

DETERMINACIÓN DEL AGENTE CAUSANTE DE LA MANCHA CENIZA DEL MOTILÓN SILVESTRE (*Freziera canescens*)

DETERMINATION OF THE CAUSAL AGENT OF THE ASH SPOT OF THE (*Freziera canescens*)

María Fernanda Vallejo B.¹, Yair Prado L.,¹ Carlos Betancourth G.,²
Luis Alfredo Molina³, Claudia Salazar González⁴

Fecha de recepción: Junio 10 de 2011

Fecha de aceptación: Noviembre 15 de 2011

RESUMEN

En los corregimientos de San Fernando, La Laguna y Daza (Pasto), ubicados a una altura entre los 2.600 y 3.000 msnm. se observó una mancha foliar afectando al motilón silvestre (*Freziera canescens*); caracterizada por tener una forma circular con centro blanco, puntos negros y un halo necrótico que se extiende en el área foliar ocasionando con el tiempo un color rojizo y en su etapa final se torna de color café y causa defoliación del árbol. Las observaciones de campo indican que la enfermedad está ampliamente distribuida. El objetivo de este trabajo fue determinar el agente causante de la enfermedad; para ello se colectaron muestras de tejidos necróticos presentes en la hojas de las plantas afectadas en campo, se realizaron los correspondientes cultivos en PDA en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Nariño, lográndose aislar dos tipos de colonias, la primera se caracterizó por ser algodonosa de color blanco, con centro color amarillo o salmón y envés negro, en el centro con halos amarillo y blanco al extremo, y la segunda de aspecto algodonoso, de color blanco con centro gris. En examen al microscopio se observaron picnidios

¹ Ingenieros Agroforestales. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño. Grupo de Investigación de Sanidad Vegetal. mafevalle11@hotmail.com-pradoyes 2002@yahoo.com.

² Profesor Asociado. I.A. M.Sc Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño. Grupo de Investigación de Sanidad Vegetal. cbet70@yahoo.com

³ Profesor Jubilado. I.A. M.Sc Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño. Grupo de Investigación de Sanidad Vegetal.

⁴ Profesora Asistente I.A. M.Sc Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño. Grupo de Investigación de Sanidad Vegetal. claudiasalazarg@yahoo.com

con conidias alargadas y delgadas, estructuras que corresponden al género *Septoria*. Las pruebas de patogenicidad, con plantas de motilón de siete meses de edad, a una concentración de 1×10^5 conidias. ml^{-1} , permitieron la recuperación de síntomas similares a los observados en campo, lo que comprueba que *Septoria sp.* es el causante de la viruela o mancha ceniza del motilón.

Palabras clave: Etiología, viruela, *Septoria sp.*

ABSTRACT

In La Laguna and Daza small towns Pasto – municipality, placed from 2.600 to 3.000 masl on *Freziera canescens* have been appearing alterations characterized by circular foliar spots with a white center, black eminent points and a necrotic halo that spreads over the whole foliar area causing with time a reddish color, in its final stage turns into a brown color and later the tree defoliation. Field observations indicate a wide distribution of the disease. The objective of this investigation was to determine the causal agent of the disease; for it, samples of necrotic tissues present in the affected plants leaves in field were collected. The corresponding PDA cultures were realized in the microbiology laboratory of the Nariño University, achieving to isolate two kind of colonies. The first one was characterized by being cottony of white color with yellow or salmon – pink center and black back, in the center with yellow haloes and white at the edge, and the second one of white color and gray center and cottony aspect. Also at microscope observations were found pycnidiums, with thin and elongated conidias structures characteristics of *Septoria* genus. The pathogenicity test with plants of seven months of age, to a concentration of 1×10^5 conidias. ml^{-1} , they allowed the recovery of similar field symptoms, which it verifies that *Septoria sp.* is the motilón (*Freziera canescens*) ash spot causal agent.

Key Words: Etiology, ash spot, *Septoria sp.*

INTRODUCCIÓN

El Motilón silvestre es una especie forestal que pertenece a la Clase Dicotiledóneas, Orden Theales, Familia Theaceae. El género *Freziera* presenta ramas en zig-zag con abundantes tricomas color café o dorado, hojas alternas, elípticas o lanceoladas de 10 a 20 cm de longitud, borde liso o dentado, base cuneada y ápice acuminado, envés aterciopelado, haz glabro de color verde. Flores solitarias o en fascículos axilares, 2 brácteas basales sepaloideas. Sépalos con margen ci-

liada, fruto en baya con sépalos persistentes. Es un árbol que mide entre 6 a 15 m de altura y un D.A.P. entre 40 y 50 cm. (Mendoza y Ramírez, 2000; Peñafiel y Unigarro, 2006).

Especies leñosas como el motilón silvestre (*Freziera sp.*) logran establecerse por regeneración natural en trópicos de altura; en el Departamento de Nariño, por ejemplo, han sido utilizadas por las comunidades rurales, durante muchos años bajo diferentes modalidades como: material dendroenergético, delimitación

de linderos, protección de fuentes hídricas y construcción (Peñañiel y Unigarro, 2006). Últimamente ha tomado una especial importancia, el uso de esta especie forestal asociada a otras especies como: Mayo o Siete Cueros *Tibuichina sp.*, Amarillo *Nectandra sp.*, Arrayán *Myrtus sp.*, Motilón Dulce *Hyeronima columbiensis*, Cancho *Brumelia sp.* y Encino *Weinmannia pubescens.*, su fruto sirve como alimento a la avifauna, su follaje es utilizado en la parte medicinal, convirtiéndose así en una especie de importancia ambiental y ecológica (Peñañiel y Unigarro, 2006).

Cabrera y Mosquera 2008, realizaron estudios para estimar la cantidad biomasa aérea y carbono presente en árboles de motilón silvestre *F. canescens* dispersos en potreros.

Según Castelblanco y Palacios 2008, el estudio de las especies *F. canescens* y *F. suberosa*, pertenecientes al trópico de altura permitieron obtener las bases en cuanto a germinación, emergencia y viabilidad de estas semillas y ponen en evidencia el poco interés que existe en el estudio de especies nativas, ya que no existen suficientes ensayos que proporcione parámetros de comparación.

Se encontró infección de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) en árboles del bosque secundario, árboles dispersos en potrero y linderos; los géneros identificados son: *Glomus*, *Acaulospora* y *Gigaspora*. (Ordoñez *et al.*, 2009).

Muñoz (2008), identificó los siguientes géneros: *Glomus*, *Acaulospora* y *Gigaspora*, el género *Glomus* se presenta en la rizósfera de todas las especies de *Freziera* y en cada una de las modalidades de crecimiento, al igual que el género *Acaulospora*. El género *Gigaspora* se

encontró en bosque secundario asociadas a las especies *F. candicans* y *F. canescens*; en árboles dispersos en potrero se encontró en *F. reticulata* y *F. nervosa* y en lindero se presentó en *F. canescens* y *F. nervosa*.

Sin embargo, los estudios orientados para conocer lo relacionado a la parte sanitaria no se han abordado.

En el Departamento de Nariño, el mayor problema que presenta *F. canescens*, es la disminución de sus individuos debido a problemas fitosanitarios que atacan las diferentes partes del árbol presentando síntomas como: manchas foliares, defoliación, secamiento, como los más visibles, muchos de los cuales son hasta el momento de etiología desconocida, ya que no se han desarrollado investigaciones para su determinación y control.

La presente investigación estuvo encaminada a determinar el agente causante de la enfermedad conocida por los agricultores como mancha ceniza, para lo cual se desarrollaron trabajos tanto en campo como en laboratorio, utilizando herramientas tecnológicas que permitieron cumplir con el objetivo de la investigación, describiendo los síntomas y la incidencia en esta zona; ofreciendo la posibilidad de hacer un aporte al conocimiento del estado sanitario de *F. canescens*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la Universidad de Nariño, con una altura de 2488 msnm, latitud 1° 14' 13" Norte, longitud 77° 17' 7" Oeste, en condiciones de laboratorio con una temperatura promedio de 14°C y una humedad relativa de 70%; e invernadero con una temperatura promedio de 18°C.

Recolección de muestras. Las muestras de hojas se recolectaron en el Centro Ambiental Chimayoy, que se encuentra ubicado a 4 km de la ciudad de Pasto, a una altura de 2.860 msnm con una temperatura de 12°C, con coordenadas 1°15' de latitud norte y 77°20' de longitud oeste Greenwich. Presenta un relieve ondulado, los suelos están formados a partir de cenizas volcánicas, el área donde se encuentra distribuida la especie Motilón silvestre, es de 10 ha. (CORPONARIÑO, 2007).

Las muestras fueron tomadas de ejemplares que presentaban gran cantidad de hojas amarillas con manchas caracterizadas por tener una forma circular con centro blanco, puntos negros y un halo necrótico que se extiende en el área foliar ocasionando un color rojizo, en su etapa final produce un color café que progresa a una defoliación del árbol, se envolvieron cuidadosamente en papel periódico, se rotularon con los datos de recolección como: fecha, parte del árbol, tipo de síntoma y zona de recolección, se almacenaron en bolsas plásticas y se llevaron al Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Nariño.

Determinación de incidencia. En el Centro Ambiental Chimayoy, en cada sitio muestreado se realizaron recorridos en zig - zag. Para determinar el porcentaje de incidencia, se utilizó la fórmula de Van DerPlank, (1963).

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{Número de plantas muestreadas}}{\text{Número de plantas afectadas}} \times 100$$

El área total, en la cual se encuentra distribuida la especie es de 10 ha, de las que se tomó una planta cada 25 m, en total fueron 220 plantas muestreadas.

Aislamiento. Las muestras se cortaron en trozos pequeños, de 0.5cm de longitud, teniendo en cuenta en dejar parte sana y parte enferma, se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 3% y se enjuagaron en agua destilada estéril durante 1 minuto cada vez, luego se colocaron sobre papel absorbente para retirar el exceso de agua.

Después de esto se procedió a realizar la siembra en cajas de Petri con PDA, con ayuda de una pinza estéril, en presencia de mechero y en cámara de flujo laminar tipo I para evitar la contaminación y se realizó la incubación a 20°C. (Agrios, 2005).

Purificación. Cuando se observó la aparición de las primeras colonias, se procedió a repicar cada una de ellas en el mismo medio de cultivo para realizar la purificación (Agrios, 2005).

Identificación. A partir de las colonias en PDA, después de purificarlas, se tomó una parte de micelio, con asas, previamente esterilizadas al mechero, se depositaron en porta objetos, a los cuales se les había adicionado una gota de azul de lactofenol; y se procedió a realizar la observación en el microscopio con el objetivo de 40X, para así describir sus estructuras y poder identificarlo.

A partir del tejido, se realizó también, un montaje tomando directamente tejido vegetal afectado, para ello se utilizó un Micrótomo de marca Olympus del Laboratorio de Fisiología Animal de la Universidad de Nariño. En primer lugar se derritió parafina en una estufa hasta quedar líquida, se llevó a moldes plásticos de forma cuadrada, se introdujo el tejido de 0.5mm y finalmente se selló con anillos propios para formar el molde; llevándolo posteriormente a la nevera durante 15 minutos.

Antes de iniciar el proceso de corte (a 10 micras), se tomó el molde, se quitó el anillo y se retiró la parafina en exceso y se montó al micrótopo, una vez apareció el tejido, se llevó a baño de flotación, con el fin de que la parafina que se encontraba en el tejido se derrita y éste se expanda (Marti, 2002). Finalmente, se tomó el tejido en una lámina portaobjetos y se procedió a observar al microscopio con el objetivo de 40 x (Marti, 2002).

Se usaron los criterios taxonómicos propuestos por (Alexopoulos *et al.*, 1.996; Sañudo *et al.*, 2001), donde se tuvo en cuenta la presencia del cuerpo del hongo (micelio) y estructuras reproductivas (esporas y cuerpos fructíferos).

Pruebas de Patogenicidad

Material vegetal. La investigación se realizó con 150 plántulas producidas por regeneración natural, utilizando sustrato natural extraído del sitio de recolección en campo, se embolsaron en el vivero de la granja Experimental Botana de la Universidad de Nariño, ubicada en el municipio de pasto, a una altura de 2820 msnm, con una temperatura media anual de 12°C y una precipitación media anual de 694 mm (IDEAM, 2002). Se trasladaron al invernadero de la Universidad de Nariño, a los 8 meses de edad con una altura de 20 cm.

Inóculo. Obtenidas las colonias puras, se realizó un lavado micelial de cada cepa contenida en una caja Petri, para la obtención del inóculo, que consistió en adicionar 10ml de agua destilada a las colonias, frotando con un policia de vidrio, evitando la ruptura del medio de cultivo, repitiendo esta operación hasta homogenizar la solución, se procedió a filtrar y a mezclar

en 180ml de agua destilada, Se empleó como inóculo suspensiones acuosas de conidias a partir de placas esporuladas. La concentración a la que se ajustó la suspensión fue de 1×10^5 conidias/mL (Eyal *et al.*, 1987).

Inoculación. La aplicación de los 200 mL de inóculo se realizó mediante aspersión, utilizando 5 mL de inóculo en cada planta. Se inocularon 30 plantas, por cada cepa y se dejaron 10 plantas testigo.

Tras la inoculación, las plantas, se mantuvieron durante 15 días, en un ambiente saturado de humedad al interior de bolsas de plástico cerradas, a una temperatura entre los 18 y 30°C, para facilitar los procesos de desarrollo de la enfermedad.

Evaluación de los síntomas. Semanalmente se evaluaron los síntomas en cada planta inoculada, observando la apariencia de la hoja en comparación con el testigo.

Incidencia en Invernadero

Para determinar el porcentaje de incidencia en invernadero, se utilizó la fórmula de Van Der Plank (1963).

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{Número de plantas con síntomas}}{\text{Número de plantas inoculadas}} \times 100$$

Reaislamiento. Una vez reproducidos los síntomas en condiciones de invernadero se hizo reaislamiento del patógeno para su posterior identificación y cumplimiento de los postulados de Koch (Castaño, 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Incidencia en campo. El porcentaje de incidencia en promedio, de la enfermedad se estima en un 95% del área muestreada. La mancha ceniza es una necrosis foliar ampliamente distribuida en el motilón silvestre, lo que corresponde con la gran distribución de la enfermedad.

En todos los lugares visitados, se pudieron observar plantas severamente afectadas por la enfermedad. Los ejemplares afectados no presentan una distribución homogénea en campo, esto puede ser atribuido a la diferencia de susceptibilidad entre plantas. La elevada incidencia y severidad de la enfermedad podría estar relacionada con las intensas lluvias, ya que la lluvia es el principal medio de diseminación del inóculo de los hongos causantes de necrosis foliares (Agrios, 2005). Esta circunstancia ha quedado puesta de manifiesto por la elevada incidencia que presentó este tipo de enfermedad.

Las plantas de motilón silvestre observadas en el Centro Ambiental Chimayoy presentaban, en general, defoliación, un alto número de hojas cloróticas con manchas, hojas verdes con lesiones, presentando una mancha de forma circular de color blanco, con puntos negros en toda la superficie.

En una misma zona se podía encontrar plantas de motilón silvestre severamente afectadas y próximas a ellas otras plantas que sólo tenían algunas hojas afectadas. Las lesiones que presentaban las hojas verdes tenían tamaños que oscilaban entre 1- 4 mm de diámetro, éstas comenzaban siendo pequeños puntos rojos que, al ir evolucionando la enfermedad, aumentaban en tamaño y se volvían de color negro con el centro grisáceo y rodeadas por un halo

rojizo. Estas manchas de contornos irregulares se encontraban repartidas por toda la superficie foliar y afectaban tanto la haz como el envés. La Fig.1, indica como la enfermedad está ampliamente distribuida en campo.



Figura. 1. Plantas de motilón severamente afectadas, tanto la haz como el envés. Comienzo de la defoliación, Síntomas en campo.

Las manchas cenizas sólo se observaban en las hojas del motilón silvestre, mientras que otras especies acompañantes, como encinos, fragua, alisos, y otros matorrales, no mostraban este tipo de síntoma. Esto es debido a la posible especificidad de huésped que muestran las especies del género *Septoria*, aunque esta especificidad todavía no ha sido bien estudiada.

La mancha ceniza es una necrosis foliar ampliamente distribuida también en los madroños de Andalucía, España, lo que se corresponde con la amplia distribución de la enfermedad. En esta especie forestal. Las manchas sólo se observaban en las hojas de los madroños, mientras que otras especies acompañantes, como encinas, alcornoques, jaras y otros matorrales, no muestran este tipo de síntoma. (Romero y Trapero, 1999).

Aislamiento y purificación. Después de efectuada la siembra, se realizaron las observaciones durante ocho días, periodo en el cual, aparecieron las primeras colonias del patógeno.

Cinco días más tarde, las colonias habían crecido y tenían un diámetro de 3 a 4 cm y se reprodujeron por medio de repiques de cada una de las

colonias, en el mismo medio de cultivo, para su purificación.

Se lograron aislar dos tipos de colonias fúngicas, caracterizada la primera por ser algodonosa de color blanco, con centro color amarillo o salmón y envés negro en el centro con halos amarillo y blanco al extremo, el micelio forma anillo alrededor y la segunda de aspecto algodonoso, de color blanco con centro gris, se observó un crecimiento radial; su envés es de color crema con manchas negras y borde blanco, el micelio en forma de estrella, tal como se muestra en la Fig.2.

Las muestras de hojas, procedentes de las diferentes zonas de estudio. Las colonias tenían formas redondeadas, con bordes lisos o algo irregulares, de color negro entremezclándose con hifas de color blanco algodonosas.

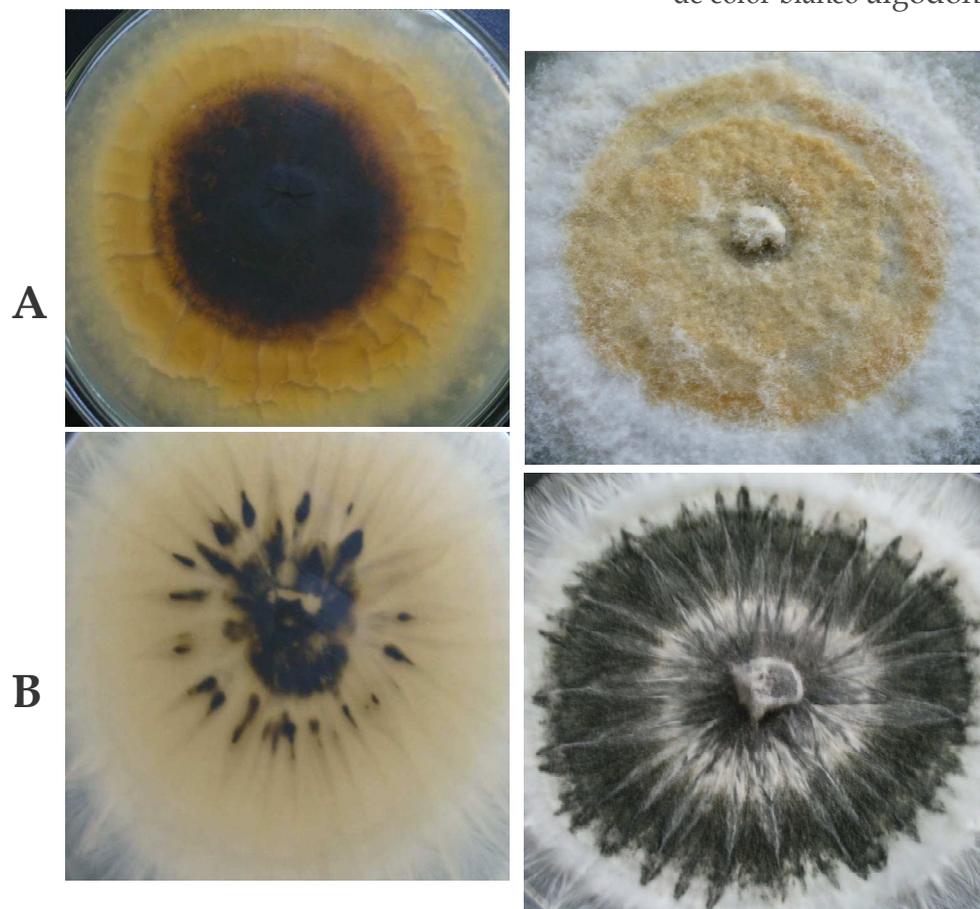


Figura. 2 Características macroscópicas de los aislamientos. Colonias de los aislados, creciendo en PDA. Se puede observar la alta presencia de micelio blanco algodonoso.

A. Primer aislamiento micelio de color blanco, con centro color amarillo o salmón.

B. Segundo aislamiento crecimiento en anillos intercalados gris-blanco negro-blanco.

Estructura del hongo. Al realizar los montajes microscópicos con azul de lactofenol; en las dos colonias se observaron las mismas estructuras; hifas verticiladas septadas.

Los síntomas característicos de la enfermedad ocasionada por el patógeno *Septoria sp.* son: clorosis, caracterizada por tener una forma circular con centro blanco, puntos negros y un halo necrótico que se extiende en el área foliar ocasionando un color rojizo, en su etapa final es de color café que causa defoliación del árbol. Después haber realizado los cortes histológicos, utilizando el micrótopo en la Fig.3, se observa la presencia de picnidios con conidi-

dias alargadas hialinas, ligeramente curvadas y septadas.

De acuerdo con las características encontradas en la Fig.4, las dos colonias, pertenecen al género *Septoria* el cual presenta picnidios típicos, errupentes, con conidióforos cortos y conidias hialinas, elongadas a filiformes y multiseptadas. Parásito de plantas superiores (Sañudo *et al.*, 2001). Perteneciente a la clase Coelomycetes, Orden Sphaeropsidales, Familia Sphaeropsidaceae, produce conidias dentro de picnidios, las cuales son alargadas y delgadas, con uno o más septos, generalmente curvadas y siempre hialinas o verdosas (Alexopoulos *et al.*, 1996).



Figura 3. Características microscópicas de los aislados. A primer aislado Se pueden apreciar varias septas transversales en la conidia, B picnidios

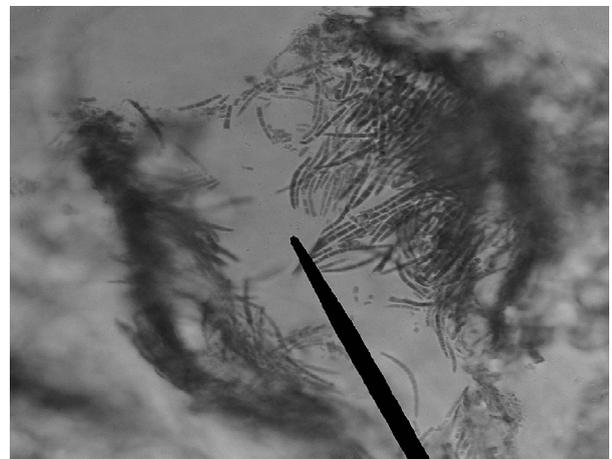
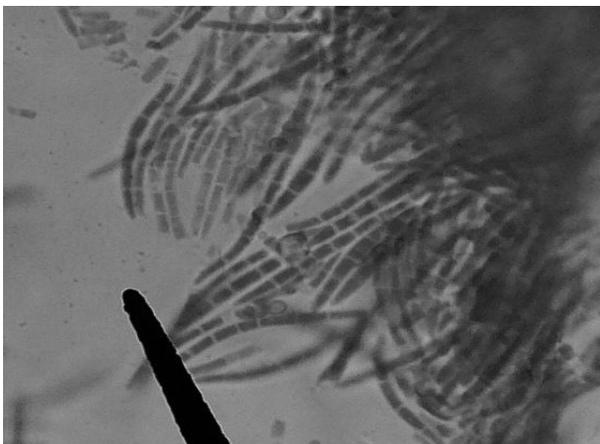


Figura 4 Se observa en la parte externa, las paredes de picnidio, mostrando las conidias, hialinas, alargadas, septadas, curvas.

Periodo de incubación. En seis semanas se presentaron los síntomas de la enfermedad mostrando manchas foliares iguales a las observadas en campo.

Las treinta plantas inoculadas por aspersión, presentaron los mismos síntomas, observados en campo. Cabe destacar el largo periodo que transcurrió desde la realización de las inoculaciones hasta que se manifestaron los primeros síntomas. En las plantas inoculadas, la enfermedad inició después de un mes presentando manchas blancas, con un anillo clorótico y puntos rojizos en el centro, la cual se extiende afectando el tejido total de la hoja, posterior secamiento, defoliación descendente. Cuando la infección avanzó, las manchas no superaban 4 mm de diámetro y eran muy numerosas. En un principio se mostraron blancas luego las manchas eran totalmente negras rodeadas de un halo rojizo, como se muestra en la Fig. 5.

La enfermedad avanzó hasta la defoliación de las plantas, que posteriormente presentaban nuevos brotes, generando un desgaste fisiológico y metabólico en la recuperación de tejidos.



Incidencia en invernadero. El porcentaje de incidencia en promedio, de la enfermedad se estima en un 100 % de las plantas inoculadas.

Reaislamiento. Se obtuvo el mismo tipo de colonia y las mismas estructuras de *Septoria sp.* en los tejidos afectados de las plantas inoculadas, lo cual permitió confirmar que este hongo es el patógeno causante de la mancha ceniza del motilón silvestre, como ya indicaban las observaciones de campo, llegando así al cumplimiento de los postulados de Koch.

Las características distintivas de la mancha ceniza descritas sobre las hojas de motilón silvestre, así como las estructuras fúngicas asociadas a las lesiones necróticas, identificadas como picnidios, y las observaciones macro y microscópicas de las colonias obtenidas a partir de los aislamientos de las lesiones, permitió identificar al agente causal como *Septoria*, especie mitosporica descrita por primera vez en 1847 (Moore, 1959).

Este trabajo constituye la primera descripción de *Septoria sp.* como patógeno del motilón silvestre *Freziera canescens* en el Departamento de Nariño, Colombia.



Figura. 5. Detalle de las manchas necróticas en plantas inoculadas. Hojas cloróticas de plantas inoculadas. Se puede observar que las manchas se encuentran distribuidas por todo el limbo foliar.

CONCLUSIÓN

El agente causante de la mancha ceniza del motilón silvestre *Freziera canensces*, en el Departamento de Nariño es *Septoria sp*, según la metodología planteada en esta investigación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Grupo de Investigación de Sanidad Vegetal de la Universidad de Nariño.

BIBLIOGRAFÍA

- ALEXOPOULOS, C. J, MIMS, C.W. & BLACKWELL M. 1996. Introductory Mycology, John Wiley & Sons Inc., Fourth Edition, 869p.
- AGRIOS, G. 2005. Plant pathology. 5th ed. Amsterdam, Neederlands. Elsevier Academic Press publications. 952p.
- CABRERA A, y MOSQUERA J. 2008. Estimación de la biomasa aérea y captura de carbono en árboles dispersos en potreros con motilón silvestre *Freziera canescens* en el municipio de Pasto. Departamento de Nariño. Tesis Ingeniero Agroforestal Universidad de Nariño, Pasto Colombia. 71p.
- CASTAÑO, J. 1998. Prácticas de laboratorio de fitopatología. Editores Héctor Barleta y Darlen Matuta, Universidad de Caldas. Manizales, Caldas. 103p.
- CASTELBLANCO, M., y PALACIOS, E. 2008. Evaluación de siete tratamientos pregerminativos en semillas de dos especies de motilón silvestre en el municipio de Pasto. Departamento de Nariño. Tesis Ingeniero Agroforestal Universidad de Nariño, Pasto - Colombia. 83p.
- CORPONARIÑO. 2007. Oficina de Intervención y Sustentabilidad Ambiental.
- CORPONARIÑO. 2006. PLAN DE LA BIODIVERSIDAD, Departamento de Nariño. CURTIS, P. 1995. Microtecnia Vegetal. Trillas. México.
- EYAL, Z., SCHAREN, A. L., PRESCOTT y VAN GINKEL, J. M. 1987. Enfermedades del trigo causadas por *Septoria*. Conceptos y métodos relacionados con el manejo de estas enfermedades. México D. F. 15p.
- INSTITUTO DE HIDROLOGIA, METEOROLOGIA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. 2002. Reporte técnico estación meteorológica Botana. Pasto, Nariño.
- MENDOZA, H, y RAMIREZ, B. 2000. Plantas con flores de la planada. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos. Alexander Bonhumbolt. Fundación para la Educación Superior, Fondo Mundial para la Naturaleza. Guía Ilustrada de Familias y Géneros. Santa Fe de Bogotá. 147p.
- MARTÍ, P. 2002. Guía de laboratorio uso cortes histológicos. Disponible en: www.everyoneweb.es/pemarsi/index.aspx?webid=pemarsi&BoomID=B1&KnooppuntID=K461 - 196k. 2006. Consulta: Febrero de 2011.
- MOORE, W.C. 1959. British Parasitic fungi. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. 430p.
- MUÑOZ, D. 2008. Identificación de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) en

cuatro especies de motilón silvestre (*Freziera* sp) en el municipio de Pasto. Departamento de Nariño. Tesis Ingeniero Agroforestal, Universidad de Nariño, Pasto Colombia. 65p.

ORDOÑES, H., BALLESTEROS, W., LAGOS, T. 2008. En memoria Seminario Internacional de Agroforestería; Construyendo el Pensamiento Agroforestal Tropical. Avances en el conocimiento del motilón silvestre (*Freziera* spp H&B), En la cuenca alta del río Pasto.

PEÑAFIEL, J., y UNIGARRO, E. 2006. Determinación de la variabilidad, distribución y manejo del motilón silvestre (*Freziera* sp.) en la cuenca alta del río Pasto, municipio de Pasto. Departamento de Nariño. Tesis ingeniero Agroforestal Universidad de Nariño, Pasto - Colombia. 92p.

ROMERO, M., TRAPERO CASAS A. 2003. La mancha foliar del madroño (*Arbutus unedo*) causada por *Septoria unedonis* Departamento de Agronomía, ETSIAM, Universidad de Córdoba. España, p 375-392.

SAÑUDO, B., ARTEAGA, M., VALLEJO, W., AREVALO, R. y BURBANO *** 2001. Fundamentos de Micología Agrícola. Universidad de Nariño. San Juan de Pasto Colombia. 85p.

VANDER PLANK, J.E.1963 Plant disease epidemic and control. New York: Academic Press. 110p.

MARTÍ P. 2002. Guía de laboratorio uso cortes histológicos. Disponible en: www.everyoneweb.es/pemarsi/index.aspx?webid=pemarsi&BloomID=B1&KnooppuntID=K461 - 196k. 2006. Consulta: Febrero de 2011.

