

## **ACTIVIDAD FUNGICIDA DE CEPAS DEL GÉNERO *CLADOBOTRYUM* SOBRE *CORYNESPORA CASSIICOLA*.**

Yarelis Ortiz Núñez, Beatriz Ramos García, María Elena Álvarez Valdés, Rachely Valdés López, Yannin Lorenzo Rodríguez, Liuba Plana Pérez, Irma Marrero Granados, Doris García Vázquez, Yuliet Aguado Rodríguez, María Eugenia Ruenes Figueroa, Alexander Bacallao Escudero y Rafael F. Castañeda Ruíz.

### **RESUMEN**

En este trabajo se evaluó la actividad fungicida de tres cepas nuevas del género *Cladobotryum*: *C. pinarense* (1789), *C. semicircularis* (1698) y *C. virescens* (C10/110) conservadas en la Colección internacional de Cultivos Puros de Hongos (WFCC 853) del INIFAT. Para ello se crecieron las cepas en los medios de papa y avena, bajo condiciones de zaranda, durante 5, 10 y 15 días. Posteriormente, los caldos de cultivos y los extractos de acetato de etilo obtenidos fueron evaluados frente a la especie fitopatógena *Corynespora cassiicola*, utilizando los métodos de Cultivo Dual y Bioautográfico por Cromatografía en Capa Fina. Los resultados obtenidos mostraron que todas las especies de *Cladobotryum* manifestaron efecto antagonista sobre *C. cassiicola* actuando por micoparasitismo, favorecido además este efecto, por la mayor capacidad de las cepas para competir por el sustrato. Los extractos de acetato de etilo mostraron inhibición del crecimiento del patógeno, en ambos medios de cultivos, en los tres días de fermentación estudiados. Los resultados obtenidos son alentadores para continuar estudios en estas especies referidos a la obtención de bioproductos para el control de la enfermedad "mancha anillada" o "tizón de fuego" dentro de los Programas de Manejo Integrado (MIP).

**Palabras clave:** *Cladobotryum*, bioproductos, *Corynespora cassiicola*

### **Fungicidal activity of *Cladobotryum* strains against *Corynespora cassiicola*.**

### **ABSTRACT**

On the present paper were evaluated the fungicide activity of tree new *Cladobotryum* strains: *C. pinarense* (1789), *C. semicircularis* (1698) y *C. virescens* (C10/110) preserved on International recognized World Federation Culture Collections (WFCC 853) at INIFAT. The fungal strains were grown on potato and oat mediums by shaking condition for 5, 10 and 15 days. Subsequently, the broth cultures and ethyl acetate extracts obtained were tested against the phytopathogen *Corynespora cassiicola* by Dual Culture and Bioautographic TLC methods. All the *Cladobotryum* species had high antagonism against *C. cassiicola* acting by mycoparasitism, also favored this effect by the higher capacity of the strains to compete for the substrate. The ethyl acetate extracts showed inhibition of growth of the pathogen, in both culture media, on three days of fermentation studied. Those results are good for going on studying in these species referred to obtaining bioproducts to control of "ring spot" or "fire blight" disease on Integrated Management Program (IMP).

**Key words:** *Cladobotryum*, bioproducts, *Corynespora cassiicola*

---

Dra.C. Yarelis Ortiz Núñez, Investigador Auxiliar del Departamento de Manejo de Cultivos del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT). Calle 188 #38754 e/ 397 y Linderos, Santiago de las Vegas. Municipio Boyeros. La Habana. Cuba. E-mail: [dpplantas@inifat.co.cu](mailto:dpplantas@inifat.co.cu)

## INTRODUCCIÓN

*Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei es un hongo fitopatógeno, que tiene un amplio rango de hospederos en áreas tropicales y subtropicales, ocasionando la enfermedad conocida como mancha anillada o tizón de fuego (Promputtha *et al.*, 2007 y Fakhruddin *et al.*, 2013). Aunque la principal sintomatología de la enfermedad ha sido reflejada en las hojas de diferentes cultivos, también se ha encontrado afectaciones en frutos, tallos y raíces, con pérdidas en los rendimientos de hasta 20-30% (Smith *et al.*, 2007; Dixon *et al.*, 2009; Shamsi y Naher, 2010).

En Cuba se han encontrado afectaciones en diferentes cultivos hortícolas como pepino (*Cucumis sativus* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.), en condiciones de organoponía, así como, en plantas ornamentales, donde el desarrollo de la enfermedad ha estado estrechamente relacionada con los cambios climáticos, siendo favorables temperaturas máximas entre 28-30 °C, y una humedad relativa media superior a 80%. (Pérez *et al.*, 2000; De La Guardia *et al.*, 2003; Ferrer, 2006).

Dentro de los métodos de control de la enfermedad se encuentra el empleo de plaguicidas químicos como el benomyl, clortalonil y mancozeb, que aunque han ejercido un buen control también han provocado fenómenos de resistencia y otros efectos colaterales para la salud humana y el medio ambiente (Wahounou, 2000; Pernezny *et al.*, 2003; Dixon *et al.*, 2009). En este sentido se han buscado alternativas al uso de estos productos, dentro de los cuales se encuentra el empleo de bioproductos de origen natural como parte de los Manejos Integrados de Plagas. Así por ejemplo, Ogbebor y Adekunle (2005) evaluaron el efecto inhibitorio de 21 especies de plantas de 14 familias sobre *C. cassiicola* afectando 11 de ellas el crecimiento micelial del hongo entre un 3-55 %; Ferrer (2006) alcanzó una eficacia del 42 % en el control de este patógeno cuando utilizó el hongo

antagonista *Trichoderma harzianum* R. (cepa A-34) a dosis de 10 Kg/ha, incrementándose los rendimientos de pepino (*Cucumis sativus*) en un 50%; Pino *et al.* (2013) reportaron el estudio de extractos acuosos de *Gliricidia sepium* (Jaq.) Steud (piñón florido) y *Lantana camara* L. (filigrana) sobre este mismo hongo con muy buenos resultados.

Así mismo, aunque los hongos microscópicos resultan un recurso altamente diverso y abundante en la naturaleza, con un alto potencial biotecnológico, se estima que menos del 1% de la diversidad microbiana ha sido aislada y un porcentaje menor evaluada para la obtención de nuevos productos (Heredia, 2008).

Por su parte, las zonas tropicales y subtropicales han sido poco exploradas en cuanto a su diversidad microbiana, siendo prácticamente desconocido su potencial bioactivo. En este sentido, y teniendo en cuenta que el INIFAT posee una Micoteca con más de 6000 aislados de hongos del medio tropical, entre ellos 1032 cepas de hongos nuevos, los cuales constituyen una valiosa fuente de riqueza aún inexplorada, se propuso como objetivo de este trabajo evaluar la actividad fungicida de extractos provenientes del cultivo de tres cepas del género *Cladobotryum* sobre el hongo *C. cassiicola*, en condiciones de laboratorio, utilizando los métodos de Cultivo dual y Bioautográfico por Cromatografía en Capa Fina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Microorganismos y medios de cultivos utilizados.

Para este estudio se emplearon tres cepas del género *Cladobotryum*: *C. pinarense* (1789), *C. semicirculare* G.R.W. Arnold, R. Kirschner & Chee J. Chen (1698) y *C. virescens* G.R.W. Arnold (C10/110) conservadas en la Colección de Cultivos Puros de Hongos del INIFAT (WFCC 853), aisladas e identificadas por el Dr. Rafael F. Castañeda Ruiz. Las mismas fueron transferidas, para su revitalización, a placas *Petri* de 9 cm de diámetro que contenían medio Agar-Avena

(OA) (CBS Media, 2001), las cuales posteriormente se incubaron en cámara húmeda a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante siete días (pre-inóculo).

Para los ensayos de actividad antifúngica de las cepas del género *Cladobotryum* se utilizó el hongo fitopatógeno *Corynespora cassicola* (C10/6), procedente de la colección anterior. El hongo se multiplicó bajo las mismas condiciones descritas para las cepas controles.

#### **Medio de cultivo para solución de conidios para método Bioautográfico por CCF.**

Las esporas del hongo patógeno fueron recogidas en un medio que contenía: Manitol (50 g), sacarosa (50 g), ácido succínico (5.4 g), extracto de levadura (3.0 g),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.1 g),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.3 g),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.01 g),  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.0044 g),  $\text{H}_2\text{O}$  (1 L), pH 5.4, para su posterior utilización en los bioensayos. Se determinó la concentración de conidios por cámara de Thomas.

#### **Fermentación de las cepas *C. pinarensis* (1789), *C. semicircularis* (1698) y *C. virescens* (C10/110).**

Se realizaron los cultivos en erlenmeyers de 500 mL con un volumen de 200 mL de los medios líquidos de avena y papa (pH 6.5), a los cuales se les añadió cinco ponches de 0.5 cm por cada cepa sembrada (pre-inóculo). La fermentación se realizó con agitación en zaranda a 150 rpm durante 5, 10 y 15 días. ( $T=25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , y  $H_R= 63-65\%$ ). Todos los cultivos fueron filtrados primero por gaza y luego con lana de vidrio para separar el sobrenadante del micelio.

#### **Obtención y fraccionamiento de los extractos.**

A partir del caldo de cultivo de los 5, 10 y 15 días de fermentación de las cepas 1789, 1698 y C10/110 se realizaron sucesivas extracciones con acetato de etilo y se concentraron los extractos a sequedad en un rotoevaporador. Los extractos fueron resuspendidos

en 1 ml del disolvente empleado en la extracción para los ensayos de actividad.

#### **Ensayos de actividad fungicida**

Los ensayos de actividad fungicida de las cepas 1789, 1698 y C10/110 se realizaron en el Laboratorio de Microbiología (Cepario) del INIFAT. Durante el trabajo se utilizaron dos métodos de ensayos.

#### **Método de Cultivo Dual**

Para evaluar la actividad antagonista de las cepas se utilizó el Método de Cultivo Dual (Martínez *et al.*, 2008 y Guédez *et al.*, 2012), en placas de Petri de 9 cm de diámetro con medio sólido de Agar-Avena. Una vez solidificado el mismo se procedió a sembrar un disco de 7 mm del hongo utilizado como control y a una distancia de 4 cm otro disco de 7 mm del hongo patógeno *C. cassicola*. Se sembraron placas testigos tanto del patógeno como de las cepas utilizadas como controles. Las placas fueron incubadas a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante 7-10 días.

Se evaluaron diferentes modos de acción:

- 1. Competencia por el substrato:** Las evaluaciones se realizaron cada 24 horas, mediante medición del diámetro de las colonias. Estos experimentos contaron con un total de cinco réplicas por cada variante estudiada. Los resultados se procesaron mediante un análisis de varianza bifactorial utilizando la prueba de Tukey.
- 2. Antibiosis:** Se evaluó por el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) antes de que las colonias tuvieran contacto a los tres y cinco días de sembradas; empleando la fórmula de Samaniego citado por Bernal *et al.* (2004).  
$$\text{PICR} = (\text{R1} - \text{R2}) / \text{R1} * 100$$

R1= Crecimiento radial del testigo  
R2 = Crecimiento radial del patógeno en el tratamiento.

**3. Micoparasitismo:** Se evaluaron diferentes tipos de micoparasitismo (penetración, vacuolización, lisis y enrollamiento) (Reyes *et al.*, 2008), tomando tres muestras por réplica de la zona de interacción de ambos hongos. Se colocaron sobre portaobjeto con una gota de lactofenol y se realizaron observaciones al microscopio óptico con aumento de 100x.

#### **Método Bioautográfico por Cromatografía en Capa Fina.**

Para los ensayos de actividad fungicida de los extractos y fracciones de las cepas fermentadas se utilizó el Método bioautográfico por Cromatografía en Capa Fina descrito por Lago *et al.* (2004). Para ello se prepararon placas de vidrio de 20x20cm, con 30 g de gel de sílice en 90 mL de agua destilada, las cuales fueron activadas en estufa a 110 °C durante 30 min. Posteriormente se aplicaron, con una microjeringuilla, 200 µl de cada uno de los caldos de cultivos (5, 10 y 15 días de fermentación) de las cepas y 50 µl de los extractos de acetato de etilo, a una distancia de aplicación entre ellos de 2,5 cm. Se secaron las placas durante dos horas y se asperjaron con la suspensión de conidios del patógeno *C. cassiicola*, a una concentración determinada por Cámara de Thomas ( $1.37 \times 10^6$  esporas/mL), bajo flujo laminar. Posteriormente se incubaron en cámara húmeda a  $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 72 horas y se determinó cualitativamente la actividad antagonista teniendo en cuenta el halo inhibitorio del crecimiento micelial del hongo patógeno.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Evaluación de los diferentes modos de acción.**

**Control:** *Cladobotryum pinarense* (1789)  
**Patógeno:** *Corynespora cassiicola*

### **Competencia por el sustrato.**

Como se observa en la Tabla 1 y Figura 1, la cepa *C. pinarense* (1789), presentó un efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del patógeno *C. cassiicola* con diferencias significativas, asociado a la mayor capacidad de este hongo para competir por el sustrato, debido a su mayor velocidad de crecimiento.

### **Micoparasitismo.**

En las observaciones microscópicas realizadas las hifas del patógeno *C. cassiicola* mostraron vacuolización y enrollamiento por el antagonista *C. pinarense* (Figura 2).

### **Antibiosis.**

Al analizar los valores de PICR obtenidos para el patógeno (Figura 3) se evidencia que la cepa *C. pinarense* (1789), inhibió muy ligeramente el crecimiento micelial del patógeno no sobrepasando el 23 % al tercer día del ensayo.

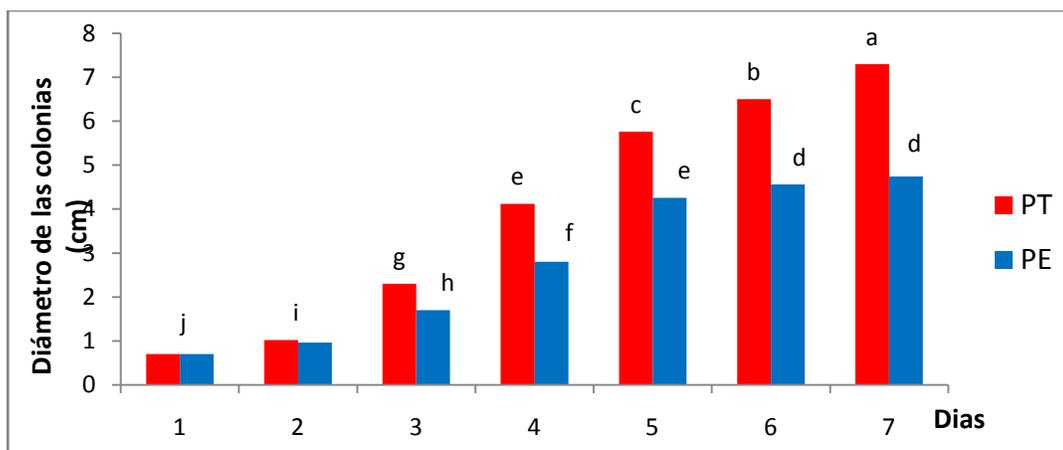
**Control:** *Cladobotryum semicirculare* (1698)  
**Patógeno:** *Corynespora cassiicola*

### **Competencia por el sustrato.**

Como se observa en la Tabla 2 y Figura 4, la cepa *C. semicirculare* (1698) presentó efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del patógeno *C. cassiicola*, mostrando una mayor capacidad para competir por el sustrato, con diferencias significativas. Este efecto está favorecido por la mayor velocidad de crecimiento que presenta esta cepa, ya que cubre el espacio vital y utiliza con mayor facilidad los nutrientes disponibles en el medio. Este comportamiento se evidenció desde el segundo día del ensayo llegando finalmente a crecer sobre el patógeno.

**Tabla 1.** Análisis comparativo de la competencia por el sustrato en la interacción *C. pinarense*- *C. cassiicola* (cm).

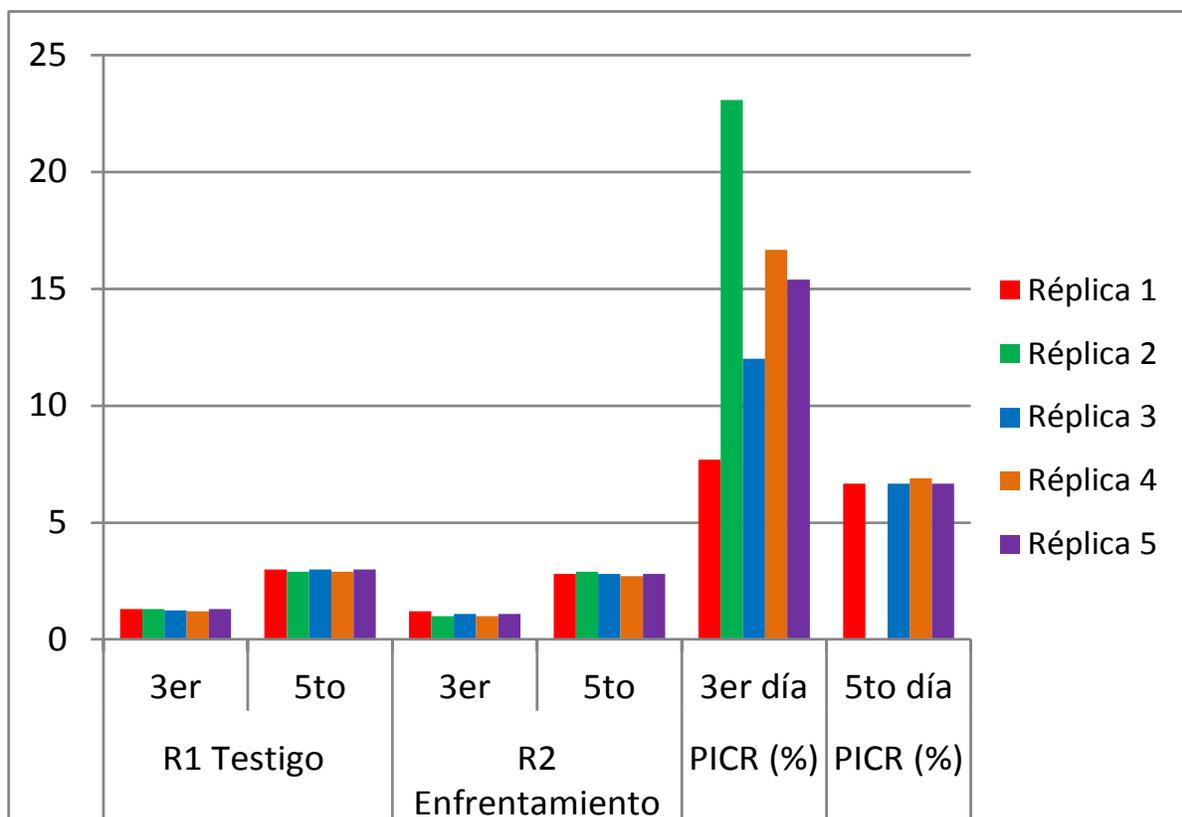
Días	Control	Patógeno	Control testigo	Patógeno testigo	Proporción media (Control/patógeno)
1	0,7	0,7	0,7	0,7	1,00
2	2,4	0,96	1,72	1,02	2,50
3	4,84	1,70	3,28	2,3	2,84
4	5,72	2,80	4,86	4,12	2,04
5	7,04	4,26	6,48	5,76	1,65
6	7,94	4,56	7,58	6,5	1,74
7	9,0	4,74	9,0	7,3	1,89



**Figura 1.** Crecimiento micelial por días del patógeno enfrentado (PE) a la cepa *C. pinarense* y su testigo (PT).



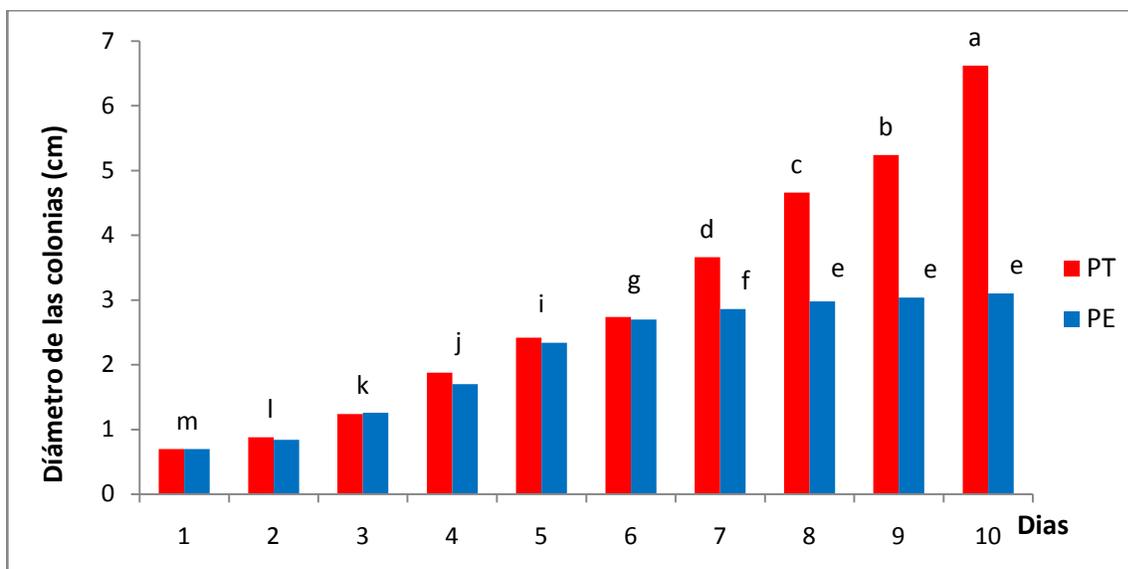
**Figura 2.** Enfrentamiento de las colonias de *Cladobotryum pinarense* (izquierda) y *Corynespora cassiicola* (derecha).



**Figura 3.** Porcentaje de inhibición del patógeno *C. cassiicola* con respecto al control (cepa 1789)

**Tabla 2.** Análisis comparativo de la competencia por el sustrato en la interacción *C. semicircularis*- *C. cassiicola* (cm).

Días	Control	Patógeno	Control testigo	Patógeno testigo	Proporción media (Control/patógeno)
1	0,7	0,7	0,7	0,7	1,00
2	1,22	0,84	1,24	0,88	1,45
3	2,06	1,26	2,06	1,24	1,63
4	3,18	1,76	3,18	1,88	1,81
5	4,00	2,34	4,02	2,42	1,71
6	4,88	2,7	4,88	2,74	1,81
7	5,2	2,86	5,4	3,66	1,82
8	5,82	2,98	5,82	4,66	1,95
9	6,16	3,04	6,2	5,24	2,03
10	6,7	3,1	6,76	6,62	2,16



**Figura 4.** Crecimiento micelial por días del patógeno enfrentado (PE) a la cepa *C. semicircularis* (1698) y su testigo (PT).



**Figura 5.** Crecimiento micelial por días del control *Cladobotryum semicircularis* (izquierda) y del patógeno *Corynespora cassiicola* (derecha) enfrentados.

#### Micoparasitismo

En las observaciones microscópicas las hifas del patógeno *C. cassiicola* mostraron vacuolización por el antagonista *C. semicircularis* (Figura 5).

#### Antibiosis

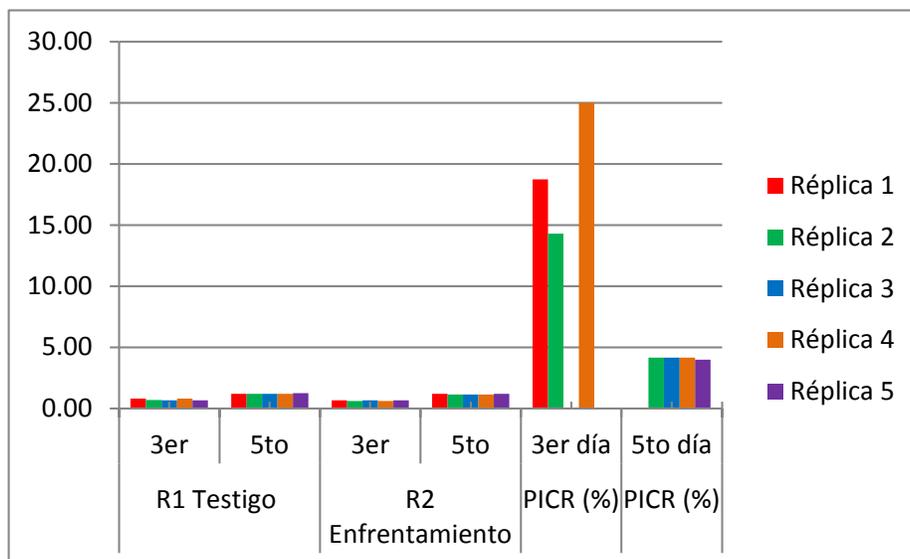
Los resultados alcanzados con la cepa 1698, muestran una ligera inhibición del crecimiento micelial del patógeno, al tercer día del ensayo, que no sobrepasa el 25 % de inhibición como valor promedio (Figura 6).

**Control:** *Cladobotryum virescens* (C10/110)

**Patógeno:** *Corynespora cassiicola*

#### Competencia por el sustrato

Como se observa en la Tabla 3 y Figura 7, a pesar de que la cepa *C. virescens* (C10/110) tiene una mayor velocidad de crecimiento de forma independiente, esta presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del patógeno durante el enfrentamiento, comportamiento que se evidenció desde el tercer día hasta el final del ensayo, con diferencias significativas a partir del quinto día.



**Figura 6.** Porcentaje de inhibición del patógeno *C. cassiicola* con respecto al control (cepa 1698).

### Micoparasitismo

En las observaciones microscópicas las hifas del patógeno *C. cassiicola* mostraron vacuolización por el antagonista *C. virescens* (Figura 8).



**Figura 8.** Enfrentamiento de las colonias de *Cladobotryum virescens* (izquierda) y *Corynespora cassiicola* (derecha).

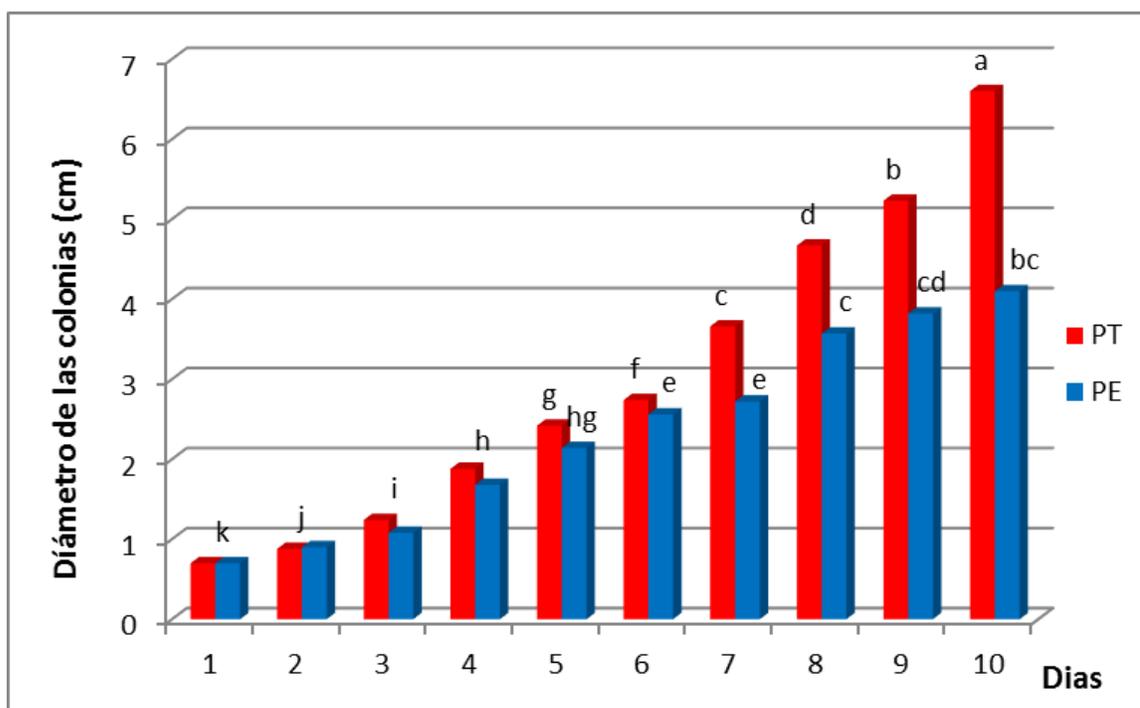
### Antibiosis

Los resultados alcanzados con esta cepa muestran inhibición del crecimiento micelial del patógeno, al tercer día del ensayo, en un 24,2 % de inhibición como valor promedio, siendo más ligera al quinto día (Figura 9).

De manera general, las tres cepas de *Cladobotryum* (*C. pinarense* (1789), *C. semicircularis* (1698) y *C. virescens* (C10/110) mostraron efecto antagonista sobre *C. cassiicola* actuando por micoparasitismo (vacuolización), favorecido además este efecto, por la mayor capacidad de las cepas para competir por el sustrato. Sin embargo, no se evidencia la excreción al medio de algún metabolito con acción fungistática significativa sobre el patógeno, pues los valores de PICR obtenidos no sobrepasan, en ningún caso, el 25 % de inhibición. No obstante, en trabajos futuros se deberá determinar también la excreción de metabolitos volátiles.

**Tabla 3.** Análisis comparativo de la competencia por el sustrato en la interacción *C. virescens*- *C. cassiicola* (cm).

Días	Control	Patógeno	Control testigo	Patógeno testigo	Proporción media (Control/patógeno)
1	0,7	0,7	0,7	0,7	1,00
2	0,98	0,9	1,04	0,88	1,09
3	1,72	1,08	1,74	1,24	1,59
4	2,3	1,68	2,34	1,88	1,37
5	2,98	2,14	3,02	2,42	1,39
6	3,58	2,56	3,78	2,74	1,40
7	5,00	2,72	5,1	3,66	1,84
8	5,76	3,14	5,82	4,66	1,83
9	7,06	3,04	7,02	5,24	2,32
10	8,02	3,58	8,24	6,62	2,24



**Figura 7.** Crecimiento micelial por días del patógeno enfrentado (PE) a la cepa *C. virescens* (C10/110) y su testigo (PT).

### Método bioautográfico por cromatografía en capa fina.

La actividad fungicida de las cepas 1789, 1698 y C10/110, se evaluó frente a la especie *Corynespora cassiicola*, utilizando el Método bioautográfico por Cromatografía en Capa Fina (Lago *et al.*, 2004). Los resultados obtenidos muestran que los extractos de acetato de etilo procedentes de las tres cepas, y en los tres días de fermentación estudiados, mostraron inhibición del patógeno en los medios de papa y avena, excepto la cepa 1789, que en este último medio, no mostró actividad. Sin embargo, los caldos de cultivos mostraron diferencias en ambos medios, donde solamente la cepa 1789 mostró inhibición del patógeno en el medio de papa a los 10 y 15 días de fermentación (Figura 10). Aunque los caldos de cultivos deberán evaluarse posteriormente a

concentraciones más altas, los resultados son alentadores para continuar estudios a partir de los extractos de acetato de etilo y determinar los compuestos responsables de la actividad fungicida que muestran estas especies.

Hasta donde conocemos, los resultados alcanzados con las cepas anteriores sobre esta especie patógena resultan novedosos, existiendo muy pocos reportes en la literatura, así por ejemplo, Ortiz *et al.* (2012) mostraron la actividad fungicida de estas cepas, fermentadas en medio líquido de papa, sobre tres especies de *Cladosporium*, con resultados positivos. Algunos autores han mostrado la actividad de otras especies de *Cladobotryum*, tal es el caso de Bills *et al.* (2009), los cuales demostraron la actividad antifúngica de extractos de una cepa de *Cladobotryum pinarense* sobre *Candida albicans*.

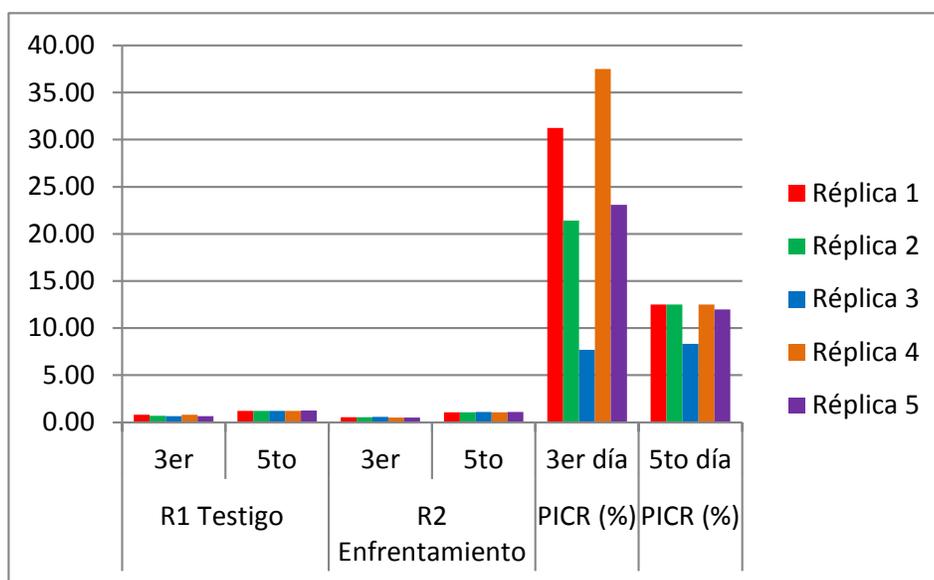


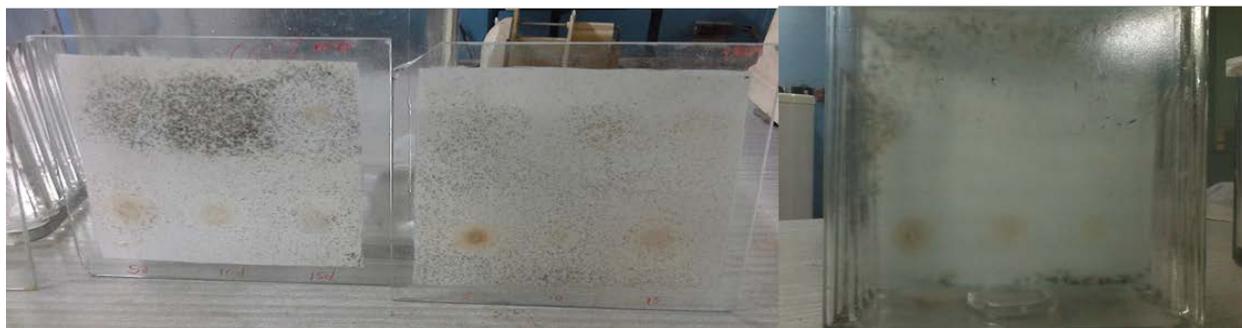
Figura 9. Porcentaje de inhibición del patógeno *C. cassiicola* con respecto al control (cepa C10/110).

Medio avena

1698

1789

C10/110



Medio papa

1698

1789

C10/110



**Figura 10.** Ensayo de actividad contra *Corynespora cassiicola* por el método bioautográfico por cromatografía en capa fina. En ambos medios: Extractos de acetato de etilo (extremos inferiores), caldos de cultivos (extremos superiores).

La importancia que actualmente está adquiriendo esta enfermedad (mancha anillada o tizón de fuego) debido al cambio climático y principalmente a la introducción de variedades susceptibles, hacen de mayor importancia estos resultados, pues deberán elaborarse estrategias de control de esta enfermedad con vistas a su inclusión en los esquemas de Manejo

Integrado de Plagas (MIP) para los diferentes cultivos tropicales.

### CONCLUSIONES

- Las especies de *Cladobotryum* (*C. pinarense*, *C. semicircularis* y *C. virescens*) mostraron efecto antagonista sobre *Corynespora cassiicola* actuando por micoparasitismo, favorecido

además este efecto, por la mayor capacidad de las cepas para competir por el sustrato.

- Los extractos de acetato de etilo procedentes de las tres cepas de *Cladobotryum*, en los tres días de fermentación estudiados, mostraron inhibición del crecimiento de *C. cassiicola*.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bernal, A.; Andreu, C. y Moya, M. (2004): Utilización de *Trichoderma* spp. como alternativa ecológica para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F.Smith) Snyder & Hans. Cuba. Consultada: 22 de abril Disponible en: <http://www.virtualcentr.org/es/enIBTJ%20Tallr/bernalalezander.htm>.
- Bills, Gerald F.; Platas, G.; Overy, D.P.; Collado, J.; Fillola, A.; Jiménez, M.R.; Martín, J.; Del Val, G.A.; Vicente, F.; Tormo, J.R.; Pelaez, F.; Calati, K; Harris, G., Parish, C.; Xu, D.; Roemer, T. (2009): Discovery of the parnafungins, antifungal metabolites that inhibit mRNA polyadenylation, from the *Fusarium larvarum* complex and other Hypocrealean fungi. *Mycologia*, 101(4): 449–472.
- Centraalbureau Voor Schimmelcultures (CBS). (2001): List of cultures. Fungal Biodiversity Center. 35<sup>th</sup> Edition, ISBN 90-70351-45-5: 687 p.
- De la Guardia, A.M.; González Morera, T.A.; Marrero Terrero, A.A.; Milián Hernández, V.; Campañá Castellanos, H. (2003): Obtención de un extracto plaguicida de *Gliricidia sepium* (Jaq.) Steud bajo la irradiación con microondas. *Rev. Cubana Plant Med.*, 8 (3):1
- Dixon, L. J.; Schlub, R. L.; Pernezny, K., and Datnoff, L. E. (2009): Host specialization and phylogenetic diversity of *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology* 99:1015-1027.
- Fakhrudin Ali, Ahmed; Nazmul, Alam y Abul, Khair (2013): Incidence and biology of *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei. Disease of okra in Bangladesh. *Bangladesh J. Bot.*, 42(2): 265-272.
- Ferrer, G., Carlos, A. (2006): Comportamiento y control de la enfermedad tizón de fuego causada por el hongo *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei. en el cultivo del pepino (*Cucumis sativus* L.) en sistemas de organopónicos en la provincia de Camagüey y su relación con otros patógenos fúngicos presentes en el cultivo. *Fitosanidad*, 10 (4):1.
- Guédez, C.; Cañizaleza, L.; Castillos, C. y Olivarb, R. (2012): Evaluación *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32:44-49.
- Heredia, G. (2008): Tópicos sobre diversidad, ecología y uso de los hongos microscópicos. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) e Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Ver. México, 386 pp.
- Lago, J.H.G.; Ramos, C.S.; Casanova, D.C.C.; Morandim A de A.; Bergamano, D.C.B.; Cavaleiro, A.J.; Bolzani, V. da S., Furlan, M.; Guimaraes, E.F.; Young M.C M. and Kato, M.J. (2004): Benzoic acid derivatives from Piper species and their fungitoxic activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. sphaerospermum*. *J. Nat. Prod.*, 67: 1783-1788.
- Martínez, B.; Reyes, Y.; Infante, D.; González, E.; Baños, H. y Cruz, A. (2008): Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. *Rev. Protección Veg.*, 23 (2):118-125.
- Ogbebor, N. y Adekunle, A.T. (2005): Inhibition of conidial germination and mycelial growth of *Corynespora cassiicola* (Berk and Curt) of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) using

- extracts of some plants. African Journal of Biotechnology, 4 (9): 996-1000. ISSN 1684-5315 © 2005 Academic Journals.
- Ortiz, N. Y.; Castañeda, R.F; Alvarez, M.E; Lorenzo, R.Y.; Ramos, B.G.; Plana, P.L.; Marrero, I.; García, D.; Aguado, R.Y.; Ruenes, F.M. y Gamiotea, T.D. (2012): Actividad fungicida de especies de *Cladobotryum* sobre *Cladosporium colocasiae* y *Cladosporium oxysporum*. Agrotecnia de Cuba, 36 (1):80-84.
- Pérez, W., Bernal, B., Martín, A. y Romeu, C. (2000): Estudio preliminar de dos extractos vegetales para el control in vitro del hongo *Corynespora cassicola* (Berk & Curt) Wei. Fitosanidad, 4(1-2):43-46.
- Pernezny, K.; Stoffella, P.; Collins, J.; Carroll, A. y Beany, A. (2003): Control of target spot of tomato with fungicides, systemic acquired resistance activators, and a biocontrol agent. Plant Protect. Sci., 38: 81-88.
- Pino, O.; Sánchez, Yaíma y Rojas Miriam M. (2013): Review Article. Plant secondary metabolites as alternatives in pest management. II: An overview of their potential in Cuba. Rev. Protección Veg., 28 (2), 81-94.
- Promptutha, I.; Lumyong, A.; Dhanasekaran, V.; McKenzie, E.H.C.; Hyde, K.D., Jeewon, R. (2007): A phylogenetic evaluation of whether endophytes become saprotrophs at host senescence. Micro Ecol., 53: 579-590.
- Reyes, Y.; Martínez, B. e Infante, D. (2008): Evaluación de la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. Rev. Protección Vegetal, 23 (2):112-117.
- Shamsi, S. y Naher, N. (2010): Phylloplane mycoflora on *Vigna sinensis* L. Dhaka Univ. J. Biol. Sci., 19(2): 203-206.
- Smith, L.J.; Datnoff, L.E.; Rollins, J.A., Pernezny, K.L. y Schlub, R. L. (2007): Phylogenetic analysis of *Corynespora* isolates from diverse hosts and locations. *Phytopathology*, 97: S109.
- Wahounou, P.J. (2000): Cote D'ivoire country report on *Corynespora cassicola*. Int. Rubber Res. Develop. Board *Corynespora* leaf fall disease workshop in Kuala Lumpur and Medan from 6th to 14th.

Fecha recibido: 27 de enero de 2016.

Fecha aceptado: 18 de mayo de 2016.