinación de las esporas (conidios) y formación del tubo germinativo” (Ilhan *et al.*, 2006; Karabulut *et al.*, 2006; Hasan *et al.*, 2012 y Yáñez et al., 2014) los resultados de esta investigación presentaron similitud con los obtenidos por (Ilhan *et al.*, 2006) y (Deliopoulos *et al.*, 2010), quienes afirman que “las propiedades antifúngicas de los carbonatos y bicarbonatos cuando son aplicados en dosis que van desde el 5 al 10%”, del mismo modo (Yildirim *et al.*, 2002; Hasan *et al.*, 2012), al “indican que disminuyen su capacidad en la formación de esporas”.

Además, se ha revelado otros métodos de acciones de estas sales, ya que pueden incrementar en pH en la superficie donde son aplicadas generando un colapso celular del patógeno debido a un desequilibrio del ion sodio y la deshidratación de la pared celular de las conidias del hongo, condiciones que demuestran la efectividad de la fitomineraloterapia (Davide *et al.*, 2004; Avis, 2007; Hasan *et al.*, 2012 y Yáñez et al., 2014) la fitomineraloterapia es importante porque logra controlar de manera eficiente el hongo y además de eso reduce el uso de fungicidas químicos, disminuyendo las posibilidades de la generación de progenies de resistencia del patógeno y el riesgo que trae para los humanos, animales y al ambiente el uso de moléculas químicas.

## 6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos fueron determinantes para identificar el agente causal de la pudrición del fruto de borjé a nivel de género (*Talaromyces sp.*) y refutar la hipótesis que se había planteado hasta la fecha, la cual afirmaba que esta patología era causada por hongos pertenecientes al género *Penicillium*.

La caracterización macro y microscópica permitió observar que el microorganismo fitopatógeno perteneciente al género *Talaromyces*, presenta homoplasia con organismos del género *Penicillium*, principalmente en las características microscópicas específicas, como tipo de conidio, esporas y la forma de los fiálides, por lo cual, la caracterización morfológica no es lo suficientemente concluyente y eficaz cuando se pretende identificar especies del género *Talaromyces*.

La comparación de las secuencias obtenidas de las regiones ITS y  $\beta$  - tubulina, no presentaron similitud suficiente con alguna especie registrada en el GenBank, por tal motivo, los resultados sugieren que el organismo estudiado probablemente sea una nueva especie para la ciencia.

Los tratamientos con carbonato de sodio, presentaron efectividad total a la hora de controlar el organismo fitopatógeno *Talaromyces sp.*, bajo condiciones in vitro, en donde todas las concentraciones evaluadas de carbonato de sodio inhibieron eficazmente el desarrollo del hongo, por lo que no hubo expresión del patógeno en ninguno de estos tratamientos; mientras que en las estrategias de control con carbonato de sodio implementadas en frutos, los tratamientos con concentraciones del 10% presentaron un control significativo y eficiente de la patología.

Por último, es importante mencionar que los estudios realizados y los resultados obtenidos en esta investigación ampliaron nuestro conocimiento sobre la patología y agente causal de la pudrición del fruto de borjé (*Talaromyces sp.*), por lo cual, los futuros estudios se centrarán en analizar molecularmente las regiones RPB1, RPB2 y CALM; con el fin de tener total certeza acerca del hallazgo de una nueva especie de hongo; y de ser así, seguir los protocolos correspondientes para clasificar, nombrar y reportar dicho descubrimiento.

## 7. RECOMENDACIONES

Al comprobar que el carbonato de sodio ejerce un control eficiente sobre el hongo fitopatógeno en estudio bajo condiciones *in vitro* e *in vivo*, es importante plantear y desarrollar futuros experimentos que implementen métodos de aplicación diferentes a los realizados en esta investigación; así como realizar ensayos con concentraciones más altas de carbonato de sodio como 12, 15 o 20 %, y evaluar tanto su eficacia y efectividad como las alteraciones en el sabor del fruto, la residualidad del producto y las posibles afectaciones en la salud humana.

Ya que el hongo *Talaromyces sp.*, se ve favorecido por la alta humedad, se podrían emplear métodos de almacenamiento con baja humedad que eviten la proliferación de este microorganismo y reducir considerablemente la incidencia y severidad de esta patología.

Es importante que se realicen estudios acerca de la influencia de la temperatura del agua al realizar la estrategia de control de inmersión de frutos en la solución de carbonato de sodio y evaluar las posibles afectaciones en la estética del fruto.

Por último, es indispensable que los conocimientos obtenidos en esta investigación sean compartidos a los productores del Distrito Especial de Buenaventura y del litoral pacífico donde se cultive este fruto y se presente este problema fitosanitario, con el fin de contribuir con el desarrollo productivo y económico del sector rural en la región pacífica colombiana.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology*. Elsevier.

Aharoni, Y., Fallik, E., Copel, A., Gil, M., Grinberg, S. y Klein, JD (1997). El bicarbonato de sodio reduce el desarrollo de pudriciones poscosecha en los melones. *Biología y tecnología poscosecha*, 10 (3), 201-206.

Andrianopoulos, A. (2002). Control of morphogenesis in the human fungal pathogen *Penicillium marneffe*, *International Journal of Medical Microbiology*, Volume 292, Issues 5–6, Pages 331-347, ISSN 1438-4221, <https://doi.org/10.1078/1438-4221-00217>.

Anon. (1999). Baking soda and gray mold. Conference notes: ESA and APS joint meeting. IPM Practitioner. April. p. 10-11.

Avis, T. J. (2007). Antifungal compounds that target fungal membranes: applications in plant disease control. *Can. J. Plant Pathol.* 29:323-329.

Barkai-Golan, R. (2001). *Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control*. Elsevier.

Barnet, L.H. and Hunter, B.B. (1972). *Illustrated General of Imperfect Fungi*. Third Edition. American Phytopathological Society. 241p.

Bernal, A. M. R., & Sisnández, M. (2001). 4)Evaluación in vitro de diferentes productos químicos sobre el control de *Penicillium digitatum* Sacc.

Calderón Correa, V., Berríos Centeno, J. J., & Centeno, H. J. (2006). Uso de bicarbonato de sodio para el control de Mildiu Polvoriento causado por *Sphaerotheca Fuliginiae* en el cultivo del Melón (Doctoral dissertation).

Carris, L. M., Cr Little, & Cm Stiles. (2012). Introduction to Fungi. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2012-0426-01. *Phytopathology News*.

- Centro Nacional De Información Biotecnológica – NCBI (2024). [Internet]. Bethesda (MD): Biblioteca Nacional de Medicina (EE. UU.), Centro Nacional de Información Biotecnológica; 1988. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Ceponis, M.J., Cappellini, R.A., Lightner, G.W., (1986). Disorders in citrus shipments to the New York market 1972–1984. *Plant Dis.* 70, 1162–1165.
- Cifuentes, E. L. A., & Espinosa, P. A. (2008). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 204pp.
- Cordova, J (S.F) El cultivo de borjón. Repositorio Agrosavia.
- Corporación De Promoción De Exportaciones E Inversiones (CORPEI), 2005. Naranjillas, Pitahaya, Arazá y Borjón con Agroquímicos.
- Davide, S.; Angelo, G. and Maria, L. G. (2004). Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on apple combining a biocontrol agent with hot water dipping and acibenzolar-S-methyl, baking soda, or ethanol application. *Postharvest Biol. Technol.* 33:141-151.
- Deliopoulos, T.; Kettlewell, P. S. and Hare, M. C. (2010). Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. *Crop Protection.* 29(10):1059-1075.
- Dijksterhuis, J. (2007). Heat resistant ascospores. In: *Food mycology. A multifaceted approach to fungi and food*, CRC Press, Boca Raton: 101–117.
- Eckert, J.W., Eaks, I.L., (1989). Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. In: Reuter, W., Calavan, E.C., Carman, G.E. (Eds.), *The Citrus Industry*. DANR. University of California Press, Berkeley, CA, USA, pp. 179–260.
- Frisvad, J. C., Yilmaz, N., Thrane, U., Rasmussen, K. B., Houbraken, J., & Samson, R. A. (2013). *Talaromyces atroseus*, a new species efficiently producing industrially relevant red pigments. *PloS one*, 8(12), e84102.

- Giraldo, C., Rengigo, L., Aguilar, E., Gaviria, D. & Alegría, A. (2004). Determinación del sexo en borojó (*Borojoa patinoi*, Cuatrecasas) mediante marcadores moleculares, Revista Colombiana de Biotecnología.
- Gohel, V., Singh, A., Vimal, M., Ashwini, P., & Chhatpar, H. S. (2006). Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganisms. African Journal of Biotechnology, 5(2), 54-72.
- Granados - Montero, M. D. M. (2018). Identificación morfológica de hongos fitopatógenos: taller básico.
- Guédez, C., Cañizalez, L., Castillo, C., Olivar, R. Y Maffei, M. (2010). Alternativas para el control de hongos postcosecha en naranjas valencianas (*Citrus sinensis*). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 30 (1), 43-47.
- Hasan, M. F.; Mahmud, T. M. M.; Kadir, J.; Ding, P. and Zaidul, I. S. M. (2012). Sensitivity of *Colletotrichum gloeosporioides* to sodium bicarbonate on the development of anthracnose in papaya (*Carica papaya* L. cv. Frangi). *Aus. J. Crop Sci.* 6(1):17-22
- Herbario Virtual (2023). Moho verde en cítricos (*Penicillium digitatum*). Cátedra de fitopatología. Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. <https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar>
- Hien, T. V., Loc, P. P., Hoa, N. T. T., Duong, N. M., Quang, V. M., Mcneil, M. M., ... & Ashford, D. A. (2001). First cases of disseminated penicilliosis marneffeii infection among patients with acquired immunodeficiency syndrome in Vietnam. *Clinical Infectious Diseases*, 32(4), e78-e80.
- Horré, R., Gilges, S., Breig, P., Kupfer, B., De Hoog, G. S., Hoekstra, E., & Schaal, K. P. (2001). Case report. Fungaemia due to *Penicillium piceum*, a member of the *Penicillium marneffeii* complex. *Mycoses*, 44 (11-12), 502-504.
- Houbraken J, Vries Rp De, Samson Ra (2014). Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Advances in Applied Microbiology* 86: 199–249.

- Houbraken, J., Kocsubé, S., Visagie, C. M., Yilmaz, N., Wang, X. C., Meijer, M., & Frisvad, J. C. (2020). Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. *Studies in mycology*, 95, 5-169.
- Ilhan, K.; Arslan, U. And Karabulut, O. A. (2006). The effect of sodium bicarbonate alone or in combination with a reduced dose of tebuconazole on the control of apple scab. *Crop Protec.* 25:963-967.
- Jamar, L., Lefrancq, B., & Lateur, M. (2007). Control of apple scab (*Venturia inaequalis*) with bicarbonate salts under controlled environment. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 221-227.
- Juárez-Santillán, L. F., Tejada-Tapia, Y., Reyes-Gómez, J. P., De Jesús López-Ceballos, J., Martínez-Aguilar, K., & Armenta-Barrios, J. A. (2022). Peróxido de hidrógeno y bicarbonato de sodio para control de gomosis en el cultivo de naranja Valencia. *Veracruz. REMCID*, 1.
- Kalra, R., Conlan, X. A., & Goel, M. (2020). Fungi as a potential source of pigments: Harnessing filamentous fungi. *Frontiers in Chemistry*, 8, 369.
- Karabulut, O. A.; Arslan, U.; Ilhan, K. and Yagdi, K. (2006). The effect of sodium bicarbonate alone or in combination with a reduced rate of mancozeb on the control of leaf rust *Puccinia triticina* in wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 28: 484-488.
- Lobuglio, K. F., Pitt, J. I., & Taylor, J. W. (1993). Phylogenetic analysis of two ribosomal DNA regions indicates multiple independent losses of a sexual *Talaromyces* state among asexual *Penicillium* species in subgenus *Biverticillium*. *Mycologia*, 85(4), 592-604.
- Lopez, J. (2000). Manejo de frutales de climas medio y cálido. Corporación para el desarrollo micro empresarial.  
<http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4092/1/071.pdf>
- Lurá, M., Benítez, J., Jáuregui, S., & González, A. (2003). Evaluación de diferentes técnicas de extracción del ADN de hongos filamentosos. *R Fabricib*, 7, 37-44.

- Maeda, R. N., Barcelos, C. A., Santa Anna, L. M. M., & Pereira Jr, N. (2013). Cellulase production by *Penicillium funiculosum* and its application in the hydrolysis of sugar cane bagasse for second generation ethanol production by fed batch operation. *Journal of Biotechnology*, 163(1), 38-44.
- Mapari, S. A., Meyer, A. S., Thrane, U., & Frisvad, J. C. (2009). Identification of potentially safe promising fungal cell factories for the production of polyketide natural food colorants using chemotaxonomic rationale. *Microbial cell factories*, 8, 1-15.
- Medina, J. (2007). Respuesta cultural y morfogenética de tres explantes de borojó (*Borojoa Patinoi* CUATRECASAS). *Revista institucional Universidad Tecnológica del Chocó*.
- Mosquera, J. & Arenas, E. (1995). El borojó, Cultivo Agroforestal del Chocó Fundamentos para el desarrollo sostenible. CODECHOCÓ, Chocó, Colombia.
- Mousa, W. K., & Raizada, M. N. (2013). The diversity of anti-microbial secondary metabolites produced by fungal endophytes: an interdisciplinary perspective. *Frontiers in microbiology*, 4, 65.
- Müller, I. A., & Anchorena, R. (2001). Prácticas de manejo en poscosecha de la fruta cítrica para mejorar su calidad exportable. INIA Serie Actividades de Difusión.
- N. Yilmaz, C.M. Visagie, J. Houbraken, J.C. Frisvad, R.A. Samson (2014). Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*, *Studies in Mycology*, Volume 78, Pages 175-341, ISSN 0166-0616, <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.08.001>.
- Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., & Razavi, M. (2012). Biocontrol agent *Talaromyces flavus* stimulates the growth of cotton and potato. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31, 471-477.
- Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M., & Afshari-Azad, H. (2010). Biological control of *Verticillium* wilt of greenhouse cucumber by *Talaromyces flavus*. *Phytopathologia Mediterranea*, 49(3), 321-329.

- Narikawa T, Shinoyama H, Fujii T (2000). A  $\beta$ -rutosidase from *Penicillium rugulosum* IFO 7242 that is a peculiar flavonoid glycosidase. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 64: 1317–1319.
- Nutriward. (2005). El borojó.
- Palou L, Smilanick J, Usall J, Viñas J. (2001). Control of postharvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate and sodium bicarbonate. *Plant Dis.*, 85:371-6.
- Palou, L. (2007). Evaluación de alternativas para el tratamiento antifúngico en poscosecha de cítricos de Producción Integrada. *Horticultura*, (200), 82-93.
- Palou, L. (2014). *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* (green mold, blue mold). In *Postharvest decay* (pp. 45-102). Academic Press.
- Palou, L. (2018). Postharvest treatments with GRAS salts to control fresh fruit decay. *Horticulturae*, 4(4), 46.
- Park, S. H., Kim, S. H., Woo, J. H., Choi, S. Y., & Park, S. D. (2014). Control of grapevine leaf spot caused by *pseudocercospora vitis* with application of bicarbonate. Gyeongsangbuk-Do Agricultural Research and Extension Services, Daegu 702-708, Korea.
- Pelser, P., Du, T., (1977). Postharvest handling of South African citrus fruit. *Proc. Int. Soc. Citriculture* 1, 244–249.
- Phd LASSO, N (2020). EL BOROJÓ, UN FRUTO CON SABOR A LITORAL PACÍFICO. Universidad del Pacífico. Programa de Agronomía.
- Pitt, J. I. (1979). The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press Inc. Ltd.

- Pol D, Laxman Rs, Rao M (2012). Purification and biochemical characterization of endoglucanase from *Penicillium pinophilum* MS 20. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 49: 189–194.
- Rezaee, S., Heydari, A., Naraghi, L., Razavi, M., Jahanifar, H., & Khaledi, E. (2010). Biological control of tomato Verticillium wilt disease by *Talaromyces flavus*. *Journal of Plant Protection Research*.
- Rodríguez-Guzmán, C. A., Montaña-Leyva, B., Sánchez-Burgos, J. A., Bautista-Rosales, P. U., & Gutierrez-Martinez, P. (2022). Chitosan and GRAS substances application in the control of *Geotrichum candidum* isolated from tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* L.) in the state of Nayarit, Mexico: In vitro tests. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 21(3), Bio2790-Bio2790.
- Saltos, R. N. (2012). Extracción de ADN genómico y amplificación de la región ITS por PCR en el ascomicete marino *Lulworthia grandispora*.
- Samson Ra, Yilmaz N, Houbraken J, Spierenburg H, Seifert Ka, Peterson Sw, Varga J, Frsivad Jc. (2011). Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. *Studies in Mycology* 70:159–183.
- Santos Pe, Piontelli E, Shea Yr, M. L. Galluzzo, S. M. Holland, M. E. Zelazko, S. D. Rosenzweig, Md. (2006). *Penicillium piceum* infection: diagnosis and successful treatment in chronic granulomatous disease. *Medical Mycology* 44: 749–753.
- Schmitz, A., & Riesner, D. (2006). Purification of nucleic acids by selective precipitation with polyethylene glycol 6000. *Analytical biochemistry*, 354(2), 311-313.
- SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad Y Calidad Agroalimentaria. (2018). Protocolo de Diagnóstico: Detección e identificación de hongos fitopatógenos a partir de semillas [Versión 1.0]. Tecámac, México: Autor.
- Smilanick, J. L., Mackey, B. E., Reese, R., Usall, J., & Margosan, D. A. (1997). Influence of concentration of soda ash, temperature, and immersion period on the control of postharvest green mold of oranges. *Plant disease*, 81(4), 379-382.

- Smilanick, J. L., Margosan, D. A., Mlikota, F., Usall, J., & Michael, I. F. (1999). Control of citrus green mold by carbonate and bicarbonate salts and the influence of commercial postharvest practices on their efficacy. *Plant disease*, 83(2), 139-145.
- Stark, A. A., Townsend, J. M., Wogan, G. N., Demain, A. L., Manmade, A., & Ghosh, A. C. (1978). Mutagenicity and antibacterial activity of mycotoxins produced by *Penicillium islandicum* Sopp and *Penicillium rugulosum*. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 2(2), 313-324.
- Suárez-Contreras, Liliana-Yanet; Peñaranda-Figueredo, Freddy-Armando. (2022). Identificación molecular de hongos filamentosos y su potencial biotecnológico. *Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, v. 20, n. 1, p. 194-206. Doi: <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n1.2022.1914>
- Sun Bd, Chen Aj, Houbraken J, Frisvad Jc, Wu Wp, Wei Hl, Zhou Yg, Jiang Xz, Samson Ra (2020). Nueva sección y especies en *Talaromyces*. *MycoKeys* 68: 75 – 113. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.68.52092>
- Tomlinson, J. K., Cooley, A. J., Zhang, S., & Johnson, M. E. (2011). Granulomatous lymphadenitis caused by *Talaromyces helicus* in a Labrador Retriever. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(4), 553-557.
- Tuset, J. J. (1987). Podredumbres de los frutos cítricos. Conselleria d'Agricultura i Pesca. Generalitat Valenciana, Spain.
- Ueno, Y., Sato, N., Ito, I., Ueno, I., Enomoto, M., Tsunoda, H., (1980). Chronic toxicity and hepatocarcinogenicity of rugulosin, an anthraquinoid mycotoxin from penicillium species: preliminary surveys in mice., *The Journal of Toxicological Sciences*, Volume 5, Issue 4, Pages 295-302, ISSN 1880-3989, Print ISSN 0388-1350, <https://doi.org/10.2131/jts.5.295>
- Vaca Castro, C. E. (2022). Evaluación del efecto antifúngico del bicarbonato de sodio para el control de antracnosis en papaya (*Carica papaya* L.) en el periodo poscosecha (Master's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC).

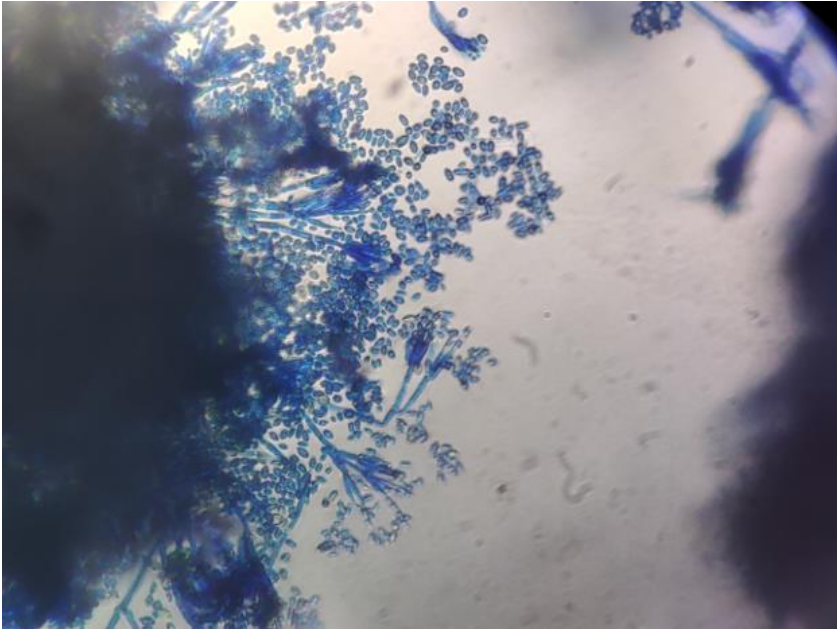


- Viáfara, K., Riascos, M., Cuero, E., Riascos, A., & Riascos Ortíz, D. (2013). Avances del estudio de la pudrición en poscosecha de la fruta de borojó (*Borojoa patinoi* Cuatrec.): análisis de la sintomatología y determinación del agente causal primario. *Revista Agrotecnia y biodiversidad*. Vol. 1-2013, 1(1), 24-25.
- Weisenborn, J.L.F., Kirschner, R., Cáceres, O., Piepenbring, K. (2010). *Talaromyces indigoticus* Takada & Udagawa, the First Record for Panama and the American Continent. *Mycopathologia* 170, 203–208. <https://doi.org/10.1007/s11046-010-9305-6>
- White, Tj, Bruns, T., Lee, Sjwt y Taylor, J. (1990). Amplificación y secuenciación directa de genes de ARN ribosómico de hongos para filogenética. *Protocolos de PCR: una guía de métodos y aplicaciones*, 18 (1), 315-322.
- Yamazaki H, Omura S, Tomoda H (2010). Xanthoradone C, a new potentiator of imipenem activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, produced by *Penicillium radicus* FKI-3765-2. *The Journal of Antibiotics* 63: 329–330.
- Yáñez Juárez, M. G., Ayala Tafoya, F., Partida Ruvalcaba, L., Velázquez Alcaráz, T. D. J., Godoy Angulo, T. P., & Días Valdéz, T. (2014). Efecto de bicarbonatos en el control de cenicilla (*Oidium* sp.) en pepino (*Cucumis sativus* L.). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(6), 991-1000.
- Yao, J. & Yi, D. (2015). First Report of *Alternaria alternata* Causing Black Leaf Spot on *Ficus microcarpa* in China. *The American Phytopathological Society*, 99 (11), 1652.
- Yildirim, I.; Onogur, E. And Irshad, M. (2002). Investigations on the efficacy of some natural chemicals against powdery mildew [*Uncinula necator* (Schw.) Burr.] of grape. *J. Phytopathol.* 150:697-702.
- Yilmaz, N., Visagie, Cm, Houbraken, J., Frisvad, Jc Y Samson, Ra (2014). Taxonomía polifásica del género *Talaromyces*. *Estudios de Micología*, 78 , 175-341.

Zhang, C., Xu, C., Li, J., Yuan, Q., Liu, C., Wang, T., ... & Yuan, D. (2017). Molecular Authentication of *Panax japonicus* through Development of Sequence Characterized Amplified Regions (SCAR) Marker. *Lat. Am. J. Pharm*, 36(3), 431-6.

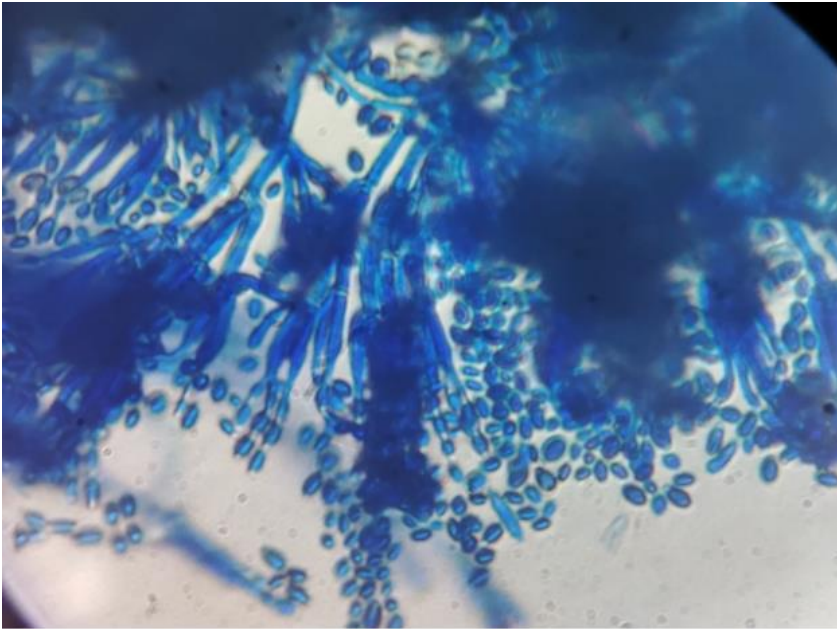
## ANEXOS

**Anexo 1.** Conidióforos de *Talaromyces sp.* a 40X con azul de metileno.



**Fuente:** Propia.

**Anexo 2.** Conidios de *Talaromyces sp.* a 100X con azul de metileno.



**Fuente:** Propia.

**Anexo 3.** Frutos de borjón del corregimiento empelados en los diseños experimentales.



**Fuente:** Propia.

**Anexo 4.** Inoculación del fitopatógeno *Talaromyces sp.* en frutos de borjón.



**Fuente:** Propia.

**Anexo 5.** Soluciones de carbonato de sodio a diferentes concentraciones.



**Fuente:** Propia.

**Anexo 6.** Almacenamiento de frutos de borjón, tras ser inoculados con *Talaromyces sp.*



**Fuente:** Propia.



**Anexo 7.** Expresión del hongo en frutos inoculados con *Talaromyces sp.*



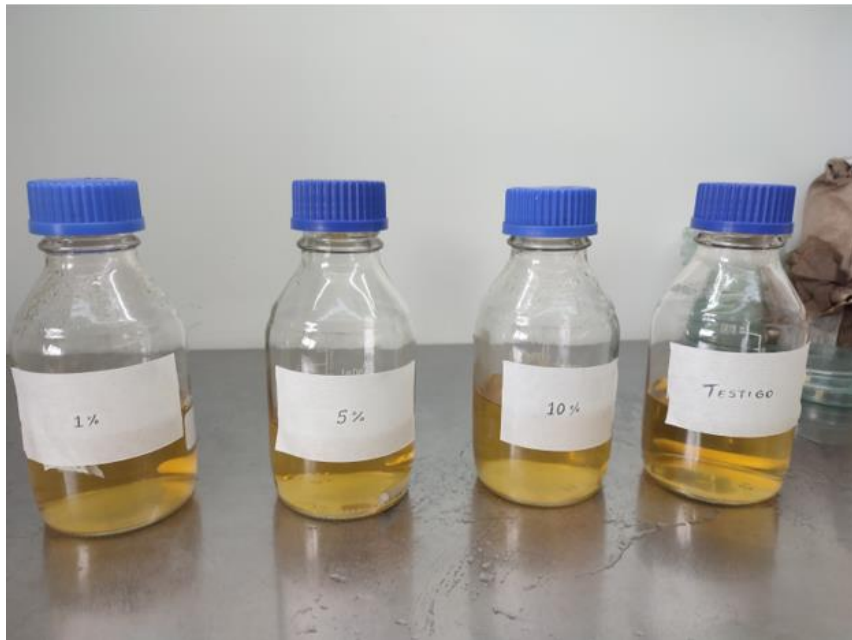
**Fuente:** Propia.

**Anexo 8.** Peso del carbonato de sodio en balanza analítica de precisión.



**Fuente:** Propia.

**Anexo 9.** PDA a diferentes concentraciones de carbonato de sodio.



**Fuente:** Propia.

**Anexo 10.** Almacenamiento de experimento in vitro.



**Fuente:** Propia.

**Anexo 11.** Monitoreo de experimento in vitro.



**Fuente:** Propia.

**Anexo 12.** Clasificación de frutos para los diseños experimentales.



**Fuente:** Propia.



**Anexo 13.** Secado de los frutos después de la sumersión en los tratamientos.



**Fuente:** Propia.