

DIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS ASOCIADOS AL CARDAMOMO (*Elettaria cardamomum* L.) EN ALTA VERAPAZ Y QUICHÉ

Martha Patricia Herrera,
mpherrera@uvg.edu.gt

Ana Lucía Dubón,
aldubon@uvg.edu.gt

Margarita Palmeri
palmieri@uvg.edu.gt

**Centro de Estudios
Agrícolas y Alimentarios
/ Laboratorio de
Protección Vegetal**

RESUMEN

A pesar de que Guatemala es el principal exportador de cardamomo a nivel mundial, es escasa la información sobre los microorganismos que podrían poner en riesgo la comercialización del mismo al afectar a los primeros eslabones de la cadena productiva en el país. Para implementar y mejorar estrategias de prevención y control, este estudio tuvo como finalidad conocer el estado actual de los microorganismos presentes en el cardamomo cultivado en la Franja Transversal del Norte, específicamente en 10 regiones de Alta Verapaz y Quiché. Se colectaron 380 muestras en total, incluyendo cultivos de cardamomo ($n=359$), banano ($n=19$) y caña de azúcar ($n=2$). Por medio de RT-PCR, se realizó la detección de virus de la familia *Potyviridae* a 345 muestras. La identificación de hongos se realizó a 370 muestras por medio de aislamientos y microscopía. Se detectó la presencia del *Potyvirus Sugarcane Mosaic Virus* (SCMV) en un 14.49% (IC95%: 10.77 - 18.21). Se cree que su presencia en cardamomo se debe a la siembra cercana de otros hospederos de este virus, como caña de azúcar y banano, y su diseminación podría estar relacionada al intercambio de rizomas de plantas infectadas. Aún es necesario evaluar el efecto que podría tener este virus sobre el cardamomo ya que no se cuenta con reportes previos. El hongo fitopatógeno que prevaleció sobre el resto fue *Colletotrichum* sp. (82.2%, IC95%: 78.3 - 86.1) y en menor proporción se encontró: *Fusarium* sp. (14.1%, IC95%: 10.5 - 17.6), *Nigrospora* sp. (9.5%, IC95%: 6.5 - 12.5) y *Curvularia* sp. (6.8%, IC95%: 4.2 - 9.3). Es necesario tomar medidas inmediatas para controlar *Colletotrichum* spp. por su alta prevalencia y distribución en todas las regiones. Se propone el uso de control biológico ya que en este estudio se encontró la presencia de hongos benéficos (*Trichoderma* sp. y *Metarhizium* sp.) que podrían ser aprovechados. Este estudio permite establecer una línea base de microorganismos para la toma de decisiones basadas en evidencia y para el desarrollo de estrategias enfocadas en un manejo integrado de plagas.

PALABRAS CLAVE: Cardamomo, virus del mosaico de la caña de azúcar, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Curvularia*, Alta Verapaz, Quiché.

ABSTRACT

DIVERSITY OF PATHOGENIC MICROORGANISMS ASSOCIATED WITH CARDAMOM (*Elettaria cardamomum* L.) IN ALTA VERAPAZ AND QUICHÉ

Even though Guatemala is the worldwide main exporter of cardamom, there is limited information on the microorganisms that could put commercialization at risk by affecting the first links of the cardamom value chain. To implement and improve prevention and control strategies, the main objective of this study was to know the current state of the microorganisms present in the cardamom in the Northern region, specifically in ten regions of Alta Verapaz and Quiché. In total, 380 plant samples were collected, including cardamom ($n = 359$), banana ($n = 19$) and sugar cane ($n = 2$). By RT-PCR, the detection of viruses of the *Potyviridae* family was performed in 345 samples. The identification of fungi was carried out employing isolation and microscopy on 370 samples. The presence of *Potyvirus Sugarcane Mosaic Virus* (SCMV) was detected in 14.49% (95% CI: 10.77 - 18.21) samples. It is believed that its presence in cardamom is due to the close planting of other hosts of this virus, such as

sugar cane and banana, and its dissemination could be related to the exchange of rhizomes of infected plants. It is still necessary to evaluate the effect that this virus could have on cardamom since there are no previous reports. The phytopathogenic fungus that prevailed over all was *Colletotrichum* sp. (82.2%, 95% CI: 78.3 - 86.1) and to a lesser extent *Fusarium* sp. (14.1%, 95% CI: 10.5 - 17.6), *Nigrospora* sp. (9.5%, 95% CI: 6.5 - 12.5) and *Curvularia* sp. (6.8%, 95% CI: 4.2 - 9.3). It is necessary to take immediate measures to control *Colletotrichum* spp. because of its high prevalence and abundance in all regions. The use of biological control is proposed because in this study beneficial fungi (*Trichoderma* sp. and *Metarhizium* sp.) were found that could be used. This study allows establishing a baseline of microorganisms for evidence-based decision-making and for the development of strategies focused on integrated pest management.

KEY WORDS: Cardamom, sugarcane mosaic virus, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Curvularia*, Alta Verapaz, Quiché.

INTRODUCCIÓN

Guatemala es el mayor exportador de cardamomo a nivel mundial ya que la mayor parte de lo que se cosecha en el país es exportado a países del Medio Oriente y no se consume localmente (TRIDGE, s.f.). A pesar de ser el mayor exportador, no se ha invertido en conocer los factores que podrían afectar a la cadena productiva y podría surgir un nuevo brote de un patógeno o plaga que ponga en riesgo la producción como ha ocurrido anteriormente. En los años 70s y 80s el virus del mosaico del cardamomo (CdMV, por sus siglas en inglés) devastó el cultivo de cardamomo en la Costa Sur de Guatemala (Bonilla, 1983; Badulescu, 1985; De León, 1986). Desde entonces, y ya que la infección por CdMV fue en menor proporción, la Franja Transversal del Norte se ha convertido en el área con mayor producción, específicamente en los departamentos de Alta Verapaz, Quiché, Huehuetenango, Izabal y Baja Verapaz (MAGA, 2016). Además del reporte de CdMV en la Costa Sur, han sido escasos los estudios para determinar dinámicas entre patógenos, vectores y hospederos y el riesgo es grande ya que las enfermedades causadas por fitopatógenos pueden provocar disminución en la productividad, pérdida de la calidad del producto o, incluso, la muerte del cultivo (Hillman, 1998).

Se han reportado varias enfermedades asociadas al cultivo y la mayoría de estos reportes provienen de la India, que es uno de los países con mayor producción de cardamomo y tiene el segundo lugar en exportación (Aldana, 2012; TRIDGE, s.f.). Algunos de estos reportes incluyen plagas de artrópodos, hongos, bacterias y virus. Entre los artrópodos se puede mencionar el picudo (*Cholus pilicauda*), trips (*Sciothrips cardamomi*), zompopos (*Atta* spp. y *Acromyrmex* spp.) y la araña roja (*Tetranychus uticae*) (PLATICAR, s.f.; NIPHM, 2014). En cuanto a bacterias, *Erwinia carotovora* y *Ralstonia solanacearum* causan marchitez en la planta (Chen, 2015). Una de las principales enfermedades causadas por hongos

es la putrefacción del rizoma y se le atribuye al complejo de *Fusarium oxysporum*, *Phythium vexans* y *Rhizoctonia solani* (Thomas y Bhai, 1995). Otra enfermedad, es la pudrición de la cápsula o fruto y está asociada al complejo: *Phytophthora meadii*, *Phaeodactylum aopiniiae*, *Sphaceloma cardamomi*, *Cercospora zingiberi*, *Glomerella cingulata*, *Phaetrichonosia crotalariae* y *Cercospora alletariae* (Thomas y Bhai, 1995). *Colletotrichum gloeosporioides* causa lo que se conoce como tizón floral (lesiones de color blanco en la hoja que después se tornan café y *Phakospora elletariae* causa la roya del cardamomo (Thomas y Bhai, 1995).

Los principales virus que afectan al cardamomo pertenecen a la familia *Potyviridae*, entre ellos está el Virus del Mosaico del Cardamomo (CdMV, por sus siglas en inglés) y el Virus del Mosaico de la Bráctea del Banano (BBrMV, por sus siglas en inglés), el primero pertenece al género *Macluravirus* y el segundo a *Potyvirus*. Estos virus causan mosaico en forma rayada desde la vena central hasta el borde de la hoja y, según estudios, vuelve a la planta improductiva a los tres años luego de adquirir la enfermedad (Biju 2010). Ambos son transmitidos de forma no persistente por especies de áfidos *Pentalonia nigronervosa*, *Rhopalosiphum maidis* y *Aphis gossypii*, las dos últimas especies son exclusivas de BBrMV (Rameh, 2018). Sin embargo, la principal fuente de diseminación es por rizomas infectados utilizados como insumos para la reproducción de plantas (CATIE, 2016; Biju 2010).

Además de la descripción de los síntomas que causa cada patógeno asociado a cardamomo, también hay disponibles documentos, artículos, páginas, entre otros, sobre metodologías para controlar la enfermedad, pero al igual que los reportes de cada patógeno son publicaciones extranjeras y la mayoría es difundida en idioma inglés, lo cual limita el acceso para

la mayoría de productores. En Guatemala, el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2015) propuso un plan de Manejo Integrado de Plagas para prevenir y controlar la plaga de trips, la cual ha mermado la calidad del producto en los últimos años. Es necesario contar con información sobre los principales patógenos que están presentes en

el cultivo de cardamomo para establecer límites de control y tomar medidas oportunas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue conocer la diversidad de microorganismos fitopatógenos asociados al cultivo de cardamomo (*Elettaria cardamomum*) en la Franja Transversal del Norte de Guatemala.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de muestras

El estudio se realizó en los departamentos de Alta Verapaz y Quiché. Los dos departamentos en conjunto se dividieron en 10 regiones incluyendo uno o más municipios: I = Playa Grande-Ixcán; II = Chajul y Nebaj; III = Cobán; IV = Uspantán y Chicamán; V = Chisec; VI = San Pedro Carchá; VII = Fray Bartolomé de las Casas y Chahal; VIII = Lanquín y Cahabón; IX = Senahú, Tamahú y Tukurú; X = Panzós y Santa Catalina La Tinta. Durante los meses de agosto 2019 a febrero 2020 se colectó un total de 380 muestras de tres diferentes cultivos: cardamomo (n=359), banano (n=19) y caña de azúcar (n=2). Cada región representó entre el 8.16% al 10.26% del total de muestras colectadas, a excepción de las regiones I, VI y VII donde la colecta representó el 7.89%, 11.84% y 17.37%, respectivamente.

La colecta de muestras fue dirigida a plantas de cardamomo con sintomatología de virus y/u hongos, además se colectó muestras de plantas de caña de azúcar y banano que se encontraban cerca o dentro de la parcela para identificar hospederos alternos que podrían ser fuente de transmisión de virus. Se tomaron dos o tres hojas jóvenes con síntomas, se colocaron en una bolsa hermética quitándole el exceso de aire y se almacenaron en frío (4°C) para su transporte. De algunas plantas con síntomas en el rizoma, se incluyó éste también y se almacenó de la misma forma que las hojas para su envío. Las muestras se recibieron y analizaron en el Laboratorio de Protección Vegetal (LPV), de la Universidad del Valle de Guatemala (Campus Central). Con base en los signos y síntomas, a cada muestra se le realizó el análisis de detección de hongos (n=370) y virus (n=345).

Identificación de virus

De las hojas jóvenes con síntomas de virus se extrajo el ARN con modificaciones al método de extracción de CTAB y fenol: cloroformo de Locali *et al.* (1987). Luego de la extracción de ARN, se realizó la transcripción reversa en dos pasos con el kit GoScript™ Reverse Transcriptase (Promega®). Con el ADNc se realizó la detección por PCR de la familia *Potyviridae*

y tres especies de virus de esta familia: *SCMV*, *CdMV* y *BBrMV* (Zheng *et al.*, 2010; Fu, W. *et al.*, 2015; Biju, C. *et al.*, 2010; Rodoni, B.C. *et al.*, 1997). Aunque el virus de *Sugarcane Mosaic Virus* (*SCMV*, por sus siglas en inglés) no había sido reportado en cardamomo, se incluyó en este estudio debido a que los síntomas que causa son similares a los reportados por *BBrMV* y *CdMV*, pero en caña de azúcar y pertenece también a la familia *Potyviridae*, género *Potyvirus*. Los productos de PCR fueron visualizados por electroforesis con gel de agarosa al 1% con buffer TAE.

Se seleccionaron algunos productos positivos de los PCR analizados para confirmar el resultado, o para determinar la especie de la familia *Potyviridae*, si el resultado de este PCR fue positivo pero negativo para los tres virus específicos. Los productos de PCR se purificaron con el kit SpinPrep™ PCR Clean-up de Merck Millipore® y se mandaron a secuenciar a Macrogen® de Corea. Las secuencias de cada muestra se compararon con secuencias de la base de datos del GenBank y con la herramienta BLAST de NCBI. Las siguientes secuencias de genomas fueron utilizadas para el análisis comparativo: NC_003398.1 (*SCMV*), NC_039088.1 (*CdMV*) y NC_009745.1 (*BBrMV*), además de fragmentos cortos de estos virus disponibles en la base de datos.

Aislamiento e identificación de hongos

Se tomó un segmento de las hojas o rizomas con síntomas de manchas necróticas secas, manchas necróticas con halo amarillo o con presencia de micelio. El segmento se desinfectó con cloro al 10% por 1 minuto, luego con etanol 70% por 1 minuto y se lavó el exceso de cloro y etanol con agua estéril por 2 minutos; y por último, se secó con papel absorbente estéril. Una parte del segmento desinfectado se colocó en agar de papa dextrosa (PDA) con antibiótico y se incubó a (~28°C) por 2 a 8 días para permitir el crecimiento y esporulación del hongo. Luego del periodo de incubación, se hicieron preparaciones del micelio con azul de lactofenol para visualizar las esporas e identificar a los diferentes hongos por medio de la clave de Barnett y Hunter (1972).

Análisis de la información

Se realizaron mapas de la incidencia de SCMV, y de severidad para los hongos fitopatógenos con mayor incidencia en los sitios muestreados. La severidad se estimó en función del porcentaje de muestras positivas por sitio, y se clasificó en

cuatro categorías (muy bajo/ausente, bajo, medio y alto). Para la generación de los mapas se utilizó el programa QGIS versión 3.12.3 - București. Las gráficas, cuadros descriptivos, determinación de prevalencias y límites de confianza fueron generados a partir de Microsoft® Excel 2016.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de virus

Para la identificación de los virus de la familia *Potyviridae* presentes en las plantaciones de cardamomo se utilizaron cuatro distintos marcadores: *Potyvirus* general (detección de familia *Potyviridae*), SCMV, CdMV y BBrMV. Con los marcadores específicos se detectó el virus SCMV en el 14.49% de las muestras analizadas ($n=345$) y no se encontraron casos positivos de CdMV y BBrMV. En cuanto a la prueba de *Potyvirus* general, el 11.59% fueron positivas y la diferencia de positividad entre SCMV y esta prueba se puede deber a una menor sensibilidad de los marcadores (Sussman, 2002).

La detección de SCMV se confirmó por un análisis BLAST de la secuencias de productos de PCR positivos para SCMV y *Potyvirus* general y se compararon con secuencias publicadas de SCMV, CdMV y BBrMV. En todos los casos, los porcentajes más altos de similitud fueron con SCMV (94.61% - 100.00%). En un estudio realizado por Siljo y colaboradores (2011) indican que SCMV, BBrMV y CdMV tienen secuencias suficientemente distintas para clasificarlos como diferentes especies pero guardan cierto nivel de relación. En el mismo estudio, encontraron que el virus BBrMV estaba presente en cardamomo por similitudes de 94% al 100%, mientras que la similitud con SCMV fue de 60% y con CdMV de 23%. Con base en la revisión de literatura publicada, antes de este estudio no había reportes de SCMV en cardamomo.

Anteriormente, en los estudios realizados durante los años 70's y 80's, el virus encontrado en el cardamomo de la Costa Sur fue CdMV (De León, 1986; Bonilla, 1985; Badulescu, 1985). En el presente estudio no se incluyó el área de la Costa Sur para el muestreo, por lo que se propone que en futuras investigaciones se podría establecer si la presencia de cada virus está condicionada al área geográfica. También permitiría saber si SCMV se encuentra en las

plantaciones de la Costa Sur ya que en los estudios previos no se incluyó dentro del plan de detección, aunque es posible que luego de 40 años el virus CdMV fuera reemplazado por SCMV, el cual se ha reportado en plantaciones de caña de azúcar por varios años, aunque a las variedades sembradas de caña no les ha causado mayor daño (Ovalle, 2018).

La prevalencia global de SCMV en este estudio fue 14.49% (IC95%: 10.77 - 18.21) y en cada región existe al menos un caso positivo a excepción de la región I, como se puede observar en el Cuadro 1. En la región VII (Municipios de Chajal y Fray Bartolomé de las Casas) se registró la prevalencia más alta con 34.48% (IC95%: 22.14 - 46.82) casos, seguido de las regiones VI (San Pedro Carchá) y III (Cobán) con 17.78% (IC95%: 6.48 - 29.07) y 16.67% (IC95%: 4.32 - 29.01), respectivamente. En la Figura 1 se puede observar la distribución de casos positivos de SCMV según parcelas.

La región III (Cobán) es la que tiene más casos de parcelas positivas con SCMV y dos de ellas corresponden a parcelas con plantas de banano infectadas. En la región VI, se encontró una muestra de caña de azúcar positiva para SCMV y se ubican el resto de muestras positivas en banano. En total, se detectó SCMV en 6 de 13 plantas de banano y en 1 de 2 plantas de caña de azúcar y aunque no fue posible establecer el origen de la infección en este estudio, la presencia de SCMV en tres hospederos indica que estos cultivos pueden ser fuente de transmisión para el virus.

A pesar que el virus SCMV no ha sido reportado en cardamomo, se sabe que existen diferentes cepas y según el cultivo donde se han encontrado, se les ha asignado diferentes nombres: *Abaca Mosaic Virus*, *Maize Dwarf Virus*, *Grass Mosaic Virus*, *Sorghum Concentric Ringspot Virus*, *Sorghum Red Stripe Virus*, entre otros (CABI, 2019). En Guatemala, está presente el virus en caña de azúcar pero actualmente no representa un riesgo para el cultivo por el uso de variedades

Cuadro 1. Prevalencia de virus y hongos fitopatógenos aislados de cardamomo, banano y caña de azúcar.

Departamento	SCMV		<i>Colletotrichum sp.</i>		<i>Fusarium sp.</i>		<i>Nigrospora sp.</i>		<i>Curvularia sp.</i>	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Quiché	4	4.1%	87	89.7%	10	10.3%	2	2.1%	8	8.2%
I Ixcán	0	0.0%	27	90.0%	3	10.0%	0	0.0%	5	16.7%
II Chajul y Nebaj	2	5.4%	30	81.1%	7	18.9%	1	2.7%	2	1.4%
IV Chicamán y Uspantán	2	6.7%	30	100.0%	0	0.0%	1	3.3%	1	3.3%
Alta Verapaz	46	18.5%	217	79.5%	42	15.4%	33	12.1%	17	6.2%
III Cobán	6	16.7%	31	83.8%	6	16.2%	11	29.7%	3	8.1%
V Chisec	4	12.5%	28	87.5%	2	6.3%	0	0.0%	6	18.8%
VI San Pedro Carchá	8	17.8%	37	82.2%	4	8.9%	7	15.6%	2	4.4%
VII Chajal y Fray Bartolomé de Las Casas	20	34.5%	43	68.3%	12	19.0%	1	1.6%	3	4.8%
VIII Cahabón y Lanquín	1	8.3%	24	77.4%	9	29.0%	14	45.2%	2	6.5%
IX Senahú, Tamahú y Tukurú	2	6.3%	31	96.9%	4	12.5%	0	0.0%	0	0.0%
X Panzos, Santa Catalina La Tinta	5	15.2%	23	69.7%	5	13.9%	0	0.0%	1	3.0%
Total	50	14.5%	304	82.2%	52	14.1%	35	9.5%	25	6.8%

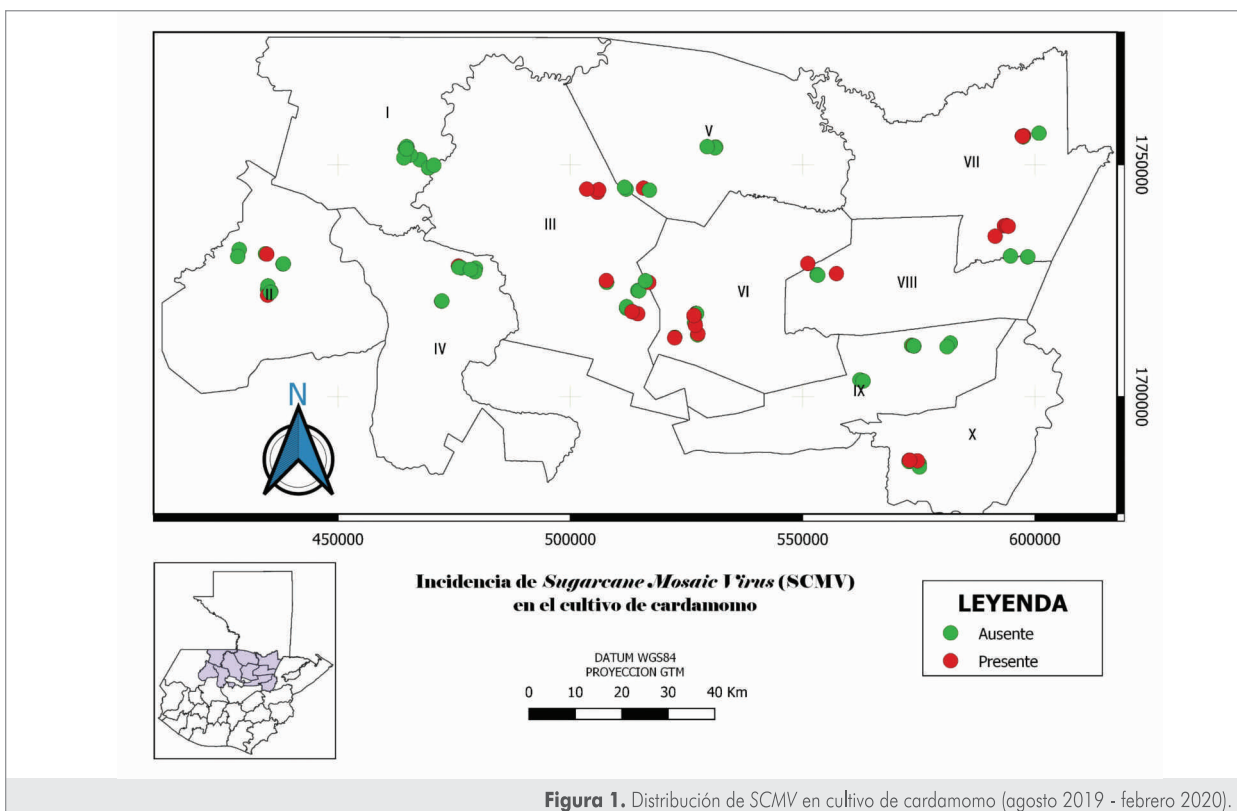


Figura 1. Distribución de SCMV en cultivo de cardamomo (agosto 2019 - febrero 2020).

resistentes (MAGA, 2016; Melgar et al., 2012; Ovalle, 2018). Según los reportes de transmisión de SCMV en caña de azúcar, los áfidos podrían ser la causa de diseminación del virus entre caña de azúcar, cardamomo y banano; las especies de áfidos *Rhopalosiphum maidis*, *Histeronerura setariae* y *Toxoptera graminum* se han reportado como vectores de este virus (Ovalle, 2018). En Australia, indican que *Aphis gossypii* y *Myzus persicae* también pueden transmitir el virus entre el cultivo de caña de azúcar (Noone et al., 1994).

La transmisión, tanto de SCMV como CdMV y BBrMV, por el vector ocurre de forma no persistente, esto significa que inmediatamente después de que el áfido se alimenta de una planta infectada no necesita un periodo de incubación para poder infectar a otra planta (Ng y Falk, 2006). Durante el periodo de recolección de muestras, no se observaron poblaciones elevadas de áfidos en el campo. Los áfidos son insectos de paso que se alimentan rápidamente del cultivo y no siempre se logran ver en cardamomo ya que no es atractivo para su alimentación, aunque sí están presentes en otros hospederos como banano, caña de azúcar y maíz (Hentze, 1982).

Luego de la introducción del virus en el cardamomo, la principal causa de diseminación de SCMV se podría deber a la utilización de rizomas infectados por la propagación del cultivo (CATIE, 2016; Biju, 2010). Melgar y colaboradores (2014), únicamente como formas de transmisión y diseminación del virus reportan a trozos de semilla o semillas estaca y a los áfidos: *Rhopalosiphum maidis*, *Hysteroneura setariae* y *Toxoptera graminum*. Otros estudios indican que el virus no se transmite mecánicamente por herramientas (CABI, 2019).

Uno de los problemas de este virus es la gran cantidad de especies vegetales (malezas) y otros cultivos que pueden servir como reservorios. Un estudio más extenso sobre los posibles hospederos de este virus en los campos de cardamomo debe ser llevado a cabo, se tiene la hipótesis de que plantas de banano y caña de azúcar en estos campos pueden ser las fuentes de inóculo para las plantaciones de cardamomo pero, en este estudio la muestra de otros hospederos no fue representativa y es necesario ampliar el rango incluyendo malezas. En CABI (2019) se reportan aproximadamente 15 diferentes malezas que pueden ser hospederos de este virus, entre las cuales se encuentra el maíz, varias especies de gramíneas y cereales.

Además del control rutinario de prácticas culturales de higiene y de vectores, es importante seleccionar adecuadamente los rizomas que se utilizarán para la propagación del cardamomo. Se debe asegurar que los rizomas no provengan de plantas con síntomas de virus (mosaico rayado con tonalidades que van desde amarillo - verde claro - verde oscuro). También

es importante que los productores tengan control del personal que trabaja en las fincas, ya que por acercamiento con los dueños de las parcelas, se sabe que algunos participan en la época de zafra y si no se toman precauciones pueden ser una fuente de diseminación del virus. Por otro lado, no se recomienda la rotación de cultivos de cardamomo, caña de azúcar y banano o que se tenga una mezcla de ellos dentro de una parcela, ya que aunque el cardamomo no es atractivo para los áfidos, los otros cultivos sí y son una fuente de reproducción del áfido durante las épocas que no se cultiva cardamomo.

Identificación de hongos

Se aislaron 18 géneros de hongos fitopatógenos a partir de 370 muestras de cardamomo, banano y caña de azúcar. Como se puede observar en el cuadro 1, el que se encontró con más frecuencia fue *Colletotrichum* sp., que se identificó en el 82.2% (IC95%: 78.3 - 86.1) de las muestras que presentaban puntos o manchas necróticas foliares. Otros hongos que se encontraron en un porcentaje significativo de muestras fueron *Fusarium* sp. (14.1%, IC95%: 10.5 - 17.6), *Nigrospora* sp. (9.5%, IC95%: 6.5 - 12.5) y *Curvularia* sp. (6.8%, IC95%: 4.2 - 9.3), los últimos dos asociados a puntos necróticos foliares y el primero a pudrición y marchitez. Los géneros *Alternaria* sp., *Geotrichum* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Corynespora* sp., *Stemphylium* sp., *Pyriculariopsis* sp. y *Bipolaris* sp. se encontraron en menos del 1% de las muestras. También se reportaron hongos que a pesar de ser fitopatógenos, también son ambientales y afectan principalmente en la etapa post-cosecha, entre ellos *Rhizopus* sp., *Mucor* sp. y *Cladosporium* sp. Por último, se aislaron dos géneros de hongos que podrían ser benéficos, *Trichoderma* sp. y *Metarhizium* sp. que son utilizados como control biológico por inhibir el crecimiento de fitopatógenos pero se debe confirmar la especie por pruebas moleculares.

Como se puede ver en el Cuadro 1 y en la Figura 2, en las diez regiones de estudio de ambos departamentos predomina *Colletotrichum* spp, su prevalencia en Alta Verapaz es del 79.5% (IC95%: 74.7 - 84.3) y en Quiché del 89.7% (IC95%: 83.6 - 95.8). En todas las regiones la presencia de este hongo es mayor al 80% a excepción de las regiones VII, VIII y X de Alta Verapaz con 68.3% (IC95%: 56.7 - 79.8), 77.4% (IC95%: 62.5 - 92.4) y 69.7% (IC95%: 53.8 - 85.6), respectivamente, como se puede comprobar también con el grado de severidad mostrado en la Figura 2. Los hongos pertenecientes a este género son los agentes causales de la antracnosis del cardamomo, esta es una enfermedad devastadora, ampliamente dispersa y ocurre tanto en la estación lluviosa como en la seca (George 1977; Manju, MJ et al., 2012). En la República de la India, que es uno de los principales países productores de cardamomo, se han

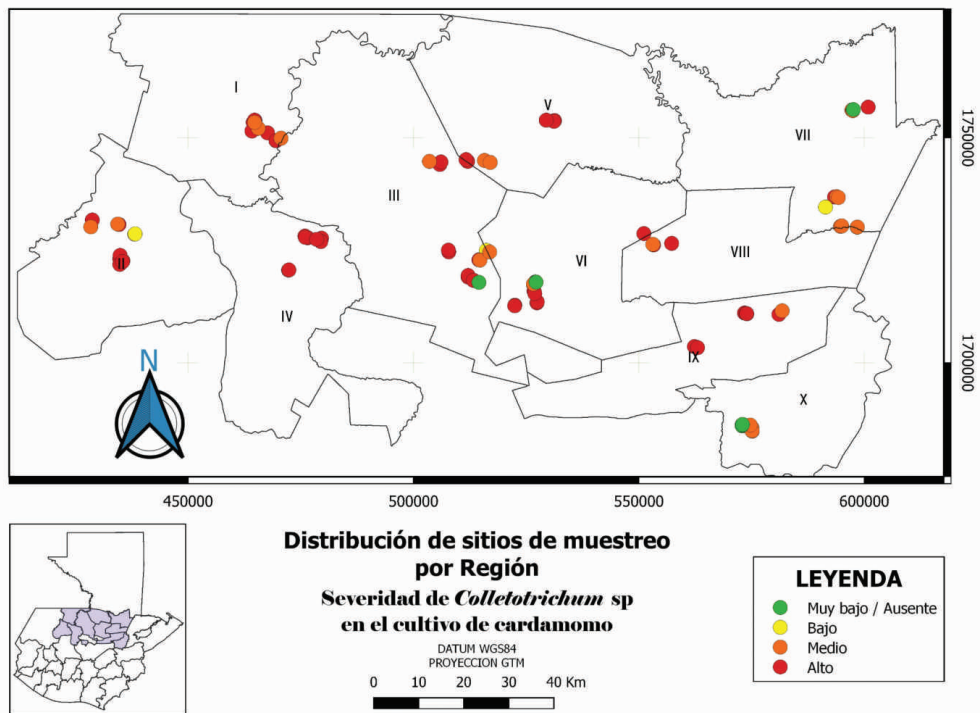


Figura 2. Distribución de *Colletotrichum* sp. en cultivo de cardamomo (agosto 2019 - febrero 2020).

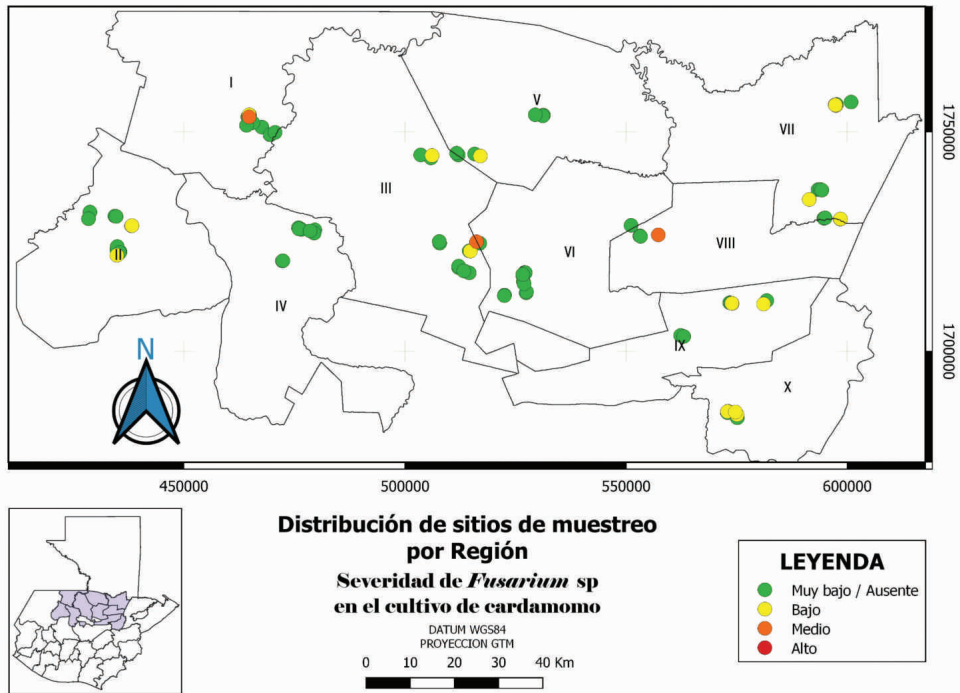


Figura 3. Distribución de *Fusarium* sp. en cultivo de cardamomo (agosto 2019 - febrero 2020).

reportado pérdidas anuales del 3 al 17% debido a la especie *Colletotrichum gloeosporioides* (George, 1977; Manju *et al.*, 2012) y de hasta el 40% debido a otras especies del género (Bhuvaneswari *et al.*, 2017).

Los síntomas característicos del género *Colletotrichum* spp. que se describen en la literatura y que coinciden con los encontrados en este estudio incluyen el desarrollo de parches mucilaginosos cloróticos y regiones hundidas con puntos necróticos que durante el desarrollo de la enfermedad se fusionan para formar lesiones necróticas y áreas afectadas con apariencia de quemadura (Bhuvaneswari *et al.*, 2017; Praveena *et al.*, 2012; Manju *et al.*, 2018). Según un estudio de Arango *et al.* (2010), los daños a la planta se deben a agentes fitotóxicos producidos por el patógeno que son estables a altas temperaturas, por lo cual es fundamental desarrollar estrategias para evitar la diseminación de conidios, que son las esporas asexuales que se dispersan principalmente por el viento y que germinan al entrar en contacto con los tejidos del hospedero. Debido a que las especies del género *Colletotrichum* son cosmopolitas y afectan a diversidad de cultivos (Freeman y Rodríguez, 1995; Weir *et al.*, 2012; Jayawardena *et al.*, 2016), es importante realizar un monitoreo de las plantaciones aledañas con el fin de detectar a tiempo focos de propagación de la enfermedad como parte del manejo integrado de plagas.

Fusarium es un género de hongo que representó una prevalencia del 10.3% (IC95%: 4.23 - 16.3) en Quiché y 15.4% (IC95%: 11.1 - 19.7) en Alta Verapaz. La región con más prevalencia de este hongo en Quiché fue la región II (18.9%, IC95%: 6.1 - 31.7). En Alta Verapaz, se encuentra *Fusarium* en todas las regiones, resaltando las regiones III (16.2%, IC95%: 4.2 - 28.3), VII (19.0%, IC95%: 9.3 - 28.8) y VIII (29.0%, IC95%: 12.8 - 45.3) como las que tienen mayor presencia de este hongo. En las regiones III y VII se encontró banano cultivado cerca de cardamomo, en el resto de regiones podría haber estado anteriormente. Además, en las regiones I, III y VIII se encuentran parcelas con alta severidad por haber más casos positivos en una misma parcela (Figura 3).

El género *Fusarium* incluye a varias especies de fitopatógenos. La especie *Fusarium oxysporum* es una amenaza potencial para el cultivo del cardamomo, al ser el agente causal de enfermedades de la raíz y de necrosis en los haces vasculares de las plantas. Entre los síntomas que ocasiona se encuentra la pudrición de la raíz, el rizoma y el tallo, también se puede observar clorosis y marchitez foliar (Vijayan *et al.*, 2013). El patógeno ingresa a los tejidos del hospedero por lesiones asociadas al manejo de la plantación o por nematodos. Puede permanecer en el suelo y materia orgánica en forma de clamidosporas que se dispersan por herramientas de poda, transporte de material vegetal infectado por el viento y agua de riego. Su crecimiento es favorecido por una baja intensidad

de luz solar y temperaturas de 20 °C con alta humedad relativa, aunque sus esporas tienen la capacidad de germinar en un rango de temperatura que oscila entre los 12 y 28 °C. Otro factor que favorece su presencia en las plantaciones puede ser las condiciones del suelo como alta acidez y bajas concentraciones de nitrógeno (Janssen, 2002). Un adecuado control de las condiciones del suelo, manejo cultural como control de sombra, desinfección de herramientas, uso de *Trichoderma* spp. y uso de material vegetal resistente son estrategias que deben incluirse para prevención.

Nigrospora spp. es otro hongo fitopatógeno que está presente en Alta Verapaz en un 12.1% (IC95%: 8.2-16.0). Es un hongo filamentoso de distribución cosmopolita con un amplio rango de hospederos. La mayoría de los casos de *Nigrospora* se presentaron en las regiones III (29.7%, IC95%: 14.8 - 44.7) y VIII (45.2%, IC95%: 27.3 - 63.0) de Alta Verapaz, además de que en estas y en la región VI es donde se encuentran las parcelas con casos severos como se observa en la Figura 4. En Quiché se encontraron únicamente dos plantas positivas con este hongo, una de ellas fue caña de azúcar.

Este hongo se puede encontrar en el ambiente, en el suelo y en las hojas de las plantas produciendo puntos necróticos foliares y se ve favorecido por ambientes de alta humedad (Alam *et al.*, 2017; Standen, 1941). A este grupo pertenecen especies endófitas que se han aislado principalmente de tejido foliar y se han reportado como patógenos importantes causantes de pérdidas económicas en el sector agrícola (Uzor *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017). *Nigrospora* spp. no se encuentra reportado para cardamomo, sin embargo, fue uno de los hongos encontrados con mayor frecuencia en este estudio, principalmente en Alta Verapaz. Especies pertenecientes al género, como *Nigrospora oryzae*, han causado daños en cultivos como maíz, afectando principalmente tejidos jóvenes de hojas, tallos y raíces.

Curvularia sp. otro hongo saprófito, fitopatógeno, facultativo y cosmopolita. Este hongo se encontró en los dos departamentos y en todas las regiones excepto en la región IX de Alta Verapaz, pero en menor proporción que los últimos tres géneros mencionados. La prevalencia de este hongo en Quiché fue del 8.25% (IC95%: 2.7- 13.7), mientras que en Alta Verapaz fue del 6.2% (IC95%: 3. 4 - 9.1). En la región I de Quiché se encontraron la mayoría de casos positivos (5 muestras) y en la región V de Alta Verapaz se encontraron 6 muestras con este género de hongo presente, en el resto de regiones la presencia de el hongo estuvo por debajo de 5 muestras y en la región IX no se identificó.

El crecimiento de *Curvularia* spp. es favorecido en climas cálidos y húmedos (Bengyella *et al.*, 2019). Es el agente causal del tizón y puntos necróticos; además afecta principalmente a monocotiledóneas, entre las cuáles se

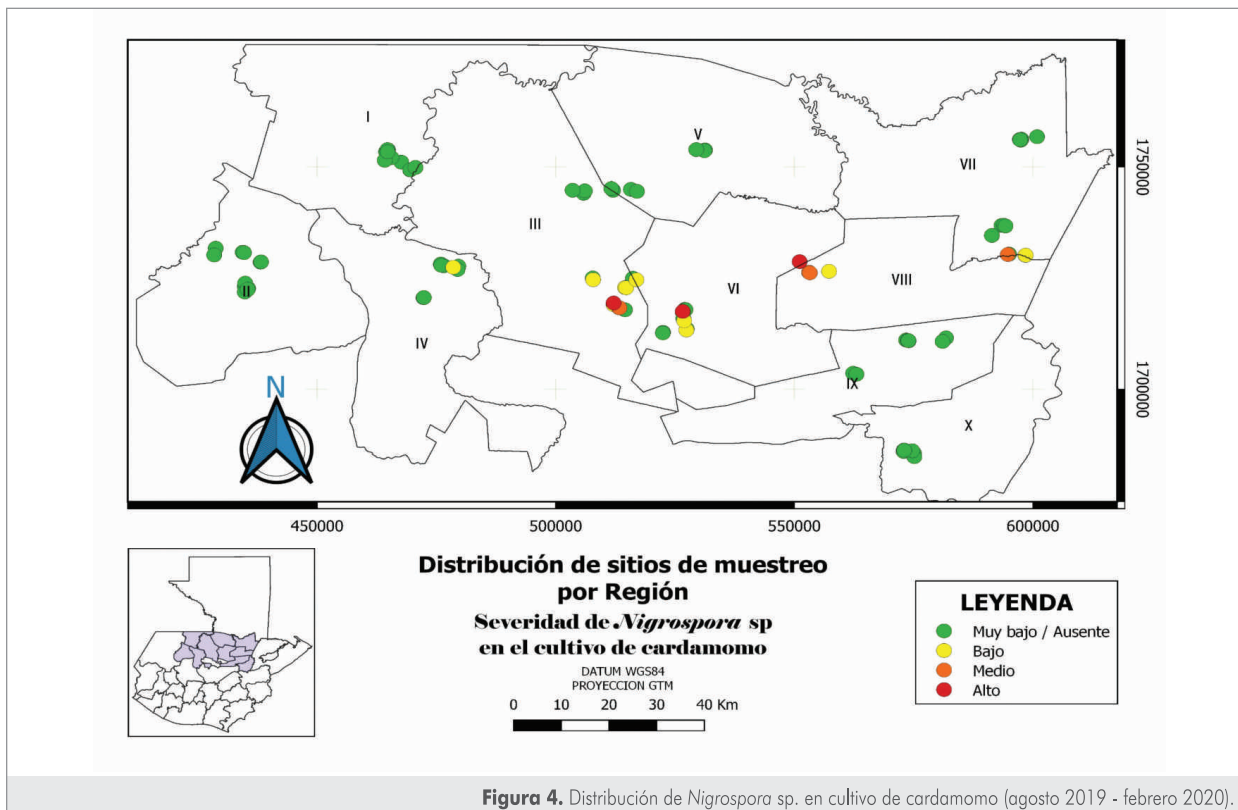


Figura 4. Distribución de *Nigrospora* sp. en cultivo de cardamomo (agosto 2019 - febrero 2020).

encuentra el cardamomo. Entre los síntomas que genera se encuentra la clorosis que inicia en la parte superior de la planta y continúa en dirección descendente, al avanzar la infección comienzan a ser visibles los puntos necróticos en las hojas más maduras (Amaradasa et al., 2014; Cui et al., 2020). Infecta a los tejidos de las plantas por medio de esporas asexuales (conidios) y esporas sexuales (ascosporas). Puede sobrevivir por largos períodos en el suelo y afectar a las plantas cuando se presentan las condiciones óptimas para su germinación y colonización (Gao et al., 2012).

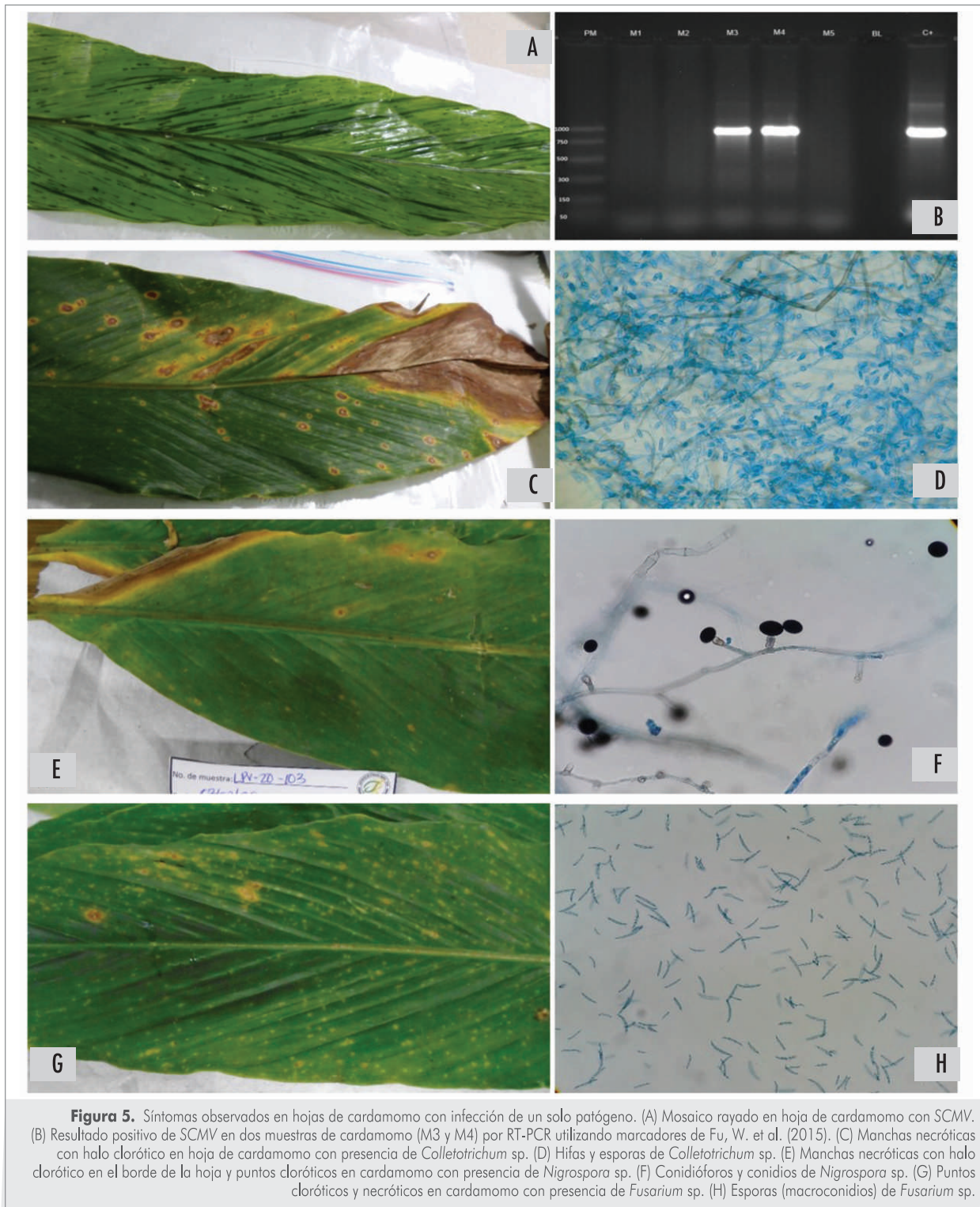
Rhizopus fue otro hongo identificado. Este es un hongo saprófito oportunista que en general no hace daño más que cuando se establecen condiciones adecuadas de alta humedad y temperatura pudiendo afectar el fruto de los cultivos y en la etapa post-cosecha. Este hongo se encontró únicamente en 5 muestras de la región VII (Alta Verapaz) y en 3 muestras de la región II (Quiché).

Finalmente, se identificaron también hongos que se pueden usar para el control de otros hongos y oomycetes fitopatógenos. *Trichoderma harzianum* es un eficiente control para *Fusarium* spp. (Naglot et al., 2015), *Phytophthora* spp. (Infante et al., 2009), *Pythium* spp. (Elad et al., 1982), *Botrytis cinerea* (Kusmanovska et al., 2012) y *Rhizoctonia* spp. (Hoyos et al., 2008). *Trichoderma* spp. se encontró en los dos

departamentos, pero no en todas las regiones. En Quiché únicamente se aisló de las muestras de la región IV, área donde no se encontró *Fusarium* spp. En Alta Verapaz, se encontró únicamente en las regiones III, V y VI, coincidentemente en estas regiones la presencia de *Fusarium* sp. presentó los niveles más bajos, a pesar de la presencia de banano.

Es importante llevar a cabo más muestreos para identificar la presencia de *Trichoderma* en el suelo, ya que este estudio sugiere que con la incidencia de *Trichoderma* podría estar asociada a la ausencia de *Fusarium*, sin embargo, es necesario realizar estudios para comprobarlo. El hongo se puede aislar y multiplicar de forma que se puedan hacer pruebas de antagonismo contra los hongos que se encuentren en esos campos. El otro hongo para control biológico, principalmente para insectos plaga como mosca blanca y otros, es *Metarhizium* spp., éste se encontró únicamente en Alta Verapaz en las regiones VI, VIII, IX y X.

En el limitado número de muestras de banano (3 provenientes de Quiché y 16 de Alta Verapaz) y de caña de azúcar (una de Quiché y otra de Alta Verapaz), también se analizaron los hongos patógenos presentes para poder saber si son potenciales reservorios de hongos para el cardamomo, ya que estas plantas tienden a sembrarse en las mismas parcelas.



En las muestras provenientes de Quiché, se encontró que las muestras de banano presentaron *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp. y *Mucor* sp. Las dos muestras de caña de azúcar que se recolectaron presentaron una infección por *Colletotrichum* sp. y de *Nigrospora* sp. En vista de estos resultados, se

considera que es conveniente hacer un muestreo más extenso de estas plantas en las diferentes regiones que siembran cardamomo. Además se considera que se deben determinar las especies de los hongos como *Fusarium* spp. ya que se ha reportado la especie *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 como

un problema importante de banano y es la causante de la marchitez del banano o Mal de Panamá (Carr *et al.*, 2017). El efecto sobre cardamomo no se ha reportado.

Síntomas identificados en cardamomo

Todas las muestras analizadas presentaron al menos un síntoma de virus u hongos. Los síntomas registrados y según el orden de frecuencia fueron: manchas necróticas con halo clorótico (67.30%, IC95%: 62.51 - 72.08), necrosis en los bordes de las hojas (49.5%, IC95%: 44.4 - 54.6), necrosis en la punta de la hoja (48.6%, IC95%: 43.5 - 53.7), mosaico rayado (33.8%; IC95%: 29.0 - 38.6) y puntos cloróticos (33.2%, IC95%: 28.4 - 38.1). Estos síntomas son típicos de enfermedades causadas por hongos, a excepción del mosaico rayado en las hojas que está asociado a virus.

El mosaico rayado estuvo presente en el 48.0%, (IC95%: 34.0 - 62.0) de las muestras positivas para SCMV. El resto de muestras positivas para SCMV presentaron principalmente: manchas necróticas con halo clorótico en la lámina de la hoja, manchas necróticas con centro seco en la lámina de la hoja, necrosis en el tallo y en las venas. La presencia de síntomas diferentes al mosaico rayado en el resto de muestras

se debe a la infección mixta observada. Los síntomas de necrosis pudieron encubrir el mosaico sobre la lámina de la hoja, principalmente en estados avanzados de alguna enfermedad fúngica.

Entre las enfermedades fúngicas que se han reportado para cardamomo se encuentra el tizón floral, causado por *Colletotrichum gloesporioides*, que provoca lesiones cloróticas en la hoja que luego se toman necróticas con un halo amarillo y que eventualmente se fusionan (Manju *et al.*, 2018). La alta frecuencia de este síntoma corrobora la identificación de *Colletotrichum* sp. como el hongo más prevalente de este estudio. Sin embargo, no fue el único síntoma reportado para este hongo e incluso para los otros dos hongos más prevalentes (*Nigrospora* sp. y *Fusarium* sp.) se registraron los mismos síntomas. Esto se debe a la infección mixta por más de un hongo, y en algunos casos también con virus, observada en el 37.6% de las muestras (IC95%: 32.6 - 42.5). En los casos de infección por un solo patógeno, el 85.2% (IC95%: 80.5 - 89.9) era *Colletotrichum* sp. Para confirmar la representación sintomatológica de cada patógeno se recomienda realizar inoculaciones en plantas indicadoras utilizando aislados de cada hongo.

CONCLUSIONES

- Se encontró la presencia del *Potyvirus* específico SCMV en la Franja Transversal del Norte sustituyendo al virus CdMV luego de más de 40 años desde su detección en la Costa Sur de Guatemala. A diferencia de CdMV, y hasta el momento, SCMV no ha causado pérdidas en el cultivo de cardamomo pero es necesario continuar con la vigilancia para observar el desarrollo de este virus en el cultivo.
- Las regiones con más casos de SCMV en cardamomo tienen en común que también fue detectado el virus en banano y caña de azúcar. Se sugiere que la presencia de estos cultivos puede ser considerada como factor de riesgo para la infección de SCMV en cardamomo. Sin embargo, no en todas las regiones fue posible coleccionar muestras de hospederos alternos por lo que es necesario evaluar la relación epidemiológica entre hospederos, virus e incluso, vectores.
- *Colletotrichum* sp., fue el género de hongo que prevaleció sobre el resto en los departamentos de Quiché y Alta

Verapaz, por lo tanto es importante consolidar medidas de control a corto plazo para evitar daños al cardamomo cultivado en la Franja Transversal del Norte. Además, a partir de este estudio será posible establecer una línea base para otros fitopatógenos que en un futuro podrían representar un riesgo para el cultivo, como *Fusarium* sp., *Nigrospora* sp. y *Curvularia* sp.

- Se encontró la presencia de *Trichoderma* sp. y *Metarhizium* sp, ambos reportados como hongos benéficos que deben ser aprovechados como una estrategia para el control de plagas y enfermedades, especialmente porque ya están presentes en el suelo donde cultiva cardamomo. En este estudio se encontró evidencia de que en los sitios con baja presencia de fitopatógenos, como *Fusarium* sp., hay mayor presencia de microorganismos benéficos, sin embargo son necesarios más estudios.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo financiero del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés), al Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) y al programa de Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria (CRIA) por su compromiso con la investigación al lanzar la convocatoria para el estudio de la cadena de producción del cardamomo y a la Universidad

del Valle de Guatemala (UVG) por permitir la ejecución de este proyecto. También, se agradece el apoyo del Ing. Luis Andrés Arévalo por la elaboración de los mapas de distribución de este artículo. Por último, reconocemos el labor del personal técnico y administrativo del Laboratorio de Protección Vegetal ya que este estudio fue culminado gracias a su arduo trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alam, M, A. Rehman, M. Gleason, K. Riaz, M. Saira, S. Aslam, H. Rosli y S. Muhammad. (2017). First report of *Nigrospora sphaerica* causing leaf spot of Kinnow mandarin in Pakistan. *Journal of Plant Pathology*. 99:295
- Aldana, J. (2012). Impactos socioeconómicos del beneficiado de cardamomo (*Eletraria cardaomum*, Zingiberaceae), en la Asociación de Productores Indígenas La Catarata (APIC), Lanquín, Alta Verapaz, del 2006 al 2010 (Tesis de pregrado). Universidad Rafael Landívar.
- Amaradasa, B. y K. Amundsen. (2014). First Report of *Curvularia inaequalis* and *Bipolaris spicifera* Causing Leaf Blight of Buffalograss in Nebraska. *Plant Disease*. 98. 279. 10.1094/PDIS-05-13-0487-PDN
- Arango Varela, S., R. Hoyos y L. Afandor. (2010). Actividad Fitotóxica del Filtrado Crudo de *Colletotrichum gloeosporioides* en Cardamomo (*Elettaria cardamomum*). *Revista Tecnológicas*. DOI: 10.22430/22565337.284.
- Badulescu Valle, R.V. (1985). Transmisión mecánica del virus del mosaico del cardamomo (VMCar) (Tesis de pregrado). Universidad del Valle de Guatemala.
- Barnett, H. L. y B. Hunter. (1972). Illustrated genera of imperfect fungi. 3rd ed. Burgess Publishing Company. 241 pp.
- Bengyella L, S. Iftikhar, K. Nawaz, D.J. Fonmboh, E.L. Yekwa, R.C. Jones, Y.M.T. Njanu y P. Roy. (2019). Biotechnological application of endophytic filamentous bipolaris and *Curvularia*: a review on bioeconomy impact. *World J Microbiol Biotechnol*. 35(5):69.
- Biju, C., A. Siljo y A. Bhat. (2010). Survey and RT-PCR based detection of Cardamom mosaic virus affecting Small Cardamom in India. *Indian Journal of Virology* 21(2):148-150.
- Bonilla-Aguirre, O.D. (1983). Busca de fuentes de resistencia y métodos de diagnosis al virus del mosaico en cardamomo (Tesis de pregrado). Universidad del Valle de Guatemala.
- Bhuvaneswari, S., N. Sripriya, S. Achuthan y U. Prakash. (2017). First report of *Colletotrichum falcatum* causing anthracnose in cardamom. *Plant Pathology & Quarantine*. 7(2): 175-179.
- CABI. (2019). Sugarcane mosaic virus (mosaic of abaca). Disponible en: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/49801>. Con acceso: 04 de mayo de 2020.
- Carr, C. M. Sánchez, F. Alfaro, R. Villalta, J. Sandoval y M. Gúzman. (2017). Marchitez por Fusarium o mal de Panamá del banano y otras musáceas. CORBANA. Hoja Divulgativa. No. 11.
- Chen, G. (2015). Plan de manejo agronómico del cultivo de cardamomo (*Elettaria cardamomum* L.) (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala.
- CATIE. (2016). Análisis de la cadena de cardamomo región norte de Guatemala. IICA-USDA. 37pp.
- Cui, Wen-Li, L. Xiao-Qiang, J.Y. Bian, X.L., Qi, L. De-Wei y L. Huang. (2020). *Curvularia spicifera* and *C. muehlenbeckiae* causing leaf blight on *Cunninghamia lanceolata*. *Plant Pathology*. 10.1111/ppa.13198.
- De León, P. (1986). Transmisión del virus del mosaico del cardamomo (VMCar) por el áfido *Pentalonia nigronervosa* Coq. (Homóptera: Aphididae) en Guatemala (Tesis de pregrado). Universidad del Valle de Guatemala.
- Elad Y., I. Chet y Y. Henis. (1982). Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Can J Microbiol*. 28:719-725.

- Freeman, S. y R. Rodriguez. (1995). Differentiation of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose of strawberry by arbitrarily primed PCR. *Mycol. Res.* 99, 501-504.
- Fu, W., S. Sun, H. Fu, R. Chen J. Su y S. Gao. (2015). A One-Step Real-Time RT-PCR Assay for the Detection and Quantitation of Sugarcane Streak Mosaic Virus. *Biomed Research International*. Article ID 569131. 9 pp.
- Gao, S.G., F.H. Zhou, T. Liu, Y.Y. Li y J. Chen. (2012). A MAP kinase gene, *Clk1*, is required for conidiation and pathogenicity in the phytopathogenic fungus. *J Basic Microb.* 53 (3): 214-223.
- George, M.; NP Jayashankar. (1977). Control of Chental (Bacterial Blight) Disease of Cardamom with Penicillin. *Curr. Sci.* 46:237.
- Hentze, F. (1982). Estudio preliminar sobre la virosis del cardamomo (*Elettaria cardamomum*) (Tesis de Pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Hillman, B.I. (1998). Introduction to plant virology. *Methods Mol Biol.* 81(1):3-12.
- Hoyos-Carvajal, L.; P. Chaparro, M. Abramsky; I. Chet y S. Orduz. (2008). Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinium rolfsii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. *Agron. Comb.* 26(3):451-458.
- Infante, D.; B. Martínez; N. González y Y. Reyes. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal.* 1(24):14-21.
- Janssen, D. (2002). Tomatoes: Possible Causes of Sudden Wilt and Deathfile University of Nebraska. Disponible en: <http://lancaster.unl.edu/hort/Articles/2002/TomatoWilt.htm>. Con acceso: 24/06/2021.
- Jayawardena, R. S., K.D. Hyde, L. Cai, M. Liu, X.H. Li, W. Zhang, W.S. Zhao, J.Y. Yan. (2016). Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*. *Mycosphere.* 7: 1192-1260.
- Kuzmanovska, B., R. Rusevski, L. Jankuloski, M. Jankulovska, D. Ivic, y K. Bandzo. (2012). Phenotypic and genetic characterization of *Botrytis cinerea* isolates from tomato. *Genetika-Belgrade.* 44 (3):633-647.
- Locali, E., J. Freitas-Astua, A. Alves, M. Takita, G. Astua-Monge y A. Machado. (2003). Development of a Molecular Tool for the Diagnosis of Leprosis, a Major Threat to Citrus Production in the Americas. *Plant Disease.* 87(11): 1317 - 1321.
- MAGA. (2015). Manual de Plan de Manejo Integrado del Thrips del Cardamomo. Dirección de Sanidad Vegetal, VISAR. Proyecto AdA-Integración. 15pp.
- MAGA. (2016). El Agro en Cifras. 2016. 69 pp.
- Manju, M.J.; S.K. Mushrif; T.H. Shankarappa; L.N. Hedge; A. Gowda; M.S. Lokesh y N. Naik. (2018). Evaluation of new fungicides against the leaf blight disease of cardamom [*Elettaria cardamomum* Maton] in arecanut based intercropping system. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* SP3: 283 - 285.
- Melgar, M., A. Meneses, H. Orozco, O. Pérez y R. Espinosa. (2012). Sugarcane Crop in Guatemala. Artemis Edinter, S.A.
- Naglot L.C., A. Ngadin, M. Azhari & N.A. Zahari. (2015). Potential of *Trichoderma* spp. as Biological Control Agents. Against *Bakanae* Pathogen (*Fusarium fujikuroi*) in Rice. *Asian Journal of Plant Pathology.* 9: 46-58.
- Ng, J. & B. Falk. (2006). Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses. *Annu Rev Phytopathol.* 44: 183 - 212.
- Noone, D:F., S. Srinak, DS Teakle, PG Allsopp & PWJ Taylor. (1994). Ability to transmit sugarcane mosaic virus and seasonal phenology of some aphid species (Hemiptera Aphidiidae) in the Isis and Bundaberg districts of Queensland. *Journal of the Australian Entomological Society.* 33(1):27-30.
- NIPHM. (2014). AESA Based IPM package. AESA based IPM-Small cardamom. Ministry of Agriculture, Government of India. República de la India.
- Ovalle, W. (2018). Guía para la identificación de enfermedades de la caña de azúcar. CENGICANA. Guatemala.
- PLATICAR. (sin fecha). Cardamomo. Costa Rica. Disponible en: <http://www.platicar.go.cr/images/buscador/documents/pdf/07/00347-cardamomoaspectostecnicos.pdf>. Con acceso: 01/05/2020.
- Praveena, R.; CN Beju. (2012). Technical Bulletin, Leaf blight of cardamom. IISR, Cardamom Research Centre Appangala, Madikeri.
- Rameh, B. (2018). A mini review on "Bract Mosaic" Disease of Banana. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences.* 8(3): 143 - 148.
- Rodoni, B.C., Y.S. Ahlawat, A. Varma, J.L. Dale y R.M Harding RM. (1997). Identification and characterization of banana bract mosaic virus in India. *Plant Dis.* 81(6):669-72.
- Siljo, A.; A.I. Bhat, C.N. Biju & M.N. Venugopal. (2011). Occurrence of Banana bract mosaic virus on cardamom. *Phytoparasitica.* 40(1): 77-85.

- Standen, J.H. (1941). Variability and pathogenicity of *Nigrospora oryzae* (B. and Br.) Petch in maize. Retrospective Theses and Dissertations.
- Sussman, D. (2002). Optimal Ratio of Degenerate Primer Pairs Improves Specificity and Sensitivity of PCR. *BioTechniques*. 32: 1002 - 1006.
- TRIDGE. (2012). Cardamom. Disponible en: <https://www.tridge.com/intelligences/cardamom>. [Con acceso: 22 de junio de 2020].
- Thomas, J. y R. Bhai. (1995). Fungal and bacterial diseases of cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton) and their management. *Journal of Spices & Aromatic Crops* 4(1):24-31.
- Uzor PF, W. Ebrahim, P.O. Osadebe. (2015). Metabolites from *Combretum dolichopetalum* and its associated endophytic fungus *Nigrospora oryzae* - evidence for a metabolic partnership. *Fitoterapia*. 105: 147-150.
- Vijayan, A., L. Sithara, J. Thomas, J. Thomas, R. Misra, y K.A., Saju. (2013). Molecular characterisation of *Fusarium oxysporum* causing rot diseases in small cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 46. 10.1080/03235408.2013.792582.
- Wang, M., F. Liu, P. Crous y L. Cai. (2017). Phylogenetic reassessment of *Nigrospora*: Ubiquitous endophytes, plant and human pathogens. *Persoonia*. 39: 118 - 142.
- Wei, J.N., B.B. Bai, T.S. Yin, Y. Wang, Y. Yang, L.H. Zhao, R.P. Kuang y R.J. Xiang. (2005). Development and use of parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae & Aphelinidae) for biological control of aphids in China. *Biocontrol Science and Technology*. 15(6): 533 - 551.
- Zheng, L., B.C. Rodoni, M. J. Gibbs y A.J. Gibbs. (2010). A novel pair of universal primers for the detection of potyviruses. *Plant Pathology*. 59: 211 - 220.