

## Bioprospección de los hiperparásitos *Cicinobolus cesatii* de Bary y *Eudarluca caricis* (Biv.) O.E. Erikss sobre cultivos y plantas adyacentes en la región central de Guatemala

Gustavo Adolfo Alvarez Valenzuela\*, María del Carmen Santos Bravo y  
Luis Fernando Centes Carrillo

Instituto de Investigaciones Agronómicas y Ambientales, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC)

\*Autor al que se dirige la correspondencia: [gusialvarez@yahoo.com](mailto:gusialvarez@yahoo.com)

Recibido: 25 de Septiembre 2014 / Aceptado: 14 de Octubre 2014 / Disponible en línea: 24 de noviembre 2014

### Resumen

Se realizó una bioprospección para detectar los hiperparásitos *Cicinobolus cesatii* y *Eudarluca caricis* en la región central de Guatemala para establecer la presencia y la obtención de cepas prometedoras para control biológico. Setecientos seis muestras de plantas silvestres y cultivadas fueron analizadas, en 16 se detectó *C. cesatii* y en 46 *E. caricis*. Las regiones con más detecciones de ambos hiperparásitos fueron San Juan Comalapa y Tecpán Guatemala del departamento de Chimaltenango, emergiendo como una región con alto potencial biológico y variabilidad. Se obtuvieron aislamientos e hicieron comparaciones de estructuras reproductivas y se estableció que existe variabilidad a través de análisis estadístico que marcó diferencias significativas al 5% de significancia al comparar entre cepas de la misma localidad y entre localidades, además de la diferencia entre origen vegetal. También se estableció que hay cepas promisorias de *C. cesatii* aislado de *Physalis* sp. y *E. caricis* aislado de *Prunus* sp., *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris*. El estudio pone de manifiesto el potencial de presencia de ambos agentes sobre plantas silvestres o áreas sin aplicación de fungicidas.

Palabras claves: *Cicinobolus cesatii*, *Eudarluca caricis*, bioprospección, hiperparásitos, cepas promisorias, control biológico, *Oidium*, *Uredinales*.

### Abstract

Bioprospecting was performed to detect hyperparasites *Cicinobolus cesatii* and *Eudarluca caricis* in central region of Guatemala to establish their presence and obtain promising strains to be use in biological control. Seven hundred and six samples from wild and cultivated plants were analyzed; *C. cesatii* was detected in 16 samples, and 46 cases of *E. caricis*. Both hyperparasites were identified in San Juan Comalapa and Tecpan of Chimaltenango County, having high biological potential and variability. Reproductive structures comparison of the different isolates was made and its variability was established through statistical analysis showing significant differences when they were compare between strains from the same site and between sites, also they showed difference between plant origins. These strains such as *C. cesatii* from *Physalis* sp. and *E. caricis* from *Prunus* sp., *Zea mays* and *Phaseolus vulgaris* have a high potential. This research showed a high presence of both agents on wild plants or areas without application of fungicides.

Keywords: *Cicinobolus cesatii*, *Eudarluca caricis*, bioprospección, hiperparásitos, cepas promisorias, control biológico, *Oidium*, *Uredinales*.



## Introducción

Guatemala basa su economía en la agricultura, con una amplia diversidad de especies vegetales y los ecosistemas permiten la existencia y biodiversidad de microorganismos.

Las royas (Uredinales, Basidiomycota) y las cenicillas (Erysiphales, Ascomycota) son agentes fitopatógenos que afectan cultivos de importancia, económica y el control por medio de fungicidas genera contaminación ambiental y a humanos, tanto por el contacto directo como por la ingesta de productos de consumo, además de incrementar los costos de producción, pérdidas por rechazo de embarques por el uso de plaguicidas no permitidos que afectan directamente a las empresas exportadoras. *Cicinobolus cesatii* de Bary (*Ampelomyces quisqualis*) y *Eudarluca caricis* (Biv.) O.E. Erikss. (*Darluca filum*) son dos especies cosmopolitas de hongos hiperparásitos en cenicillas y royas respectivamente (Black, 2012; Keener, 1934; Kranz & Brandenburger, 1981; Liesebach y Zaspel, 2004; Placheka, 2005; Sucharzewska, Dinowska & Bozema, 2011; Sztejnberg, Galper y Lisker, 1990; Yuan, Pei, Hunter, & Royle, 1998). En Guatemala previo al presente estudio se desconocía el potencial biológico de estos dos microorganismos que pueden funcionar como biocontroladores, por lo que el objetivo principal fue establecer su presencia en la región bajo estudio, establecer la distribución espacial y caracterizar la variabilidad y potencial para uso en control biológico de ambos microorganismos in situ e in vitro.

## Materiales y métodos

### Localidades bajo estudio

El estudio se realizó en la región central de Guatemala, en los departamentos de Guatemala, Sacatepéquez y Chimaltenango. Los municipios muestreados fueron de Guatemala, San Juan Sacatepéquez, Palencia, San Raymundo y Amatitlán, de Sacatepéquez, Santa María de Jesús, Santiago Sacatepéquez, San Juan Aלותenango y Sumpango, y de Chimaltenango, Tecpán Guatemala, Patzún, Patzicia y San Juan Comalapa. El criterio de selección de los municipios fue determinado por densidad de fincas en base al reporte del IV Censo Nacional Agropecuario (Instituto Nacional de Estadística, 2004).

### Tipo de muestreo

El estudio se desarrolló de enero a noviembre de 2013, abarco tres departamentos y cuatro municipios por departamento, en total fueron 12 regiones de muestreo. Se definió como punto de muestreo un hospedante a plantas cultivadas con presencia de signos y síntomas de cenicilla *Oidium* sp., o bien algún tipo de roya. El criterio de separación de las muestras fue según el sustrato infectado con cenicilla o roya. La cantidad de muestras obtenidas por sitio de muestreo tuvo como mínimo una, sin tener un límite máximo de especímenes. Se capturaron y procesaron 706 muestras, procedentes de Chimaltenango 280, de Sacatepéquez 214 y de Guatemala 212. Los municipios de donde se colectó la mayor cantidad de muestras fueron Patzicia, Chimaltenango 92 y San Juan Sacatepéquez, Guatemala 80.

### Variables de respuesta

Incidencia, presencia o ausencia en cada uno de los sustratos. Anatomía y morfología, forma de los picnidios, diámetro y longitud de los picnidios, largo y ancho de los conidios. El análisis de las variables se realizó por medio de parámetros que marca cada uno, porcentaje de incidencia, medidas en micras o milímetro, datos de georeferenciación, que se exponen en tablas o gráficas descriptivas y de comparación.

### Análisis de la información

Las dimensiones de conidias y picnidios se compararon por medio de la prueba de t de Student, y se cotejaron en tablas para expresar variabilidad. Los datos de georeferencia se utilizaron para la elaboración de mapas de ubicación, así como también para medir la incidencia por municipio y departamento y expresarlo por medios de cuadros comparativos. Los sustratos, y hospedantes se analizan en función de incidencia por localidad, taxonomía, y ubicaciones geográficas, se compararon por medio de cuadros y graficas descriptivas.

### Aislamiento

Las muestras con presencia de *C. cesatii* o *E. caricis*, se colocaron en cámara húmeda durante 48 horas, según Sztejnberg, Galper, Sholomit y Lisker (1989), esta técnica se emplea para estimular la esporulación de los hiperparásitos. Transcurrido este tiempo se realizó el aislamiento utilizado el método de aislamiento de

esporas con aguja de vidrio en medio agar agua al 3% según la técnica descrita por Goh (1999). Pasadas las 48 horas se procedió al repique de bocados de agar-agua, con un conidio germinado/bocado en agar papa dextrosa (PDA), Czapek, MCzapek, y agar extracto de malta (MEA), cada uno con tres repeticiones, se incubaron a 26°C para observar el crecimiento.

## Resultados

Se procesaron un total de 706 muestras que fueron captadas a lo largo del ciclo de la investigación. *C. cesatii* se aisló de dos muestras, una procedente de Alotenango y otra procedente de San Raymundo; ambas detectadas sobre *Oidium* sp., patógeno sobre *Carica papaya*. El agente con mayor incidencia fue *E. caricis* el cual fue detectado en 46 muestras. En la Tabla 1 se observan los hospederos y la localización de *E. caricis* para las cepas aisladas.

### Cepas promisorias

**Aislamiento de *C. cesatii*.** Se realizaron aislamientos de 15 muestras de diferentes procedencias y

diversidad de hospedantes con presencia de *C. cesatii*, donde dos de ellos desarrollaron colonias en los medios PDA, MEA. La respuesta de desarrollo en medio de cultivo de los puntos de siembra oscila entre 18-20%, el periodo aproximado para el desarrollo en medio MEA fue de 8 semanas, en medio de cultivo MCzapek el hongo no tuvo desarrollo.

**Aislamiento de *E. caricis*.** Se realizaron 47 cultivos de muestras de diferentes procedencias y diversidad de hospederos con presencia de *E. caricis*, de los cuales 15 desarrollaron crecimiento de colonia en los medios PDA, MEA, MCzapek, y Czapek. El porcentaje de aislamiento fue de 32%, el tiempo aproximado para el crecimiento en medio de cultivo fue de dos semanas.

**Diversidad de poblaciones de *C. cesatii*.** Se realizó análisis estadístico de prueba para picnidios (largo y ancho) a: (1) Dos sitios con presencia *C. cesatii* en *Brassica* sp.; siendo el resultado que no existe diferencia con un 5% de significancia entre sus picnidios tanto para largo como para ancho. (2) Dos muestras número de correlativo 575 con presencia *C. cesatii* en *Coriandrum* sp. y *Daucus montanus*; siendo el resultado que no existe diferencia con un 5% de significancia entre sus picnidios tanto para largo como para ancho. (3) Dos sitios con *Carica papaya*; siendo el resultado que no

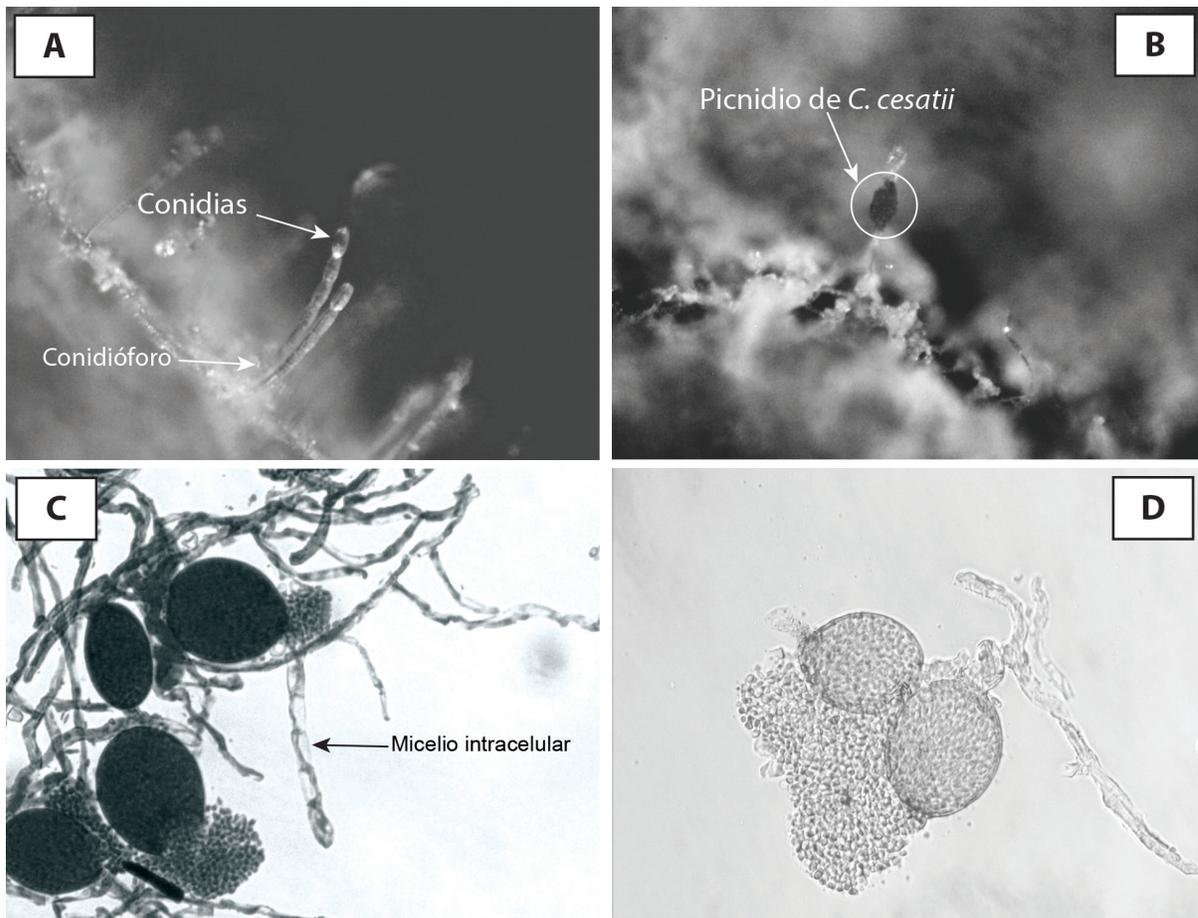
Tabla 1  
Cepas aisladas de *E. caricis*, localización y hospedantes en la Región Central de Guatemala

| No. | Procedencia                       | Correlativo | Sustrato                  |
|-----|-----------------------------------|-------------|---------------------------|
| 1   | Amatitlán Guatemala               | 46          | <i>Phaseolus vulgaris</i> |
| 2   | Amatitlán Guatemala               | 48          | <i>Zea mays</i>           |
| 3   | Amatitlán Guatemala               | 57          | <i>Rosa</i> sp.           |
| 4   | Santa María de Jesús Sacatepéquez | 296         | <i>Prunus persica</i>     |
| 5   | San Juan Sacatepéquez Guatemala   | 322         | <i>Prunus persica</i>     |
| 6   | Sumpango Sacatepéquez             | 362         | <i>Prunus persica</i>     |
| 7   | Sumpango Sacatepéquez             | 374         | <i>Prunus persica</i>     |
| 8   | Sumpango Sacatepéquez             | 397         | <i>Prunus persica</i>     |
| 9   | Tecpán Chimaltenango              | 490         | <i>Vicia faba</i>         |
| 10  | Chimaltenango                     | 504         | <i>Prunus persica</i>     |
| 11  | San Juan Comalapa Chimaltenango   | 577         | <i>Prunus persica</i>     |
| 12  | San Juan Comalapa Chimaltenango   | 585         | <i>Hydrocotyle</i> sp.    |
| 13  | San Juan Comalapa Chimaltenango   | 588         | <i>Prunus persica</i>     |
| 14  | San Juan Comalapa Chimaltenango   | 601         | <i>Prunus persica</i>     |
| 15  | San Raymundo Guatemala            | 672         | <i>Prunus persica</i>     |

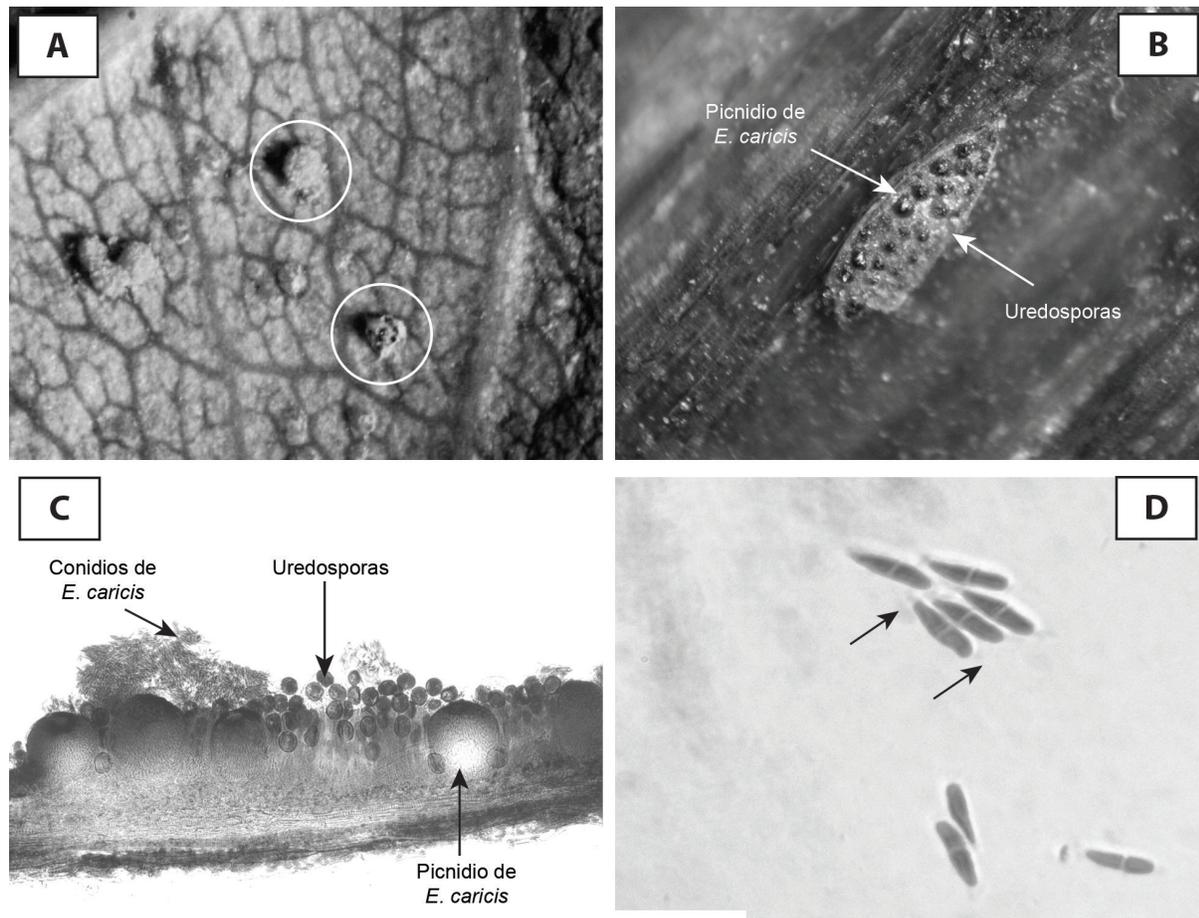
existe diferencia con un 5% de significancia entre sus picnidios tanto para largo como para ancho.

**Diversidad de poblaciones de *E. caricis*.** Se realizó análisis estadístico de prueba t de Student para picnidios (largo y ancho) de: (1) Dos muestras positivas correlativo 585, en el cual con un 95% de confianza no hay diferencia significativa en cuanto a largo y ancho de picnidios. (2) En *Prunus* sp., comparándolo con muestras positivas de *Hydrocotyle umbellata* y además con dos localidades de *Prunus persica* (515 y 588) con lo cual con un 95% de confianza existe diferencia significativa en largo y ancho de conidios, la población de *Prunus* sp., es de mayores dimensiones. (3) Dos

muestras positivas provenientes del número de correlativo 585, en el cual con un 95% de confianza no hay diferencia significativa en cuanto a largo y ancho de picnidios. (4) *Prunus* sp., comparándolo con muestras positivas de *H. umbellata* y además con dos localidades de *P. persica* (515 y 588) con lo cual con un 95% de confianza existe diferencia significativa en largo y ancho de conidios, la población de *Prunus* sp., es la de mayores dimensiones. (5) En cuatro muestras positivas de *P. persica* (todos contra todos), provenientes de cuatro sitios distintos, con un 95% de confianza no existe diferencia significativa entre estos en cuanto a largo y ancho de los picnidios.



**Figura 1.** Efecto del hiperparásito *C. cesatii* en *Oidium* sp. **A.** Vista por macroestereoscopia de *Oidium* sp., en la cual se observa la coloración transparente y forma ovoide de sus conidios. **B.** Vista con macroestereoscopia de *Oidium* sp., parasitada por *C. cesatii*, en círculo amarillo se observa la deformación de conidios de *Oidium* sp., **C.** Se observa al microscopio micelio intracelular de *C. cesatii*. **D.** Coloración ámbar de picnidios de *C. cesatii* y de micelio de *Oidium* sp., causada por el parasitismo.



**Figura 2.** Morfología y anatomía de *E. caricis*. **A.** Depresión del uredosoro de *Phragmidium mucronatum* causado por *E. caricis*. En círculo azul se observan uredosporas viables alrededor de pústula sana de *P. mucronatum* mientras en círculo rosado la pústula esta parasitada por *E. caricis* y se observa la reducción de uredosporas alrededor del mismo. **B.** Vista en estereoscopio de picnidios de *E. caricis* de color negro brillante dentro de pústula de roya de maíz, *Puccinia sorghi*. **C.** Corte transversal de pústulas de *Puccinia sorghi* parasitadas con *E. caricis*. **D.** Conidios de *E. caricis* con mucosa en los extremos.

## Discusión

El resultado del presente estudio ha sido la denuncia de la presencia de los hiperparásitos *E. caricis* y *C. cesatii* en la región central de Guatemala, esto viene a confirmar lo descrito anteriormente por Alvarez y García (1993), García (2000), Guerra (2005), Mejía (2008) y otros que han denunciado su presencia como referencia de otros trabajos de investigación. El aporte del presente trabajo es que incluye posicionamiento por medio de coordenadas de georreferenciación y que los

agentes biocontroladores fueron llevados al laboratorio para el estudio biométrico y de la capacidad de crecimiento in vitro.

De las muestras analizadas en el laboratorio se estableció que en 16 tenían presencia de *C. cesatii* y en 46 *E. caricis*, esto indica que potencialmente se tiene más riqueza de *E. caricis* en cuanto a distribución espacial y diversidad de hospedantes, las zonas con alto potencial biológico son los municipios de San Juan Comalapa y Tecpán Guatemala, del departamento de Chimaltenango, dado a que en el primero tiene mayor

cantidad de detecciones para *E. caricis*, 11 en total y de *C. cesatii* tres, y el segundo con 10 para *E. caricis* y dos para *C. cesatii*.

En cuanto al rango de hospedantes de *C. cesatii*, se obtuvieron detecciones solo en plantas silvestres comúnmente denominadas como malezas, tal es el caso de *Rumex crispus*, *Sonchus* sp., *Coriandrum* sp., *D. montanus* y *Desmodium* sp., además de *Physalis* sp., que es una planta semi-silvestre lo que implica biológicamente que es más virulento si se considera que las plantas hospederas por su evolución tienen más adaptabilidad por lo que tendrían mayor potencial genético de resistencia a enfermedades y por lo tanto los hiperparásitos poseen más genes de virulencia. En el caso de *E. caricis*, fue detectado sobre en *Puccinia hydrocotyle*, parásito de *Hydrocotyle* sp., y sobre aecias de *P. sorghi* sobre *Oxalis* sp., pero estas no tendrían tanto valor biológico de acuerdo a la especificidad más que la detectada sobre *Oxalis* sp., dado a que el sustrato es una fase aecial de la roya del maíz, *Puccinia sorghi*, de donde también fue aislado, pero no deja de ser importante ya que también está sobre malezas y otra fase de la roya que no es *Uredia* o *Telia* donde frecuentemente ha sido detectada.

En cuanto a la variabilidad de los agentes bajo estudio, se obtuvo información específica para Guatemala, como capacidad de desarrollo en medios de cultivo, dimensiones de los conidios y picnidios, variables que aportan datos importantes, donde se destaca la variación entre las localidades y entre los mismos hospedantes, como lo manifiestan los datos obtenidos de tamaños de conidios.

Los resultados de la investigación dan margen a redirigir las posteriores investigaciones al respecto de esta línea, ya que la baja incidencia de los hiperparásitos en áreas cultivadas es debido a que estas son tratadas con fungicidas; por lo que se deben realizar muestreos con más intensidad en estas áreas para encontrar cepas adaptadas a estos productos y además también generalizar la línea de investigación sobre plantas silvestres e incluir plantas voluntarias en la búsqueda de agentes de control biológico con alto potencial patogénico, paralelo a ello también derivar una línea de investigaciones sobre los métodos y técnicas para el aislamiento y conservación in vitro de las cepas obtenidas tanto en la presente investigación así como en las futuras investigaciones.

## Agradecimientos

La realización de este trabajo, ha sido posible gracias al apoyo financiero de Programas Universitarios de Investigación en Alimentación y Nutrición (PRUNIAN) y en Desarrollo Industrial (PUIDI 4.8.63.6.58) de la Dirección General de Investigación de la USAC.

## Referencias

- Alvarez, G., y García, E. (1993). *Manejo Integrado de Arveja China: fase I 1991-1992*. Guatemala: Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación.
- Black, A. (2012). *The epidemiology of Puccinia emaculata (rust) in switchgrass and evaluation of the mycoparasite Sphaerellopsis filum as a potential biological control organism for switchgrass rust*. (Master's Thesis). University of Tennessee. Recuperado de [http://trace.tennessee.edu/utk\\_gradthes/1251](http://trace.tennessee.edu/utk_gradthes/1251)
- García, J. (2000). *Determinación de enfermedades fungosas en el tejido aéreo de 30 especies de plantas medicinales en dos localidades del Altiplano Central de Guatemala* (Tesis de Licenciatura). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Goh, T. K. (1999). Single-spore isolation using a handmade glass needle. *Fungal Diversity*, 2, 47-63.
- Guerra, T. (2005). *Informe final de Diagnóstico, Servicios e Investigación desarrollados en el Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala*. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Instituto Nacional de Estadística. (2004). *IV Censo Agropecuario Nacional*. Guatemala: Autor.
- Keener, P. (1934). Biological Specialization in *Darlucafilum*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club. Torrey Botanical Society*, 61(9), 475-490.
- Kranz, J., & Brandenburger, W. (1981). An amended host list of the rust parasite *Eudarluca caricis*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 8(11), 682-702.

- Lieseback, M., & Zaspel, I. (2004). Genetic diversity of the hyperparasite *Sphaerellopsis filum* on *Melampsora* willow rusts. *Forest Pathology*, 34(5), 293-305.
- Mejía, L. (2008). *Diagnóstico de enfermedades en muestras analizadas en el Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala y Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario de la Unidad de Normas y Regulaciones, Ministerio*. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Plachecka, A. (2005). Microscopical Observations of *Sphaerellopsis filum*, a parasite of *Puccinia recondita*. *Acta Agrobotanica*, 58, 67-71.
- Sucharzewska, E., Dinowska, M., & Bożena, A. (2011). Occurrences of the fungi from the genus *Ampelomyces* – Hyperparasites of powdery mildews (*Erysiphales*) infesting trees and bushes in the municipal environment. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 80, 169-174.
- Sztejnberg, A., Galper, S., & Lisker, N. (1990). Conditions for pycnidial production and spore formation by *Ampelomyces quisqualis*. *Canadian Journal of Microbiology*, 36, 193-198.
- Sztejnberg, A., Galper, S., Sholomit, M., & Lisker, N. (1989). *Ampelomyces quisqualis* for biological and integrated control of powdery mildews in Israel. *Journal of Phytopathology*, 124, 285-295.
- Yuan, Z. W., Pei, M. H., Hunter, T., & Royle, D. (1998). *Eudarluca caricis*, the teleomorph of the mycoparasite *Sphaerellopsis filum*, on blackberry rust *Phragmidium violaceum*. *Mycology Research*, 102, 866-868.