

ESPECIES DE *ALTERNARIA* DE LA SABANA DE BOGOTÁ, COLOMBIA

Fecha de recepción: 4 de julio de 2013 • Fecha de aceptación: 19 de agosto de 2013

ALTERNARIA SPECIES IN THE BOGOTÁ PLATEAU, COLOMBIA

Rodríguez-Roa, John Henry¹ • Cárdenas, Martha E.² • Jiménez, Pedro^{3*}

RESUMEN

El género *Alternaria* contiene algunos de los patógenos de plantas más importantes en el mundo. En Colombia existen reportes de enfermedades producidas por *Alternaria* en cultivos de importancia como solanáceas y cítricos, sin embargo, frecuentemente los diagnósticos no incluyen la determinación de las especies que las producen. Este estudio se realizó con el fin de incrementar el conocimiento de la diversidad del género *Alternaria* en Colombia. Muestras vegetales que presentaban lesiones características producidas por el patógeno fueron colectadas de diferentes sitios de la sabana de Bogotá. Después de ser desinfectadas, las muestras fueron cultivadas en Agar Papa-Dextrosa (PDA). La determinación taxonómica de los aislamientos se realizó de acuerdo a las descripciones de Simmons (2007). Se obtuvieron 50 aislados pertenecientes a 14 especies de *Alternaria*, en 16 hospederos, principalmente solanáceas y ornamentales. Todas las especies identificadas hacen parte de la sección de esporas pequeñas, siendo *A. alternata* la más frecuente. A pesar de la alta proporción de solanáceas dentro de los hospederos no se pudo determinar la presencia de *A. solani* (especie arquetípica dentro de la familia). Se realizó una caracterización morfométrica de los conidios, además de una descripción de las colonias y el patrón de esporulación, con los cuales se elaboró y se sustentó una clave taxonómica de las especies de *Alternaria* en la sabana de Bogotá, que se acompaña de descripciones e imágenes de referencia.

Palabras clave: *Alternaria*, morfología, descripción, clave taxonómica.

ABSTRACT

The genus *Alternaria* contains some of the major plant pathogens in the world. In Colombia *Alternaria* has been reported attacking important crops like citrus, ornamentals, and the Solanaceae family. However, frequently, the diagnostic does not include determining the species. This study was performed to increase our knowledge of the diversity of this genus in Colombia. Plant samples with characteristic lesions produced by the pathogen, from different sites in the Bogota plateau, were collected and taken to the laboratory. Samples were

1. Maestría en Biología Aplicada, Universidad Militar Nueva Granada.
2. Laboratorio de Micología y Fitopatología, Universidad de Los Andes, Bogotá, Colombia.
3. Laboratorio de Fitopatología, Universidad Militar Nueva Granada, Campus Nueva Granada, Km 2 vía Cajicá-Zipacquirá, Cundinamarca, Colombia.

* Autor para correspondencia: pedro.jimenez@unimilitar.edu.co

then surface disinfected, and cultured on Potato Dextrose Agar (PDA). The taxonomical determination of the isolates was done following the descriptions in Simmons (2007). From 16 plant hosts, mainly Solanaceae and ornamentals, fifty isolates were recovered, and 14 *Alternaria* species were identified. All the recovered species belonged to the small spores section. The most common isolated species was *A. alternata*, and occurrence of *A. solani*, archetypal species for the Solanaceae, was not recorded despite the high frequency of this botanical family among the plants collected. We performed a morphometric characterization of conidia, and also a description of the colonies and sporulation patterns. A taxonomic key to the species of *Alternaria* in the Bogotá plateau descriptions, and reference images are presented.

Keywords: *Alternaria*, morphology, description, taxonomic key.

INTRODUCCIÓN

Alternaria, Nees, es un género de hongos, perteneciente al Filo Ascomycota. Sus especies se distribuyen globalmente, por lo que se considera un hongo cosmopolita. Se caracteriza además por presentar un gran número de roles ecológicos. Se ha discutido su papel como endófito (Aly et al., 2008; Lahlali y Hijri, 2010; Kaur et al., 2013), saprófito o parásito de plantas vivas (Pitt y Hocking, 1997). La base de datos de hongos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) presenta 4000 asociaciones de *Alternaria* con diferentes hospederos (Farr et al., 2013), convirtiéndose en uno de los géneros de hongos con más amplio rango de hospederos como patógeno de plantas (Andrew et al., 2009). Farr et al. (1989), posicionan a *Alternaria* en el décimo lugar en términos del número total de plantas hospederas. Solo una especie, *A. alternata* es responsable de infectar más de 100 especies vegetales (Simmons, 1992; Simmons, 2007).

Las especies de *Alternaria* se caracterizan por producir una variedad de compuestos tóxicos, que además de determinar la patogenicidad en plantas (Ostry, 2008; Barkai-Golan et al., 2008), se han asociado con efectos adversos para la salud humana y animal, razón por la cual su estudio ha recibido una creciente atención, tanto en programas de

investigación, como en estudios de evaluación de riesgo epidemiológico (Ostry, 2008).

La determinación del número de especies que constituyen el género está aún en discusión. Las estimaciones más conservadoras proponen 44 especies (Rotem, 1994). Sin embargo, revisiones más recientes exponen un número mucho mayor. Simmons (2007) acepta y describe 276 especies en su manual de identificación, mientras que Kirk et al. (2008), en su diccionario de hongos, reportan 299 especies. Finalmente, la base de datos de nomenclatura de hongos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), arroja un total de 418 registros dentro del género (Cline et al., 2014).

La clasificación de las especies de *Alternaria* se sustenta en las características morfológicas, particularmente las que se relacionan con sus conidios; el tamaño, la forma, y la existencia y estructura de sus picos han sido caracteres fundamentales para separar especies (Joly, 1964; Ellis, 1971; Ellis, 1976; Simmons, 1997). Igualmente, el patrón de esporulación, o la estructura de las cadenas de conidios han sido empleados como una herramienta clave en la taxonomía del género. Neergard (1945) propone tres grupos de especies, referidos a la longitud de las cadenas de conidios, *Longicatenado* (diez o más conidios), *Brevicatenado* (aproximadamente cinco conidios), y

Noncatenado (conidios simples), mientras que Simmons (1993), presenta seis grupos de especies, diferenciados por la longitud de las cadenas de conidios y el tipo de ramificación que éstas presentan.

Actualmente se distinguen dos grupos de especies dentro del género, que se separan por el tamaño de sus conidios. Para la sección de conidios grandes, la naturaleza del desarrollo apical de los conidios determina la diversidad de especies, mientras que para la sección de conidios pequeños, es la relación de los conidióforos y conidios en el desarrollo del patrón de esporulación la que sustenta la existencia de varios taxones (Simmons, 2007).

La correcta identificación de algunas especies de *Alternaria* ofrece considerables dificultades debido a la alta variabilidad de los caracteres morfológicos de sus estructuras reproductivas (Xia y Zhang, 2008). Se estima que diversos factores tienen un efecto importante en la variabilidad de dichas características. Rotem (1994), menciona al sustrato donde crece el hongo como el factor que mayor variabilidad aporta. Simmons (1992), adiciona la temperatura y los regímenes de luz dentro de estos factores, y menciona que el manejo estricto de estos parámetros ha sido fundamental en la descripción de nuevas especies. Cuando *Alternaria* crece en cultivos ricos en nutrientes, medios no estandarizados, y en la oscuridad bajo condiciones ambientales no controladas, la formación de micelio aéreo en exceso evita el desarrollo de los patrones de esporulación tridimensionales característicos (Andersen et al., 2001). Un factor adicional que conduce a errores en la identificación de especies, es el uso de montajes húmedos en la descripción de los patrones de esporulación, porque éstos alteran la estructura de las cadenas, dejando como único carácter disponible, la dimensión de los conidios, lo que agrava aún más el error (Andersen et al., 2001).

A través de características morfológicas es posible distinguir entre los dos grupos principales de

Alternaria (conidios pequeños y conidios grandes), de la misma manera que es posible hacerlo para las especies que integran el grupo de conidios grandes (Pryor y Gilbertson, 2000; Chou y Wu, 2002; Pryor y Bigelow, 2003). Sin embargo la distinción dentro del grupo de conidios pequeños, especialmente las que forman cadenas, también denominada sección *alternata*, representa un reto taxonómico no resuelto (Sun y Zhang, 2008).

Un ejemplo concreto de estas dificultades es evidente en la posición de los investigadores con respecto a las especies que integran el grupo *alternata*. Rotem (1994), ha reportado la existencia de por lo menos 11 especies oscuras dentro del grupo, y expone que muchos de los taxones de hospederos específicos, como *A. mali* o *A. gaisen*, deben ser referidos como patotipos de *A. alternata*. Mientras que Andrew et al. (2009), argumentan que debido a la plasticidad morfológica que presenta el grupo, es imposible diferenciar morfoespecies dentro del grupo.

Sin embargo, Simmons (2007), expone la posibilidad de realizar la identificación taxonómica del género, incluyendo el grupo *alternata*, apelando al manejo cuidadoso de las condiciones de cultivo. Para él, y otros autores, la principal fuente de error para conseguir una identificación taxonómica correcta, fundamentada en aspectos morfológicos, dentro de todos los grupos de *Alternaria* es el manejo equivocado de variables que afectan el crecimiento *in vitro* (Simmons y Roberts, 1993; Simmons, 1999; Roberts et al., 2000). Por esta razón los autores exponen como de vital importancia, estandarizar estas variables y los protocolos de medición de las mismas.

Actualmente la sección *alternata*, se trata como un complejo que incluye alrededor de 60 especies, cuya diferenciación taxonómica está determinada más por diferencias moleculares que morfológicas (Woudenberg et al., 2013).

Una precisa y correcta identificación de las especies dentro del género es necesaria, no solo debido

La correcta identificación de algunas especies de *Alternaria* ofrece considerables dificultades debido a la alta variabilidad de los caracteres morfológicos de sus estructuras reproductivas (Xia y Zhang, 2008).

al deseo de clasificarlas y controlarlas, sino también porque el nombre de las especies representa un conjunto de caracteres, por ejemplo, preferencias de crecimiento, patogenicidad o producción de micotoxinas, que nos permiten predecir su comportamiento (Andersen et al., 2001). Una identificación morfológica razonable de las especies de *Alternaria* debe depender de una combinación de las características de conidios a partir de muestras naturales, cultivos en medios artificiales y sus patrones de esporulación tridimensionales (Zhang, 2003).

El estudio de *Alternaria* en Colombia se ha restringido principalmente al impacto que el género tiene como patógeno, sobre cultivos específicos y de interés comercial, como algunas solanáceas (Zubieta et al., 1974; Barreto et al., 2002; Zapata et al., 2002), y cítricos (Castro et al., 2000). La base de datos de USDA reporta para Colombia *Alternaria brassicae* en *Brassica oleracea* var. *capitata*, *A. colombiana* en naranja tangelo (*Citrus ×paradisireticulata*), *A. obclavoidea* en *Passiflora* sp., *A. porri* en cebolla (*Allium cepa* y *A. porrum*), *A. solani* en pimentón (*Capsicum annuum*), tomate (*Solanum lycopersicon*) y papa (*S. tuberosum* y *S. tuberosum* subsp. *andigenum*) y *A. tenuissima* en andropogon (*Andropogon gayanus*). Más allá de estos estudios, no existe una revisión concreta de las especies de

Alternaria en alguna región de país, ni sobre la taxonomía del género.

Este estudio se plantea con el objetivo de incrementar el conocimiento de la diversidad de especies dentro del género *Alternaria* en la sabana de Bogotá, apelando a un enfoque morfológico, además de intentar determinar qué variables morfológicas son fundamentales para diferenciar sus especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colección de aislados

En Colombia existen pocos aislados de *Alternaria* mantenidos en colecciones, por lo cual se realizó una colecta en algunos municipios de la sabana de Bogotá. Un total de 50 aislados pertenecientes al género, o a géneros relacionados, fueron obtenidos de plantas que presentaban síntomas característicos (Agris, 2005). La identidad, el grupo al que corresponden de acuerdo al patrón de esporulación, el origen geográfico y el hospedero fueron registrados en la tabla 1.

Para el aislamiento, pequeñas piezas de tejido (comúnmente hoja) fueron removidas del borde de las lesiones y se desinfectaron con etanol al 70% por 30 segundos, seguido por hipoclorito al 1 % por 5 minutos, después de lo cual se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Las muestras fueron dispuestas en

cajas de Petri con Agar Papa-Dextrosa (PDA) e incubadas a 25 °C por 5 días. Para obtener cultivos monospóricos, se inocularon conidios en cajas de Petri con Agar Agua (AA) utilizando la técnica de siembra por agotamiento con asa microbiológica, se incubaron a 25 °C por una noche y se recuperó un conidio germinado por aislamiento, bajo estereoscopio. Este conidio fue sembrado, y crecido, sobre un disco de papel de filtro estéril colocado sobre PDA (Oxoid) en una caja de Petri de 90 mm de diámetro. Una vez el hongo colonizó la superficie hasta alcanzar los bordes de la caja de Petri, el disco de papel de filtro fue retirado y colocado en una caja de Petri vacía, donde se le dejó tapado hasta su desecación total. Este disco ya deshidratado fue cortado en cuadros de 9 mm², antes de ser introducidos en tubos de vidrio con tapa de rosca estériles, y almacenados a -20 °C. Todos los aislados fueron almacenados de esta manera, además se conservan como preparaciones liofilizadas en la colección de cultivos del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Militar Nueva Granada en Cajicá, Cundinamarca, Colombia.

Caracterización morfológica

Pequeñas secciones de papel filtro con el inóculo de cada uno de los aislados, fueron dispuestas

en cajas de Petri de 90 mm de diámetro, con Agar Papa Zanahoria (PCA) y Agar V8 (Simmons, 2007). Con el fin de inducir la formación de los patrones de esporulación característicos, las cajas fueron incubadas bajo condiciones de luz natural, es decir en un ciclo alternante luz/oscuridad de 12/12 horas, a 25 °C, por 7 días.

Características de la colonia

El diámetro de las colonias fue medido después de 7 días de inoculado el medio. Además se tuvieron en cuenta otras características frecuentes de las colonias del género durante su descripción, como la aparición de anillos concéntricos y el crecimiento parcialmente sumergido del micelio en el medio.

Formación de cadenas de conidios

Se evaluó la estructura tridimensional de la cadena de conidios a través de su observación directa, bajo estereoscopio con una magnificación de 50X, y microscopio de luz con magnificación 40X, 100X y 400X. El patrón de esporulación típico de cada uno de los aislados fue fotografiado con cámara digital, y fue asignado a cada uno de los grupos descritos por Simmons (2007) (Tabla 1), en algunos casos, esquemas del patrón de esporulación fueron obtenidos

El diámetro de las colonias fue medido después de 7 días de inoculado el medio. Además se tuvieron en cuenta otras características frecuentes de las colonias del género durante su descripción, como la aparición de anillos concéntricos y el crecimiento parcialmente sumergido del micelio en el medio.

Clave para las especies de la sección de conidios pequeños de *Alternaria* de la Sabana de Bogotá

1a. Conidios en cadena lineales.....	2
1b. Conidios en cadenas ramificadas.....	8
1c. Conidios solitarios o en grupos o cadenas de no más de 3 conidios.....	11
2a. Conidióforos secundarios conspicuos.....	3
2b. Conidióforos secundarios ausentes o inconspicuos.....	5
3a. Esporulación parcialmente sumergida en el medio. Conidios maduros, elipsoides a subcilíndricos, con una alta variabilidad en longitud, algunos alcanzan hasta 80 µm de largo.....	<i>A. alstroemeriae</i>
3b. Esporulación aérea. Conidios maduros cortos (hasta 30 µm de largo), ovoides o elipsoides.....	4
4a. Conidióforos secundarios largos (hasta 250 µm).....	<i>A. astragali</i>
4b. Conidióforos secundarios cortos (hasta 50 µm).....	<i>A. colombiana</i>
5a. Cadenas cortas (3-7 conidios menos de 12 conidios).....	6
5b. Cadenas largas (5-15 conidios más de 12 conidios), ocasionalmente una ramificación lateral corta.....	<i>A. tenuissima</i>
6a. Conidios ovoides o elipsoides anchos.....	7
6b. Conidios ovoides o elipsoides a ovales, 10-30 x 5-10 µm.....	<i>A. godetiae</i>
7a. Hasta 8 conidios por cadena, 15-40 x 7-20 µm.....	<i>A. gaisen</i>
7b. Hasta 12 conidios por cadena, 11-50 x 7-18 µm.....	<i>A. pellucida</i>
8a. Conidióforos secundarios conspicuos.....	9
8b. Conidióforos secundarios ausentes o inconspicuos.....	10
9a. Cadenas de hasta 5 conidios, ovoides o elipsoides, homogéneos en longitud (18-34 µm).....	<i>A. daucicaulis</i>
9b. Cadenas de hasta 10 conidios, obclavado o elipsoides a ovales, de longitud variable (10-57 µm).....	<i>A. infectoria</i>
10a. Cadenas de hasta 7 conidios, ovoides 11-53 x 7-15 µm.....	<i>A. alternata</i>
10b. Cadenas de hasta 12 conidios, ovoides o elipsoides 10-60 x 7-29 µm.....	<i>A. brassicicola</i>
11a. Conidios solitarios, esferoides.....	<i>A. radicina</i>
11b. Cadenas de hasta 3 conidios elipsoides, ocasionalmente solitarios.....	<i>A. geophila</i>
11c. Grupos de hasta 3 conidios ovoides o subcilíndricos, ocasionalmente solitarios.....	<i>A. broccoli-italicae</i>

Tabla 1. Origen de los aislados usados en el estudio

Id. Aislado	Especie	Hospedero	Lugar	Grupo*
25	<i>A. alstroemeriae</i>	<i>Alstroemeria sp.</i>	Funza	G
26	<i>A. alstroemeriae</i>	<i>Gerbera sp.</i>	Funza	G
27	<i>A. alstroemeriae</i>	<i>Dahlia sp.</i>	Funza	G
9	<i>A. alstroemeriae</i>	<i>Alstroemeria sp.</i>	Bogotá (Suba)	G
18	<i>A. alstroemeriae</i>	<i>Alstroemeria sp.</i>	Bojacá	G
10	<i>A. alternata</i>	<i>Mangifera indica</i>	Chía	J
24	<i>A. alternata</i>	<i>Alstroemeria sp.</i>	Cajicá	J
31,32,33,34	<i>A. alternata</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	Bogotá (Suba)	J
37	<i>A. alternata</i>	<i>S. lycopersicum</i>	Mosquera	J
16	<i>A. astragali</i>	<i>Prumnopitys sp.</i>	Bogotá (JBJCM**)	G
28,29	<i>A. brassicicola</i>	<i>Brassica olearacea</i>	Madrid	J
41, 43, 44	<i>A. brassicicola</i>	<i>Brassica sp.</i>	Cajicá	J
47, 48	<i>A. brassicicola</i>	<i>Raphanus sativus</i>	Cota	J
39, 40	<i>A. broccoli-italicae</i>	<i>B. olearacea</i>	Funza	G
42	<i>A. broccoli-italicae</i>	<i>Brassica sp.</i>	Cajicá	G
15	<i>A. colombiana</i>	<i>Physalis peruviana</i>	Facatativá	G
11	<i>A. daucicaulis</i>	<i>Chenopodium quinoa</i>	Zipaquirá	K

por obscurecimiento de fotografías. Adicionalmente se registró la longitud de los conidióforos.

Características de los conidios

Los conidios de cada uno de los aislados fueron montados en láminas portaobjetos usando cinta adhesiva y como líquido de montaje agua y azul de lactofenol. Se seleccionaron 500 conidios maduros decada uno de los aislados y se determinó su longitud y ancho, con los cuales se calculó la

relación largo-ancho, o el área visible de los conidios, y el número de septos transversales y longitudinales. Se calculó el promedio (\bar{x}) y la desviación (s) y el rango (R) de los valores obtenidos (Tabla 2). Además, otras características morfológicas de los conidios fueron consideradas para su descripción, como la forma del pico y la ornamentación de sus paredes. Las características de los conidios fueron registradas fotográficamente a 400X y 1000X de magnificación.

14	<i>A. gaisen</i>	<i>P. peruviana</i>	Cajicá	G
23	<i>A. gaisen</i>	<i>Zantedeschia aethiopica</i>	Cajicá	G
6	<i>A. gaisen</i>	Orchidaceae	Chía	G
2	<i>A. geophila</i>	<i>Coriandrum sativum</i>	Mosquera	F
30	<i>A. geophila</i>	<i>P. peruviana</i>	Bogotá (Guaymaral)	F
13	<i>A. godetiae</i>	<i>P. peruviana</i>	Cajicá	G
35	<i>A. pellucida</i>	<i>S. lycopersicum</i>	Bogotá (Suba)	G
8a, 8b, 8c, 8d, 8e, 8f, 8g	<i>A. pellucida</i>	<i>Z. aethiopica</i>	Facatativá	G
12	<i>A. radicina</i>	<i>C. quinoa</i>	Zipaquirá	A1
36	<i>A. tenuissima</i>	<i>S. lycopersicum</i>	Bogotá (Suba)	H
7	<i>A. tenuissima</i>	Orchidaceae	Chía	H
38	<i>A. infectoria</i>	<i>C. sativum</i>	Mosquera	K
19, 20, 21, 22	<i>Curvularia</i> sp.	<i>S. lycopersicum</i>	Cajicá	
1	<i>Embellisia</i> sp.	<i>S. lycopersicum</i>	El Rosal	
17	<i>Ulocladium</i> sp.	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Cota	
5	<i>Ulocladium oudemansii</i>	Cucurbitaceae	Chía	

* Agrupación por patrón de esporulación de acuerdo a Simmons (2007).

** Jardín Botánico José Celestino Mutis

Descripción y claves taxonómicas

Las características de las colonias, de los conidios y el patrón de esporulación de cada una de las especies encontradas en el estudio, fueron condensadas en descripciones cortas, acompañadas de fotografías de las características microscópicas. De la misma manera, se presenta una clave taxonómica para la identificación de especies de conidios pequeños en la Sabana de Bogotá. La validación de nuestra clave se realizó comparando contra la propuesta por Simmons (2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una colección de 43 aislados de *Alternaria*, y siete de géneros asociados (Tabla 1), fue obtenida de 13 zonas de la sabana de Bogotá. Con base en sus características morfológicas y en las descripciones realizadas por Simmons (2007), se pudo establecer que los aislados de *Alternaria* corresponden a 14 especies, pertenecientes en todos los casos a la sección de conidios pequeños. Las especies

Tabla 2. Variación morfológica de los conidios de los aislados obtenidos en el estudio.

Id. Aislado	Promedio Área (µm)	Promedio longituditud (µm)	Rango longituditud (µm)	Desviación longituditud	Promedio ancho (µm)	Rango ancho (µm)	Desviación ancho	Relación l/w	Especie
25	202,5	22,8	14-63,1	6,27	11,4	6,6-17,4	2,1	2,0	<i>A. alstroemeriae</i>
9	226,9	26,8	12,4-67,3	7,23	11,3	7,3-15,5	1,6	2,4	<i>A. alstroemeriae</i>
26	229,6	29,6	13,2-78,0	7,48	10,5	7,0-14,9	1,6	2,8	<i>A. alstroemeriae</i>
27	232,6	24,8	9,6-65,8	8,60	12,0	7,7-29,0	2,1	2,1	<i>A. alstroemeriae</i>
18	219,7	24,4	13,1-37,8	5,66	11,5	8,2-15,3	1,5	2,1	<i>A. alstroemeriae</i>
32	209,8	23,9	11,9-49,5	5,42	11,5	7,3-19,4	2,5	2,1	<i>A. alternata</i>
10	206,3	22,6	11,7-49,0	5,27	11,6	6,8-20,5	2,0	2,0	<i>A. alternata</i>
24	205,6	24,4	16,5-47,1	6,74	10,5	7,3-20,0	2,5	2,3	<i>A. alternata</i>
31	277,1	25,4	11,8-52,6	6,64	13,9	7,1-23,4	2,9	1,8	<i>A. alternata</i>
33	212,9	26,2	16,6-43,9	6,51	11,4	7,5-14,7	2,0	2,3	<i>A. alternata</i>
34	263,7	26,2	14,4-43,5	7,49	12,5	8,6-18,8	2,0	2,1	<i>A. alternata</i>
37	206,6	21,3	12,1-40,4	4,81	11,8	8,0-16,8	1,7	1,8	<i>A. alternata</i>
16	171,8	21,8	12,8-29,3	4,44	10,0	6,7-14,2	1,6	2,2	<i>A. astragali</i>
48	195,3	25,8	10,7-54,5	8,54	9,2	7,3-13,2	1,3	2,8	<i>A. brassicicola</i>
28	247,1	27,4	18,9-39,0	4,76	11,6	8,1-16,8	1,9	2,4	<i>A. brassicicola</i>
29	210,6	25,7	15,0-39,5	5,69	11,4	8,0-14,8	1,6	2,3	<i>A. brassicicola</i>
41	239,7	27,9	12,0-54,1	9,50	11,0	7,1-15,5	1,8	2,5	<i>A. brassicicola</i>
43	341,0	29,2	11,7-55,6	8,11	14,9	7,4-29,0	4,6	2,0	<i>A. brassicicola</i>
44	187,0	25,4	12,0-59,0	9,13	9,3	5,3-13,7	1,5	2,7	<i>A. brassicicola</i>
47	170,2	24,1	10,4-56,8	9,73	8,8	4,0-12,9	1,5	2,8	<i>A. brassicicola</i>
39	186,4	24,3	14,0-39,1	5,09	10,4	6,9-15,0	2,0	2,3	<i>A. broccolli-italicae</i>
40	215,2	23,8	15,5-31,6	4,54	11,4	7,3-15,1	1,7	2,1	<i>A. broccolli-italicae</i>
42	269,0	26,4	10,1-58,8	10,77	13,0	7,8-19,6	2,3	2,0	<i>A. broccolli-italicae</i>

15	150,5	22,2	10,4-23,8	2,89	8,0	5,1-10,8	1,3	2,8	A. colombiana
11	207,3	24,7	18,5-34,6	3,82	11,6	8,6-15,9	1,9	2,1	A. daucicalis
23	263,1	26,7	14,8-35,1	4,85	12,4	8,7-16,1	1,8	2,2	A. gaisen
6	253,5	25,9	16,8-37,8	4,30	12,3	7,9-14,7	1,6	2,1	A. gaisen
14	206,5	24,5	16,0-40,4	4,56	11,3	6,9-19,9	1,9	2,2	A. gaisen
30	260,5	26,7	14,6-43,3	5,33	12,7	8,0-17,6	2,3	2,1	A. geophila
13	209,4	23,4	9,8-32,6	4,68	9,2	5,2-11,2	1,5	2,5	A. godetiae
38	160,6	20,9	10,4-57,3	7,46	9,7	6,4-20,7	1,6	2,2	A. infectoria
35	254,9	26,7	12,8-47,9	7,26	12,1	7,1-18,1	2,3	2,2	A. pellucida
8b	209,7	24,2	13,5-46,7	7,38	10,9	7,2-15,3	1,7	2,2	A. pellucida
8c	168,9	19,2	11,2-36,5	4,96	11,1	7,5-15,9	1,7	1,7	A. pellucida
8d	225,9	23,5	11,9-38,3	5,41	12,2	8,2-16,2	1,7	1,9	A. pellucida
8f	201,7	22,0	12,7-31,1	5,03	11,4	8,0-16,4	2,1	1,9	A. pellucida
8g	227,6	23,0	12,6-37,7	5,37	12,5	8,3-16,5	2,1	1,8	A. pellucida
8 ^a	190,1	24,5	8,8-39,7	7,12	10,1	6,3-13,5	1,7	2,4	A. pellucida
8e	195,3	22,9	12,8-38,5	4,65	11,4	7,8-15,4	1,9	2,0	A. pellucida
12	222,7	25,1	15,4-42,9	5,55	11,4	7,8-21,1	2,2	2,2	A. radicina
36	157,5	19,2	11,5-31,5	3,58	11,4	7,9-14,3	1,3	1,7	A. tenuissima
7	240,1	24,8	14,6-40,0	7,12	12,1	8,0-16,3	2,5	2,0	A. tenuissima
219	123,4	18,7	9,4-29,3	5,42	8,2	6,9-10,4	1,0	2,3	Curvularia sp.
20	130,8	16,8	12,4-22,7	3,03	9,9	7,3-12,4	1,3	1,7	Curvularia sp.
21	128,5	15,8	10-3-25,18	4,53	8,3	7,0-11,3	1,2	1,9	Curvularia sp.
22	125,6	17,5	9,7-27-1	4,89	8,5	6,0-12,4	1,5	2,1	Curvularia sp.
2	252,7	31,9	18,0-45,2	9,06	10,4	8,3-13,4	1,7	3,1	Embellisia sp.
1	239,6	35,5	13,2-57,2	9,32	12,7	8,4-15,3	1,5	2,8	Embellisia sp.
5	167,3	17,0	11,4-27,0	2,76	12,4	8,1-16,7	1,8	1,4	Ulocladium oudemansii
7	196,2	18,1	10,4-33,7	3,50	13,7	8,3-17,2	1,8	1,3	Ulocladium sp.



Figura 1. Patrón de esporulación y conidios en *A. alstroemeriae*, Barra = 50 μm .



Figura 2. Patrón de esporulación y conidios en *A. alternata*, Barra = 50 μm .

pueden distribuirse en seis grupos (designados con una letra de acuerdo a las claves de Simmons, 2007). El grupo G fue el más abundante e incluye 22 aislados y siete especies, seguido por el grupo J con catorce aislados y dos especies, y el grupo K con dos aislados y dos especies. Los tres restantes grupos están representados por una única especie (Tabla 1).

Descripción de las especies encontradas

Alternaria alstroemeriae E. G. Simmons & C. F. Hill

Conidios en cadenas cortas de 3-5 unidades, con ocasionales ramas laterales. Conidióforos secundarios

conspicuos, en algunas ocasiones más largos que la longitud de un conidio. Conidios obclavados, ovoides o subcilíndricos, de 10- 80 x 8-15 μm , con 2 a 7 segmentos transversales y 0 a 2 segmentos longitudinales. Algunos de los conidios presentan superficie rugosa y color marrón oscuro. Buena parte de la esporulación aparece sumergida en el sustrato (agar). Colonia de 40 mm de diámetro, de color marrón a verde oliváceo.

Alternaria alternata (Fries) Keissler, Beih

Conidios en cadenas ramificadas, que se originan cerca del ápice del conidióforo primario. Conidióforos secundarios frecuentemente ausentes. Cadenas de 5 a 7

Las características de las colonias, de los conidios y el patrón de esporulación de cada una de las especies encontradas en el estudio, fueron condensadas en descripciones cortas, acompañadas de fotografías de las características microscópicas.



Figura 3. Patrón de esporulación y conidios en *A. alternata*, Barra = 50 μ m

conidios elipsoides, obclavados u ovoides de 11-53x7-15 μ m, con 2-6 septos transversales y 0-3 septos longitudinales. Colonias oscuras verdes o grises, de 45 mm de diámetro, frecuentemente con varios anillos concéntricos.

***Alternaria astragali* Wangeline & E. G. Simmons**

Conidióforos primarios largos y erectos que producen cadenas simples de conidios que generan conidióforos secundarios largos. Cadenas con 3-7 conidios. Ramificaciones ausentes. Conidios ovoides o comúnmente largo elipsoides, los conidios apicales aparecen casi esféricos. Conidios de 13-30 x 7-14 μ m, con 2-5 septos transversales, septos



Figura 4. Patrón de esporulación y conidios en *A. brassicicola*, Barra = 50 μ m

longitudinales, ocasionalmente uno. Colonias verde oliva a marrón oscuro, de 65 mm de diámetro.

***Alternaria brassicicola* (Schw.) Wiltshire**

Conidióforos primarios cortos que originan cadenas ramificadas de entre 5 y 15 conidios. Conidióforos secundarios cortos o ausentes. Conidios ovoides a elipsoides de 10-60 x 7-29 μ m. Los conidios presentan de 2 a 7 septos transversales y 0 a 2 septos longitudinales. Colonias de color verde oscuro en la zona central, verde oliva en la parte media (fuertemente esporulada), y con un halo blanco en el borde, donde solo aparecen hifas, de 45 mm de diámetro.



Figura 5. Patrón de esporulación conidióforo y conidios en *A. broccoliitalicae*, Barra = 50 μ m

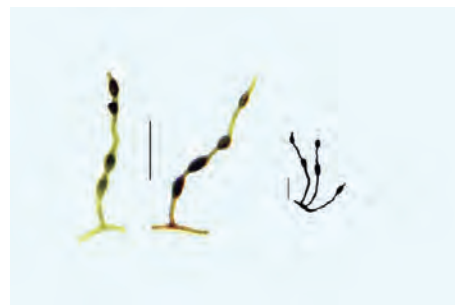


Figura 6. Patrón de esporulación y conidios en *A. colombiana*, Barra = 50 μ m

***Alternaria broccoli-italicae* E. G. Simmons**

Conidióforos primarios cortos, en algunas ocasiones más largos que los conidios y fuertemente retorcidos. Conidióforos secundarios ausentes. Conidios solitarios, en grupos de hasta 3 conidios. Conidios variados, esferoides a elipsoides, los pequeños de 10-25 x 7-10 μm , y subcilíndricos los grandes 30-55 x 10-15 μm , con el ápice redondeado. Septos longitudinales ausentes o 1 en los conidios grandes, de 2 a 8 septos transversales, dependiendo del tamaño del conidio. Colonias verde oliva hasta casi negras, de 45 mm de diámetro.

***Alternaria colombiana* E. G. Simmons**

Conidióforos primarios erectos, conspicuos, de los cuales se originan cadenas lineales de 3-5 conidios, separados por los picos largos filamentosos de los conidios. En algunas ocasiones se generan conidióforos secundarios sobre el conidio apical. Conidios generalmente apretado ovoides o elipsoides, de 10-24 x 5-10 μm , de 4 a 7 septos transversales y 1 o 2 septos longitudinales. Colonias de 70 mm de diámetro.

***Alternaria daucicaulis* E. G. Simmons**

Conidióforos primarios cortos, erectos. Conidióforos secundarios conspicuos y determinantes en el

patrón de esporulación. Pocas ramificaciones, pero siempre presentes. Cadenas de 3-5 conidios, frecuentemente elipsoides, algunas veces ovoides, con una célula apical hialina y roma. Conidios de 20-35 x 9-16 μm , con 3-4 septos transversales y 0-2 septos longitudinales. Colonias de 55 mm de diámetro, con 3 anillos oscuros concéntricos bien marcados.

***Alternaria gaisen* Nagano**

Conidióforos primarios cortos. Conidióforos secundarios ausentes, cadenas no ramificadas de 5-10 conidios, obclavados, ovoides, pero más frecuentemente ancho-elipsoides, carentes de pico. Conidios de 15-40 x 7-20 μm , con 3-5 septos transversales y 0-3 septos longitudinales. Colonias de 60 mm de diámetro, con varios anillos oscuros concéntricos.

***Alternaria geophila* Daszewska, Bull**

Conidióforos primarios cortos que soportan 1 conidio, o cadenas cortas de hasta 4 conidios. Ramificaciones cortas. Conidióforos secundarios ausentes. Conidios de 14-43 x 8-18 μm , ovoides a elipsoides. De 2 a 6 septos transversales, sin septos longitudinales, ocasionalmente 1. Colonias claras con una densa capa de micelio, con poca

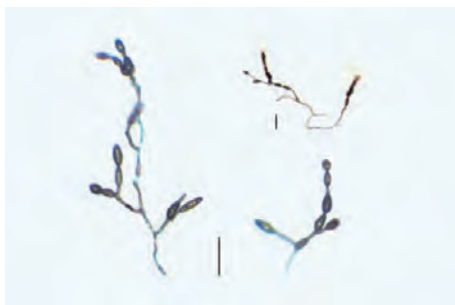


Figura 7. Patrón de esporulación y conidios en *A. alternata*, Barra = 50 μm



Figura 8. Patrón de esporulación y conidios en *A. gaisen*, Barra = 50 μm

El género *Alternaria* posee una gran diversidad morfológica que ha hecho difícil su taxonomía. Sin embargo, conocer mejor el patógeno permite explorar caminos diferentes en términos de su control, de otra manera se mantienen medidas de control y manejo generales que pueden desembocar en uso de estrategias que generan problemas de contaminación, o emergencia de resistencias indeseables.

esporulación, algunos anillos concéntricos un poco más oscuros, de 60 mm de diámetro.

***Alternaria godetiae* (Neerg.) Neerg.**

Conidióforos primarios conspicuos que producen cadenas de hasta 6 conidios, no ramificadas. Conidios de 10-30 x 5-10 µm, elipsoides o estrecho-ovoides. Conidios con 3-7 septos transversales y sin septos longitudinales, ocasionalmente 1 o 2. Conidióforos secundarios ausentes. Colonias de 60 mm de diámetro, con varios anillos concéntricos bien definidos.

***Alternaria infectoria* E. G. Simmons**

Conidióforos primarios conspicuos, frecuentemente más largos que la longitud de un conidio, dan origen a 1 o 2 conidios que forman cadenas lineales de hasta diez unidades, frecuentemente más cortas y ramificadas. Conidióforos secundarios ocasionalmente presentes y de variada longitud. Conidios alargados, apretado-ovoides o estrecho-elipsoides, de 10-57 x 6-20 µm. Dependiendo del tamaño del conidio aparecen de 3 a 8 septos transversales y 0 a 3 septos longitudinales. Colonias de 55 mm de diámetro con una densa capa de



Figura 9. Patrón de esporulación y conidios en *A. geophila*, Barra = 50 µm



Figura 10. Patrón de esporulación y conidios en *A. godetiae*, Barra = 50 µm



Figura 11. Patrón de esporulación y conidios en *A. infectoria*, Barra = 50 μ m



Figura 12. Patrón de esporulación, conidióforo y conidios en *A. pellucida*, Barra = 50 μ m

micelio, la esporulación es pobre y se concentra en dos anillos concéntricos más oscuros.

Alternaria pellucida E. G. Simmons

Conidióforos primarios cortos, erectos. Conidióforos secundarios ausentes. Cadenas no ramificadas de 5- 12 conidios. Conidios ovoides, frecuentemente ancho elipsoide. Conidios de 11-50 x 7-18 μ m, presentan 3-6 septos transversales y 1-2 septos longitudinales. Algunos conidios con la pared

rugosa. Colonias de 75 mm de diámetro, con varios anillos concéntricos.

Alternaria radicina Meier, Drechsler & Eddy

Conidióforos primarios erectos, que pueden ramificarse y originan grupos de conidios en los ápices. Conidios variados, algunos, relativamente largos, elipsoides, largo elipsoides, hasta subcilíndricos, con 5 a 7 septos transversales y 1 o 2 septos longitudinales, otros cortos, ovoides obovoides a casi esferoides, con

Por último, en trabajo se muestra como, a través del uso de la información morfológica, se puede generar una clave de uso regional para identificar las especies de este hongo que esperamos sea de utilidad entre los responsables de laboratorios de diagnóstico en la Sabana de Bogotá.



Figura 13. Patrón de esporulación, conidióforo y conidios en *A. radicina*, Barra = 50 μ m



Figura 14. Patrón de esporulación y conidios en *A. tenuissima*, Barra = 50 μ m

2 a 4 septos transversales y 1 o 2 longitudinales. Conidios largos 25-45 x 10-20 μ m, conidios cortos 15-25 x 7-15 μ m. Algunos de los conidios presentan la pared rugosa. Colonias de 40 mm de diámetro.

***Alternaria tenuissima* (Ness & T. Ness : Fr.)
Wiltshire**

Conidióforos primarios cortos. Cadenas de 5-15 conidios, algunas veces con una ramificación corta, originada en los conidios. Conidios ovoides o elipsoides, frecuentemente con 4 septos transversales y 1 longitudinal, conidios maduros más grandes, estrecho-ovoides, hasta 7 septos longitudinales y 3 transversales. Algunos conidios presentan un picocónico de 2 a 3 células de largo. Conidios de 11-40 x 8-16 μ m, algunas veces con la pared rugosa. Colonias de 70 mm de diámetro.

CONCLUSIONES

El género *Alternaria* posee una gran diversidad morfológica que ha hecho difícil su taxonomía. Sin embargo, conocer mejor el patógeno permite

explorar caminos diferentes en términos de su control, de otra manera se mantienen medidas de control y manejo generales que pueden desembocar en uso de estrategias que generan problemas de contaminación, o emergencia de resistencias indeseables. Por otra parte, el poder hacer una determinación de las especies de un género en una zona geográfica, nos acerca al conocimiento de la diversidad en esa zona. Por último, en trabajo se muestra como, a través del uso de la información morfológica, se puede generar una clave de uso regional para identificar las especies de este hongo que esperamos sea de utilidad entre los responsables de laboratorios de diagnóstico en la Sabana de Bogotá.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. Silvia Restrepo la lectura crítica de este trabajo y sus observaciones acertadas. Este trabajo fue financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad Militar Nueva Granada, proyecto CIAS-940, a la cual agradecemos su apoyo financiero.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aly, A., Edrada-Ebel, R., Indriani, I., Wray, V., Müller, F., Totzke, F., Zirrgiebel, U., Schächtele, C., Kubbutat, M., Lin, W., Proksch, P., Ebel, R. 2008. Cytotoxic Metabolites from the Fungal Endophyte *Alternaria* sp. and Their Subsequent Detection in Its Host Plant *Polygonum senegalense*. *Journal of Natural Products* 71:972-980
2. Agrios GN. 2005. *Plant Pathology*. 5th. Ed. Elsevier Academic Publisher, California, 922 p.
3. Andersen, B., Kroger, E., Roberts, R. 2001. Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *A. gaisen*, and *A. longipes*. *Mycological Research* 105:291-299.
4. Andrew, M., Peever, T., Pryor, B. 2009. An expanded multilocus phylogeny does not resolve morphological species within the small-spored *Alternaria* species complex. *Mycologia* 101:95-109.
5. Barkai-Golan, R. 2008. *Alternaria* mycotoxins. P. 185-203. En: Barkai-Golan, R. Nachman P (Eds.). *Mycotoxins in fruits and vegetables*. Ed. Academic Press, San Diego, 395 p.
6. Barreto, J., Aguirre, M., Caicedo, A., Miranda, D., Echeverri, L., Campos, Y. 2002. El cultivo del tomate tipo milano, pimentón, maíz dulce y frijol en el sistema de siembra de camas plastificadas bajo las condiciones agroecológicas de la meseta de Ibagué. Editorial El Poirá, Ibagué, 49 p.
7. Castro, B., Timmer, L., Muller, G. 2000. Enfermedades de los cítricos en Colombia. Bogotá, Produmedios, 101 p.
8. Chou, W., Wu, W. 2002. Phylogenetic analysis of internal transcribed spacer regions of the genus *Alternaria*, and the significance of filament-beaked conidia. *Mycological Research*, 106:164-169.
9. Cline, E., Farr, D., Rossman, A., Palm, M., McCray, E. Fungal Nomenclature Database, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. <http://nt.ars-grin.gov/fungalDATABASES/nomen/Nomenclature.cfm>, consulta Enero de 2014
10. Ellis, M. (1971). *Dematiaceous Hyphomycetes*. CMI, Kew, Surrey, England, 608 p.

11. Ellis, M. (1976). More Dematiaceous Hyphomycetes. CMI, Kew. Surrey, England, 507 p.
12. Farr, D., Rossman, A. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> consulta Julio de 2013
13. Joly, P. 1964. Le Genre *Alternaria*. Encyclopédie Mycologique, Paul Lechevalier, éditeur. Paris 250 p.
14. Kaur, T., Sharma, D., Kaur, A., Manhas, R. 2013. Antagonistic and plant growth promoting activities of endophytic and soil actinomycetes. Archives Of Phytopathology And Plant Protection 46:1756-1768.
15. Kirk, P., Cannon, P., Minter, D., Stalpers, J. 2008. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. 10th ed. CABI International. Wallingford, UK, 771 p.
16. Lahlali, R., Hijri, M. 2010. Screening, identification and evaluation of potential biocontrol fungal endophytes against *Rhizoctonia solani* AG3 on potato plants. FEMS Microbiology Letters 311:152-159.
17. Lantigua, P., Martinez, C., Pons-Kühnemann, J., Pérez, M. 2008. Grupos intraespecíficos de *Alternaria solani* de tomate y papa. Fitopatología Venezolana 21:44-50
18. Neergaard, P. 1945. Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium*. Oxford University Press, Copenhagen, Denmark, 560p.
19. Orjuela, J. 1965. Índice de las enfermedades de las plantas cultivadas en Colombia. Boletín técnico 11. Instituto Colombiano Agropecuario, Bogotá, 66 p.
20. Ostry, V. 2008. *Alternaria* mycotoxins: An overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. World Mycotoxin 1: 175-188
21. Pitt, J., Hocking, A. 1997. Fungi and food spoilage. 2nd edn. Blackie Academic and Professional, London, 519 p.
22. Pryor, B., Bigelow, D. 2003. Molecular characterization of *Embellisia* and *Nimbya* species and their relationship to *Alternaria*, *Ulocladium*, and *Stemphylium*. Mycologia 95:1139-1152.

23. Pryor, B., Gilbertson, R. 2000. Molecular phylogenetic relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences. *Mycological Research* 104: 1312–1321.
24. Roberts, R., Reymond, S., Andersen, B. 2000. RAPD fragment pattern analysis and morphological segregation of smallspored *Alternaria* species and species groups. *Mycological Research* 104:151-160.
25. Rotem, J. 1994. The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology and Pathogenicity. APS press, St Paul, MN, USA, 326 p.
26. Simmons, E. 1992. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge. p. 1–35. En: Chelkowski J. y Visconti A. (Eds). *Alternaria* Biology, Plant Diseases and Metabolites. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Netherlands, 573 p.
27. Simmons, E. 1993. *Alternaria* themes and variations (54-62). *Mycotaxon* 46:171-199.
28. Simmons, E. 1997. *Alternaria* Themes and Variations (151-223). *Mycotaxon* 65:1-91.
29. Simmons, E. 1999. *Alternaria* Themes and Variations (236-243). Host specific toxins producers. *Mycotaxon* 70:325-369.
30. Simmons, E. 2007. *Alternaria*. An Identification Manual. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Netherlands, 780 p.
31. Simmons, E, Roberts R. 1993. *Alternaria* themes and variations (73). *Mycotaxon* 48:109-140.
32. Sun, X., Zhang, T. 2008. Morphological and molecular characterization of *Alternaria* isolates on fruits of *Pyrus bretschneideri* Rehd. "Ya Li". *Mycosystema* 27:105-117.
33. Woudenberg, J., Groenewald, J., Binder, M., Crous, P. 2013. *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology* 75:171-212.
34. Zapata, J., Saldarriaga, A., Londoño, M., Díaz, C. 2002. Manejo del cultivo de la uchuva en Colombia. Boletín Técnico 14. Centro de Investigación La Selva, Corpoica. Rionegro, Antioquia, 41 p.
35. Zhang, T. 2003. *Alternaria*, Flora Fungorum Sinicorum. Vol. 16. Science Press, Beijing, 283 p.
36. Zubieta, D, Alarcón P. 1974. Evaluación de las enfermedades del pimentón (*Capsicum annum* L.) en el Valle del Cauca, Colombia. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, 157 p.

