

**UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE  
MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERA AGROINDUSTRIAL**

**TÍTULO DE LA TESIS**

**MICROBIOTA Y DETECCIÓN DE HONGOS CON  
POTENCIAL TOXIGÉNICO EN GRANOS DE CAFÉ DE  
JAÉN – CAJAMARCA**

**Autor (a): Bach. Mirely Melecia Rivera Bustamante.**

**Asesores:**

**M.Sc. Aline Camila Caetano**

**Ph. D. Pedro Javier Mansilla Córdova**

Registro: (...)

**CHACHAPOYAS – PERÚ**

**2022**

# Autorización de publicación de la tesis en el repositorio institucional de la UNTRM



## ANEXO 3-H

### AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM

#### 1. Datos de autor 1

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): Rivera Bustamante Mirely Melecía  
DNI N°: 71094642  
Correo electrónico: rbmele@hotmail.com  
Facultad: Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias  
Escuela Profesional: Ingeniería Agroindustrial

#### Datos de autor 2

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): \_\_\_\_\_  
DNI N°: \_\_\_\_\_  
Correo electrónico: \_\_\_\_\_  
Facultad: \_\_\_\_\_  
Escuela Profesional: \_\_\_\_\_

#### 2. Título de la tesis para obtener el Título Profesional

MILIBRITA Y DETECCIÓN DE HONGOS CON POTENCIAL TOXIGÉNICO EN GRANOS DE CAFÉ DE JAÉN - CAJAMARCA

#### 3. Datos de asesor 1

Apellidos y nombres: M. Sc. Caetano Aline Camila  
DNI, Pasaporte, C.E N°: 0016 30 38 2  
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>): <https://orcid.org/0000-0002-9910-8518>

#### Datos de asesor 2

Apellidos y nombres: Ph. D. Mansilla Córdova Pedro Javier  
DNI, Pasaporte, C.E N°: 4195 64 01  
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>): <https://orcid.org/0000-0002-9560-761>

#### 4. Campo del conocimiento según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos- OCDE (ejemplo: Ciencias médicas, Ciencias de la Salud-Medicina básica-inmunología)

[https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde\\_ford.html](https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html)  
2.11.01 -- Alimentos y Bebidas

#### 5. Originalidad del Trabajo

Con la presentación de esta ficha, el(la) autor(a) o autores(as) señalan expresamente que la obra es original, ya que sus contenidos son producto de su directa contribución intelectual. Se reconoce también que todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal.

#### 6. Autorización de publicación

El(los) titular(es) de los derechos de autor otorga a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), la autorización para la publicación del documento indicado en el punto 2, bajo la Licencia *creative commons* de tipo BY-NC: Licencia que permite distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial por lo que la Universidad deberá publicar la obra poniéndola en acceso libre en el repositorio institucional de la UNTRM y a su vez en el Registro Nacional de Trabajos de Investigación-RENATI, dejando constancia que el archivo digital que se está entregando, contiene la versión final del documento sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador.

Chachapoyas, 28, Noviembre, 2022

  
Firma del autor 1

Aline Camila Caetano  
Firma del Asesor 1

\_\_\_\_\_  
Firma del autor 2

  
Firma del Asesor 2

## **DEDICATORIA**

Dedicado a Dios, por acompañarme siempre, por su ayuda reflejada en la fuerza de mi papá para trabajar y en el amor de mi mamá en cada una de sus palabras, el apoyo de mis hermanos; Juan Carlos, Percy Godofredo y Clara Azucena. A mi familia, quienes me alentaron a seguir creciendo y a mis amigos quienes me acompañaron durante el desarrollo de este alcance.

## **AGRADECIMIENTO**

A mis padres Tito y Adelinda por su apoyo incondicional en cada momento, por esas palabras exactas y por ser lo más bello que tengo en mi vida.

A mis padrinos Sharon Roberts y Bruce Sunde, maravillosas personas que me ayudaron durante el proceso, sembrando en mí palabras de amor reflejado en sus acciones.

A la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la UNTRM por contribuir en mi formación durante el periodo de estudios y convertirse en un segundo hogar.

Al INDES-CES por abrirme las puertas de sus laboratorios para poder ejecutar la tesis.

Al Laboratorio de la Clínica fitopatológica, donde se llevó a cabo la ejecución del proyecto. A la M.Sc. Aline Camila Caetano y al Dr. Pedro Javier Masilla Córdova, por brindarme la oportunidad de pertenecer a su equipo de investigación, llenos de capacidades y vastos de experiencia, así como su estima y confianza durante la ejecución de este proyecto.

Al Ingeniero Segundo Grimaldo Chávez Quintana, por su apoyo, con la prestación de una incubadora, siendo esencial para el desarrollo de este trabajo.

A la Universidad Nacional de Jaén, que a través del proyecto VOCCOFFEE ganador del Prointec-2021, realizó la subvención para la tesis.

Al Dr. Paúl Lama Isminio por la interpretación de los análisis de suelos, para el productor de café.

Al productor Hubaldo Ramiro Vázquez, quien permitió nuestra visita a su propiedad y nos proporcionó las muestras evaluadas.

A la empresa Agroexportadora Perales Huancaruna - PERHUSA, principalmente al Ingeniero Químico Hernán Pariacuri Coronel, y al Ingeniero Roberto Carlos Díaz Collazos por su colaboración y apoyo brindado, desde el contacto con el productor hasta el envío de las muestras.

A la Dra. Natalie Verónica Rondinel Mendoza, por su apoyo en el desarrollo de los análisis estadísticos.

A todos mis compañeros de Laboratorio de la Clínica Fitopatológica, a quienes valoro mucho y a todo el equipo de trabajo del Laboratorio de Investigación en Sanidad Vegetal (LABISANV).

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE  
MENDOZA DE AMAZONAS**

Dr. POLICARPIO CHAUCA VALQUI

**RECTOR**

Dr. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLÓN

**VICERRECTOR ACADÉMICO**

Dra. FLOR TERESA GARCÍA HUAMÁN

**VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN**

Mg. Sc. ARMSTRONG BARNARD FERNÁNDEZ JERI

**DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS**

## VISTO BUENO DE LA ASESORA



**UNTRM**

**REGLAMENTO GENERAL**  
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE  
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

### ANEXO 3-L

#### VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (X)/Profesional externo ( ), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada \_\_\_\_\_  
MICROBIA Y DETECCIÓN DE HONGOS CON POTENCIAL TOXIGÉNICO  
EN GRANOS DE CAFÉ DE JAÉN - CASAMARCA ;  
del egresado Mirely Meleca Rivera Bustamante  
de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias  
Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial  
de esta Casa Superior de Estudios.



El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 31 de Agosto de 2022

Aline Camila Castano

Firma y nombre completo del Asesor

M.Sc. Aline Camila Caetano

## VISTO BUENO DEL ASESOR



**UNTRM**

**REGLAMENTO GENERAL**  
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE  
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

### ANEXO 3-L

#### VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM ( )/Profesional externo ( X ), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada \_\_\_\_\_  
MICROBIOTA Y DETECCIÓN DE HONGOS CON POTENCIAL  
TOXIGÉNICO EN GRANOS DE CAFÉ DE JAÉN - CAJAMARCA ;  
del egresado Mirely Mercedes Rivera Bustamante  
de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias  
Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial  
de esta Casa Superior de Estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 31 de agosto de 2022



Firma y nombre completo del Asesor

Ph. D. Pedro Javier Mansilla Córdova



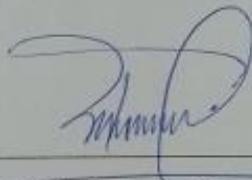
# JURADO EVALUADOR

## JURADO EVALUADOR



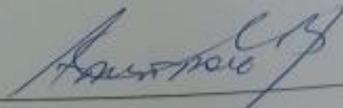
**Ing. Ms. Roberto Carlos Mori Zabarburú**

Presidente



**Ing. Ms. Robert Javier Cruzalegui Fernández**

Secretario



**Ing. Mg. Sc. Armstrong Barnard Fernández Jeri**

Vocal

# CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD



**UNTRM**

**REGLAMENTO GENERAL**  
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE  
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

## ANEXO 3-Q

### CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

MICROBIOTA Y DETECCIÓN DE HONGOS CON POTENCIAL TOXIGÉNICO  
EN GRANOS DE CAFE DE JAÉN - CASAMARCA.

presentada por el estudiante ( )/egresado (x) Mirely Melecia Rivera Bustamante  
de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial  
con correo electrónico institucional H108469252@UNTRM.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- La citada Tesis tiene 17 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (X) / igual ( ) al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- La citada Tesis tiene \_\_\_\_\_ % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.



Chachapoyas, 10 de 10 del 2022

SECRETARIO

PRESIDENTE

VOCAL

OBSERVACIONES:

.....

.....

# ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS



**UNTRM**

**REGLAMENTO GENERAL**  
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE  
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

## ANEXO 3-S

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 8 de Noviembre del año 2022, siendo las 10:0 horas, el aspirante: Mirely Melocía Rivera Bustamante, asesorado por Lic. Mg. Sc. Aline Camila Caetano defiende en sesión pública presencial () / a distancia ( ) la Tesis titulada: Micobiotas y detección de hongos con potencial toxigénico en granos de café de Jaén - Cajamarca, para obtener el Título Profesional de Ingeniería Agroindustrial, a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: Ing. Ms. Roberto Carlos Meri Zaborbucu  
Secretario: Ing. Ms. Robert Javier Cruzalegui Fernández  
Vocal: Lic. Mg. Sc. Armstrong Bernard Fernández Jeri.

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

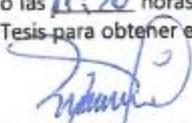
Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () por Unanimidad () / Mayoría ( ) Desaprobado ( )

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 11:20 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.

  
SECRETARIO

  
VOCAL

  
PRESIDENTE

OBSERVACIONES:  
.....

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	xvii
<b>ABSTRACT</b> .....	xviii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	19
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	21
2.1. Descripción del entorno del campo de cultivo.....	21
2.2. Recolección de las muestras de café .....	21
2.2.1. Tratamientos del estudio .....	21
2.3. Codificación de los aislados.....	22
2.4. Siembra directa de las muestras .....	22
2.5. Aislamiento e identificación de hongos .....	23
2.6. Caracterización macroscópica y microscópica de los aislados .....	23
2.7. Evaluación del potencial toxigénico .....	25
2.8. Análisis estadístico.....	26
<b>III. RESULTADOS</b> .....	27
3.1. Microbiota en las muestras de café .....	27
3.2. Caracterización microscópica y macroscópica de las colonias aisladas .....	29
3.3. Colonias en medio agar coco (CAM).....	37
<b>IV. DISCUSIÓN</b> .....	41
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	44

<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	45
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	46
<b>ANEXOS</b> .....	53

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> <i>Porcentaje de infección de frutos y granos de café de las variedades Caturra y Catimor</i> .....	27
<b>Tabla 2</b> <i>Descripción de colonias macroscópicas y microscópicas, tomando como guía el libro de Pit &amp; Hocking (2009)</i> .....	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> <i>Esquema de la distribución de las siembras (adaptado de Pitt &amp; Hocking, 2009)</i> .....	23
<b>Figura 2</b> <i>Estructura microscópica del género <i>Penicillium</i></i> .....	25
<b>Figura 3</b> <i>Estructura microscópica del género <i>Aspergillus</i></i> .....	25
<b>Figura 4</b> <i>Incidencia fúngica de la primera colecta de los granos de café de la variedad Caturra y Catimor en cinco etapas distintas</i> .....	28
<b>Figura 5</b> <i>Incidencia fúngica de la segunda colecta de los granos de café de la variedad Caturra y Catimor en cinco etapas distintas</i> .....	29
<b>Figura 6</b> <i>Aislado PRRA-S4, <i>Aspergillus penicilloides</i> Spegazzini (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 20 μm</i> .....	30
<b>Figura 7</b> <i>Aislado SMOR-S12, <i>Aspergillus versicolor</i> Tirab (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d, e) conidióforos, escala de barra = 10 μm</i> .....	31
<b>Figura 8</b> <i>Aislado PRRA-F2P2, <i>Penicillium roqueforti</i> Thom (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 20 μm; (e) conidios, escala de barra = 14 μm</i> .....	32
<b>Figura 9</b> <i>Aislado SMOR-M23, <i>Penicillium solitum</i> Westling (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 10 μm; (e) conidios, escala de barra = 5 μm</i> .....	33
<b>Figura 10</b> <i>Aislado SMOR-F14, <i>Penicillium viridicatum</i> Westling (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 20 μm</i> .....	34

<b>Figura 11</b> Aislado <i>SRRA-S10</i> , <i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 20 $\mu$ m .....	35
<b>Figura 12</b> Aislado <i>PRRA-S2</i> , <i>Penicillium glabrum</i> Westling (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 20 $\mu$ m .	36
<b>Figura 13</b> Aislados <i>PRRA-F1</i> , <i>PMOR-F20</i> , <i>SRRA-S10</i> , <i>SMOR-F26</i> del género <i>Penicillium</i> y <i>SMOR-V25</i> del género <i>Aspergillus</i> ; imágenes a la izquierda en medio CAM visualizadas bajo luz natural y a la derecha visualizadas bajo luz UV (366 nm).....	37
<b>Figura 14</b> Colonias de <i>Aspergillus</i> en medio AFPA. 1: <i>SRRA-S12</i> , 2: <i>SMOR-V25</i> , 3: <i>PRRA-S4</i> , incubadas por siete días a 25°C; la línea superior muestra las imágenes del anverso de la placa y la línea inferior, el reverso .....	39
<b>Figura 15</b> Colonias de <i>Penicillium</i> sembradas en medio CREAD. 1: <i>SMOR-M17</i> , 2: <i>SRRA-V1</i> , 3: <i>PRRA-S2</i> , 4: <i>SMOR-F11</i> , incubadas por siete días a 25°C .....	40
<b>Figura 16</b> Clave dicotómica general.....	53
<b>Figura 17</b> Clave para géneros productores de penicilli. Los conidios no están truncados en la base, completamente simétricos, de colonias brillantes y colores diferentes (1), los conidios son maduros, de esféricos a elipsoidales, en tonos de azul, verde y/o gris .....	54
<b>Figura 18</b> Clave para los Subgéneros de <i>Penicillium</i> .....	55
<b>Figura 19</b> Clave para Géneros de <i>Aspergillus</i> .....	56
<b>Figura 20</b> Datos de campo obtenidos del agricultor .....	67

## RESUMEN

El procesamiento del café involucra ciertas etapas de transformación donde este queda expuesto a hongos patógenos como el género *Penicillium* y *Aspergillus* que logran infestar los granos durante la postcosecha y el almacenamiento, dentro de ellos algunas especies podrían producir toxinas bastante estables. El objetivo de este estudio fue hacer una prospección de los hongos con potencial toxigénico, principalmente de ocratoxina A, en la cadena de procesamiento de los granos de café de la provincia de Jaén – Cajamarca. Para eso, muestras de granos y frutos de café de dos variedades Caturra y Catimor fueron colectadas durante cinco etapas de procesamiento y sembradas en medio DG18. Se aislaron los hongos presentes y se estimó el porcentaje de infección de las muestras. Además el porcentaje de infección por el género *Penicillium* no varió entre las variedades Caturra y Catimor, así como en las dos colectas realizadas. Se obtuvo mayor presencia de *Aspergillus* en la variedad Catimor de la segunda colecta con 2% de infección en frutos verdes y 2% en granos secando. No fueron detectados hongos potencialmente productores de AFLA u OTA a través del medio agar coco. Sin embargo, no se puede descartar que otros metabolitos puedan haber estado presentes.

**Palabras clave:** incidencia, caracterización, postcosecha.

## ABSTRACT

The processing of coffee involves certain stages of transformation where it could be exposed to pathogenic fungi such as *Penicillium* and *Aspergillus* genera that may infest the beans during post-harvest and storage, within them some species could produce quite stable toxins. The aim of this study was to survey fungi with toxigenic potential, mainly ochratoxin A, in the coffee processing chain in the province of Jaén - Cajamarca. For this, samples of coffee beans and fruits of Caturra and Catimor varieties were collected during five processing stages. The samples were plated in DG18 medium. The fungi were isolated and the percentage of infection of the samples was estimated. In addition, the percentage of infection by the genus *Penicillium* did not vary between the varieties, as well as in the two collections made. The highest presence of *Aspergillus* was obtained in the Catimor variety of the second collection with 2% infection in green fruits and 2% in drying grains. No AFLA- or OTA-producing fungi were detected using coconut agar medium. However, it cannot be ruled out that other metabolites may have been present.

**Keywords:** incidence, characterization, postharvest.

## I. INTRODUCCIÓN

El café es una bebida muy consumida en el Perú y en todo el mundo sobre todo de forma caliente, preparada a través de la infusión de los granos (principalmente de *Coffea canephora* y *Coffea arabica*) procesados. La calidad de la bebida final depende de varios factores, que pueden incluir la población de microorganismos presentes en la materia prima (Iamanaka et al., 2014). Durante el cultivo del café, las cerezas y los granos pueden contaminarse con hongos y bacterias. Estos microorganismos pueden ser eliminados durante las diferentes etapas de procesamiento. Sin embargo, algunos hongos pueden penetrar y producir toxinas que no son fácilmente degradadas y pueden acumularse en los granos (Galarce-Bustos et al., 2014). Algunos estudios encontraron hongos filamentosos con alta frecuencia en las cerezas de café después de la cosecha y durante el secado, habiendo una mayor cantidad de estos microorganismos cuando los granos presentaban algún defecto (Iamanaka et al., 2014; Taniwaki et al., 2003).

La contaminación de cultivos agrícolas por hongos asociados a la producción de micotoxinas es un serio problema en todo el mundo (Solhaug et al., 2016). Entre las micotoxinas frecuentes que pueden presentarse en el grano de café, la ocratoxina A (OTA) es la más estudiada y la más encontrada. Esta toxina es producida por algunas especies fúngicas de los géneros *Aspergillus* y *Penicilium* (Batista et al., 2009; Rezende et al., 2013; Taniwaki et al., 2003) y puede causar efectos nefrotóxicos, genotóxicos, hepatotóxicos, inmunosupresores, y efectos cancerígenos (Sorrenti et al., 2013). En un metaanálisis realizado por Khaneghah et al. (2019), se evidencia que no existen estudios en el Perú relacionados a la contaminación del café por OTA.

Al parecer, no hay evidencias de que el café represente una fuente importante de exposición a micotoxinas en relación con otros alimentos como los cereales (Bessaire et al., 2019). Aparentemente, el café instantáneo suele presentar mayores niveles de OTA que el grano tostado (Galarce-Bustos et al., 2014). Sin embargo, hay que notar que, dependiendo de la forma de producción y las condiciones ambientales, como aquellas prevalentes en los valles del Perú podrían encontrarse niveles de contaminación más elevados.

Un estudio realizado en Francia analizó el contenido de Ocratoxina A en el café tostado molido de supermercado, encontrando en todas las muestras trazas de micotoxinas, hasta

con un nivel de 10 µg/kg (Tozlovanu & Pfohl-Leszkowicz, 2010). En otro trabajo (von Hertwig et al., 2018), muestras de *Coffea canephora* fueron evaluadas identificando especies de *Aspergillus* productoras de toxinas.

Se ha demostrado que es importante comprender las relaciones de temperatura versus actividad del agua de las especies fúngicas, ya que estos factores combinados influyen en las interacciones entre diferentes hongos toxigénicos y no toxigénicos (Magan et al., 2010).

En este sentido, el presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la microbiota presente en dos variedades de café producidas en la provincia de Jaén durante las diferentes etapas de procesamiento utilizando técnicas versátiles, así como la inferencia del riesgo de contaminación con micotoxinas mediante la identificación de hongos.

## **II. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Descripción del entorno del campo de cultivo**

Las muestras de frutos y granos de café (*Coffea arabica* L.) fueron recolectadas de un productor en el caserío de Huabal. El área de producción era de cinco hectáreas de café. El cultivo era sin aplicación de productos agroquímicos. El abonamiento era natural a base de pulpa de café y abono de cuy, anualmente, al finalizar la campaña. En ciertos puntos del campo de cultivo, existían árboles mucho más grandes que las plantas de café, creando sombras moderadas. Hace 4 años, el cultivo fue afectado con la enfermedad de la roya del café, perjudicando la producción. El lugar donde se encuentra la propiedad era montañoso, con la crianza de algunos animales. Esta área de producción presentaba las condiciones que se esperaba para la realización de esta investigación, como el hecho de contar con dos plantaciones, una de la variedad Catimor y otra de la variedad Caturra. La primera de 4 ha y 6 años de edad y, la segunda, de 1 ha y 1 año de edad, respectivamente.

### **2.2. Recolección de las muestras de café**

Las muestras de café de las variedades Caturra y Catimor fueron recolectadas de un campo de cultivo en Huabal - Provincia de Jaén, con 4 años, en conversión al sistema orgánico.

Las colectas fueron realizadas en los meses de julio (Colecta 1) y septiembre (Colecta 2) del 2021. La cantidad de muestras obtenidas de cinco etapas de producción fueron: (1) 720 g de frutos verdes, (2) 800 g de frutos maduros, (3) 1000 g de granos en el proceso de fermentación, (4) 590 g de granos en la etapa de secado y (5) 550 g de granos durante el almacenamiento. Luego de la recolección, las muestras fueron colocadas en bolsas de polietileno con cierre hermético y transportadas al Laboratorio de Sanidad Vegetal del INDES-CES / UNTRM-A. Las muestras fueron fraccionadas en cinco partes iguales y congeladas para su posterior análisis.

#### **2.2.1. Tratamientos del estudio**

De acuerdo con la descripción de la recolección de las muestras de café, los tratamientos estuvieron constituidos por la combinación de los factores A: Variedad de café; B: época

de colecta, y; C: etapas de procesamiento. Esto significa que el presente estudio estuvo constituido por un total de 20 tratamientos.

### **2.3. Codificación de los aislados**

La codificación de los aislados fue realizada de la siguiente forma:

- La primera letra de cada código hace referencia al orden de recolección del fruto: Primera recolección “P”, segunda recolección “S”;
- En seguida, se especifica la variedad recolectada: Caturra “RRA” Catimor “MOR”;
- Luego se registra las iniciales de cada etapa trabajada: frutos maduros “M”, frutos verdes “V”, granos fermentados “F”, granos en la etapa de secado “S”, granos almacenados “A”, y;
- Un número secuencial de los microorganismos aislados.

### **2.4. Siembra directa de las muestras**

Las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente por un tiempo de 70 min. Los frutos y granos fueron desinfectados superficialmente con hipoclorito de sodio al 0.4% sumergiéndolos por 2 y 1 min, respectivamente.

Los granos de café de cada variedad fueron sembrados de manera equidistante en placas de Petri de 150 x 20 mm sobre la superficie del agar Dicloran Glicerol 18% (DG18) con cloranfenicol, en número de 30 por placa. siendo el medio especial para granos o alimentos con baja actividad de agua. Los frutos de café fueron sembrados de la misma manera, con la modificación de que la siembra en la placa fue antes de verter el medio hasta la mitad de los frutos. Las placas fueron incubadas durante 5 días a 25°C y la observación del desarrollo de la micobiota en los frutos y granos fue realizada diariamente.

El porcentaje general de infección fue calculada y expresada como la cantidad de granos infectados con hongos de crecimiento visibles, según la ecuación adaptada de Pitt y Hocking 2009 (I):

$$\text{Porcentaje de infección} = \left( \frac{N^{\circ} \text{ de granos infectados}}{N^{\circ} \text{ de granos sembrados}} \right) * 100 \quad (\text{I})$$

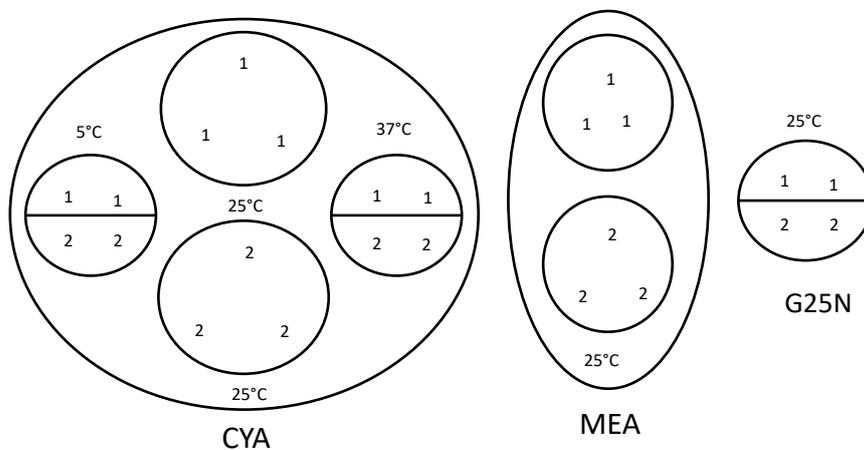
## 2.5. Aislamiento e identificación de hongos

Con ayuda de un estereoscopio, cada colonia crecida en los granos fue tomada con una aguja de inoculación hacia tubos de microcentrífuga de 1.5 ml que contenían agar semilíquido (agar agua más Tween 20 al 0.05%) (Pitt & Hocking, 2009).

Los aislados fueron sembrados en medio Agar Czapek Extracto de Levadura (CYA) a 5, 25 y 37 °C, en medio Agar Extracto de Malta (MEA) y en medio Agar 25% Glicerol Nitrato (G25N) a 25 °C. En los medios CYA y MEA, fueron sembrados en tres puntos equidistantes del centro y el borde de la placa y entre sí (Figura 1). Después de siete días de incubación, sus características macroscópicas y microscópicas fueron observadas como descrito por Pitt & Hocking (2009).

### Figura 1

*Esquema de la distribución de las siembras (adaptado de Pitt & Hocking, 2009)*



## 2.6. Caracterización macroscópica y microscópica de los aislados

Las evaluaciones de características macro y micromorfológicas se realizaron de las colonias incubadas a 25 °C, ya que las otras temperaturas sirven esencialmente para la caracterización y el uso de las claves dicotómicas de Pitt & Hocking (2009). Las características macromorfológicas, tales como la tasa de crecimiento de las colonias, textura, grado de esporulación, color del micelio, esporulación, pigmentos solubles,

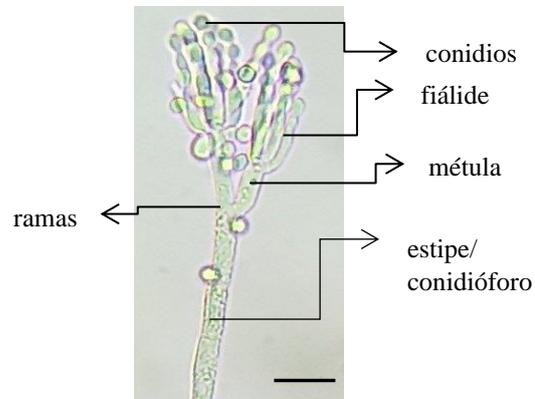
exudados, reverso de la colonia, producción de esclerocio, clamidosporas y cleistotecio se fueron registrando continuamente, hasta el séptimo día. Además, el diámetro de cada una de las colonias se midió a partir del quinto día con vernier, hasta antes de que las colonias se sobrepongan. Las características micromorfológicas, tales como forma de los conidios, color de la estipe y dimensión, forma y textura del estipe, vesículas, métulas, fiálides, conidios, clamidosporas, cleistotecio, ascos y ascosporas se observaron y fotografiaron con la ayuda de un microscopio de luz, modelo Carl Zeiss-primo Star (Samson et al., 2014).

La técnica de microcultivo se realizó con cada uno de los diferentes hongos aislados como descrito por Alfenas & Mafia (2016). Para ello se utilizó el medio MEA cortado en cubos y puesto sobre una lámina portaobjeto, el microorganismo fue sembrado en los costados del cubo de medio. Una laminilla cubreobjeto fue colocada sobre el cubo de medio y todo eso fue colocado dentro de una placa de Petri y se creó una especie de cámara húmeda por la utilización de un pedazo de algodón humedecido con agua destilada estéril. Las placas se incubaron a 25 °C, la visualización del crecimiento del hongo fue realizada todos los días hasta obtener una imagen clara de la estructura de fructificación del hongo.

Buscando la identificación de las especies de *Aspergillus* y *Penicillium* encontradas, se realizaron pruebas con algunos medios selectivos como, Agar Creatina Sacarosa Dichloran (CREAD), para la investigación de producción de ácidos por *Penicillium* del Subgénero *Penicillium* y Agar *Aspergillus flavus* y *parasiticus* (AFPA), para el aislamiento de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*.

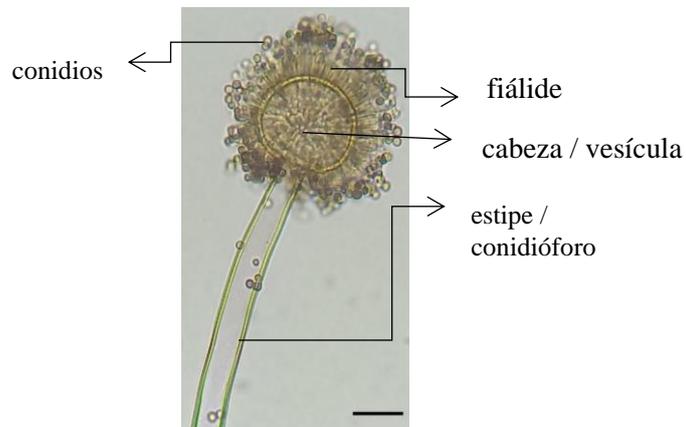
## Figura 2

### *Estructura microscópica del género Penicillium*



## Figura 3

### *Estructura microscópica del género Aspergillus*



## 2.7. Evaluación del potencial toxigenico

Con el propósito de determinar la producción de metabolitos, las cepas aisladas y caracterizadas que fueron identificadas como colonias potencialmente productoras de toxinas. En este sentido, fueron inoculadas en el centro de la placa con medio agar coco (CAM) e incubadas a 30 °C por 5 días (Kuntawee & Akarapisan, 2015; Lin & Dianese, 1976). Después de este período, las placas fueron observadas bajo luz ultravioleta de 366

nm para verificar si presentaban fluorescencia, indicativo de la producción de AFLA u OTA en el medio de cultivo.

## **2.8. Análisis estadístico**

Como los datos del experimento fueron esencialmente de conteo, por la naturaleza propia de los factores o variables nominales que han dado origen a los tratamientos, tal como el factor variedad del café y el factor etapa de procesamiento, así como por la variable respuesta (presencia o ausencia de hongos), se utilizó la prueba estadística chi-cuadrado de Cochran-Mantel-Haenszel, que es exclusivamente para datos de conteo. Todos los resultados fueron analizados con el paquete estadístico del software R (R Development Core Team, 2020).

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Micobiota en las muestras de café

Los resultados en la Tabla 1 muestra la distribución de la presencia de hongos según etapas de procesamiento, colecta y variedades de café, asociado a cada etapa el p-valor, la razón de posibilidades y su respectivo intervalo de confianza.

**Tabla 1**

*Porcentaje de infección de frutos y granos de café de las variedades Caturra y Catimor*

Etapas de procesamiento	Colecta 1		Colecta 2		p-valor*	Razón de posibilidades
	Caturra	Catimor	Caturra	Catimor		
Frutos verdes	82	93	85	87	0.7676	1.1403
Frutos maduros	45	73	77	67	0.0084	0.5698
Granos fermentados	72	95	NA	95	1	1
Granos en etapa de secado	50	73	60	85	0.0212	0.5845
Granos almacenados	47	33	NA	22	0.1142	1.7463

*Nota.* \*nivel de significancia de 0.05.

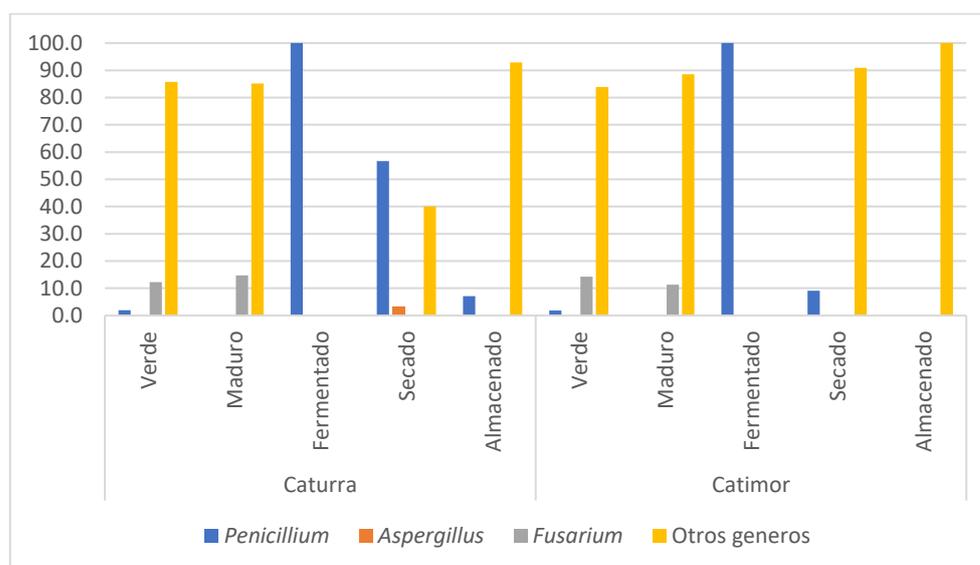
El p-valor mayor que 0.05 para frutos verdes indica que no existe asociación entre la etapa de procesamiento y presencia de hongos controlada por la variable variedad del café (Caturra o Catimor). Por la razón de probabilidades común mayor que 1, indica que hay una chance mayor de encontrar hongos en la primera colecta que en la segunda colecta. En el caso de los frutos maduros, existe asociación entre la etapa de procesamiento y presencia de hongos, siendo controlada por la variable variedad de café y hay una chance mayor de encontrar hongos en la segunda colecta que en la primera colecta. Para granos fermentados, existe asociación entre la etapa de procesamiento y presencia de hongos controlada por la variable variedad del café y las chances de encontrar hongos en la

primera y segunda colecta son iguales. El p-valor menor que 0.05 para granos secando indica que existe asociación entre la etapa de procesamiento y presencia de hongos, siendo controlada por la variable variedad del café y hay una chance mayor de encontrar hongos en la segunda colecta que en la primera colecta. Los granos almacenados no presentan asociación entre la etpa de procesamiento y presencia de hongos siendo controlada por la variable variedad de café, pero hay una chance mayor de encontrar hongos en la primera colecta que en la segunda.

Los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Fusarium* son los más estudiados por el potencial toxigénico que algunas de sus especies presentan (Pitt, 2000). Dentro del porcentaje total de hongos encontrados, el principal género en las variedades estudiadas fue *Penicillium* (Figura 4), presentando mayor incidencia en los granos fermentados de la primera colecta. Este valor disminuyó en las etapas de secado y almacenado. *Fusarium* presentó incidencia de 14% en frutos verdes y de 11% en frutos maduros en la colecta 1, siendo mayor su incidencia que en la coleta 2. En la prueba chi-cuadrado de Cochran-Mantel-Haenszel, el p-valor menor que 0.05 (p-value=2.2e-16) indica que las diferentes etapas de procesamiento del café y la variedad de café controlan el aparecimiento de los géneros fúngicos estudiados en la primera o segunda colecta de muestras.

#### Figura 4

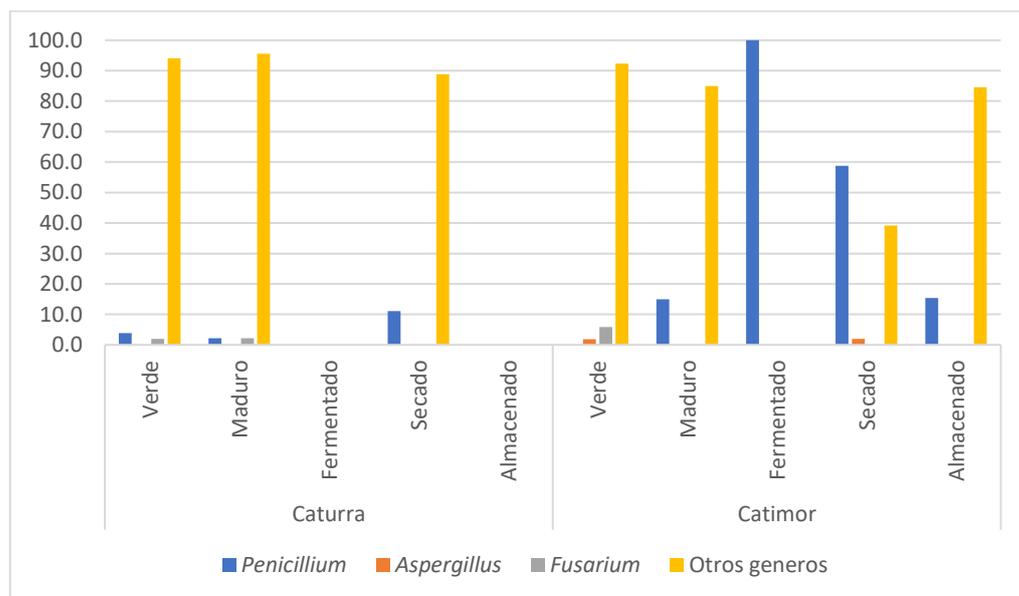
*Incidencia fúngica de la primera colecta de los granos de café de la variedad Caturra y Catimor en cinco etapas distintas*



En la segunda colecta (Figura 5), la incidencia de *Penicillium* fue un poco mayor en la etapa de frutos verdes en la variedad Catimor y en los frutos maduros en ambas variedades comparado con la colecta 1. Sin embargo, las demás etapas, con excepción de los granos fermentados, presentaron menores porcentajes que en la primera colecta. En la variedad Catimor, el género *Penicillium* también fue lo que presentó mayor incidencia en la etapa de fermentado, seguido de la etapa de secado. *Aspergillus* presentó mayor incidencia en los frutos verdes y secando de la colecta 2. El p-valor menor que 0.05 ( $p\text{-value}=2.2e-16$ ) indica que las diferentes etapas de procesamiento y la variedad de café controlan el apareamiento de los géneros fúngicos estudiados en la segunda colecta.

**Figura 5**

*Incidencia fúngica de la segunda colecta de los granos de café de la variedad Caturra y Catimor en cinco etapas distintas*

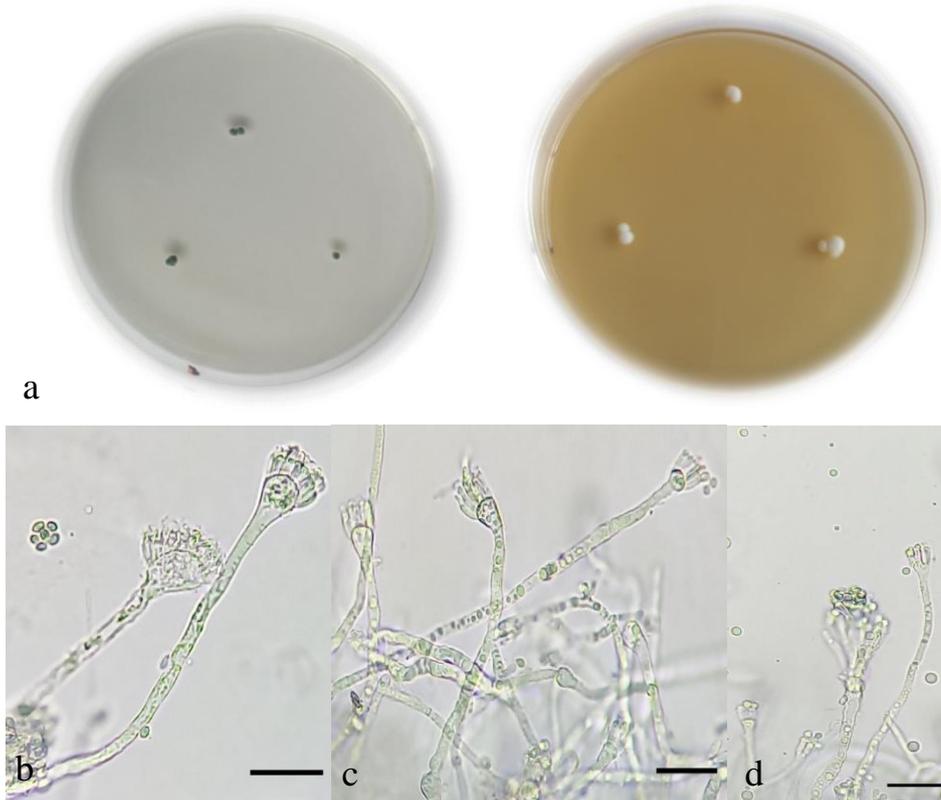


### 3.2. Caracterización microscópica y macroscópica de las colonias aisladas

Dentro de la diversidad de especies aisladas se priorizaron los géneros reportados como productores de aflatoxinas u ocratoxinas. Con base en Pitt & Hocking (2009), a continuación, se describen los aislados identificados mediante sus características macro y micromorfológicas y claves dicotómicas (Figuras 16, 17, 18 y 19 en Anexos), siendo necesarias otras pruebas bioquímicas, así como moleculares para una identificación precisa de las especies.

### Figura 6

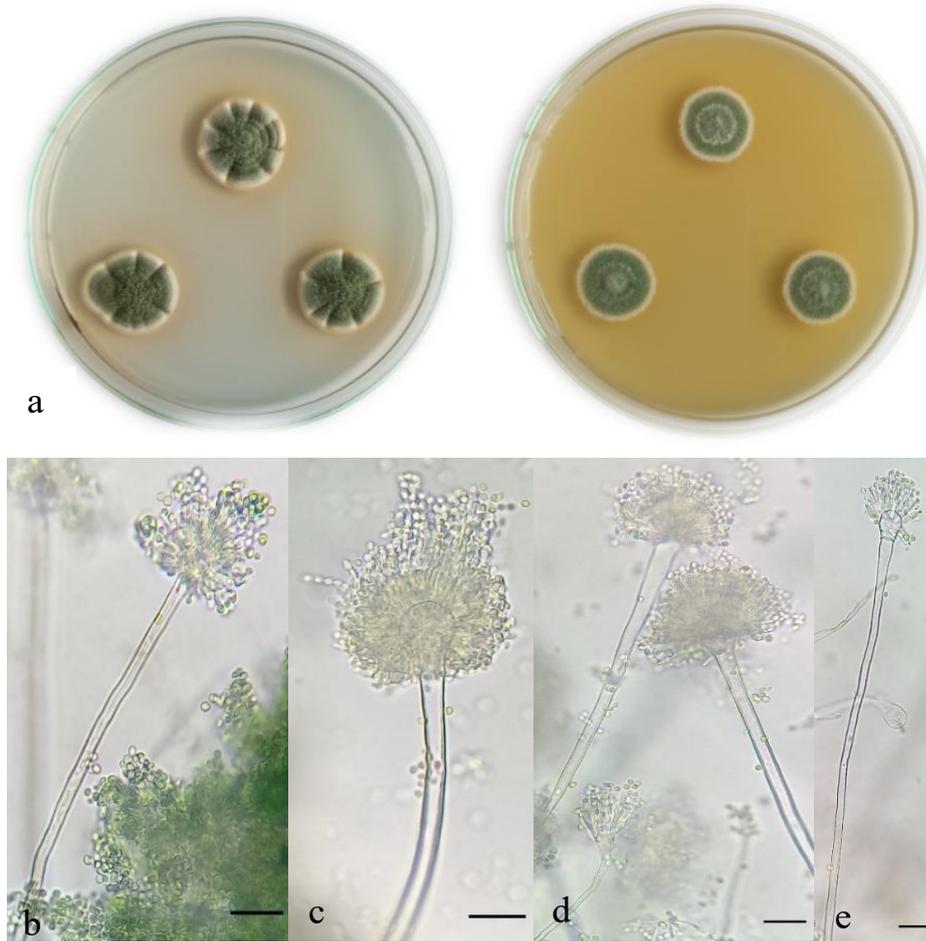
Aislado PRRA-S4, *Aspergillus penicilloides* Spegazzini (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 20  $\mu$ m



*Aspergillus penicilloides* crece muy lentamente en los medios estándar, especialmente en CYA y MEA. Produce conidios verdes radiales a partir de vesículas en forma de espátula. Colonias en CYA de 3.68 mm de diámetro, microcolonias de micelio verde. Colonias en MEA de 4.85 mm de diámetro y colonias similares a las que crecen en CYA solo que presentan micelio blanco. Colonias en G25N de 9.36 mm de diámetro, centralmente elevadas e irregularmente arrugadas, de textura algodonosa, blanco. Colonias en CY20S de 9.42 mm, similares a CYA. Producción de estipes curvadas e irregulares que agrandan desde la base, para formar las vesículas espatuladas de 11.08 mm de diámetro, con fiáldes de 7.32 mm de largo; conidios elipsoidales a esferoidales de 3.78  $\mu$ m de diámetro.

### Figura 7

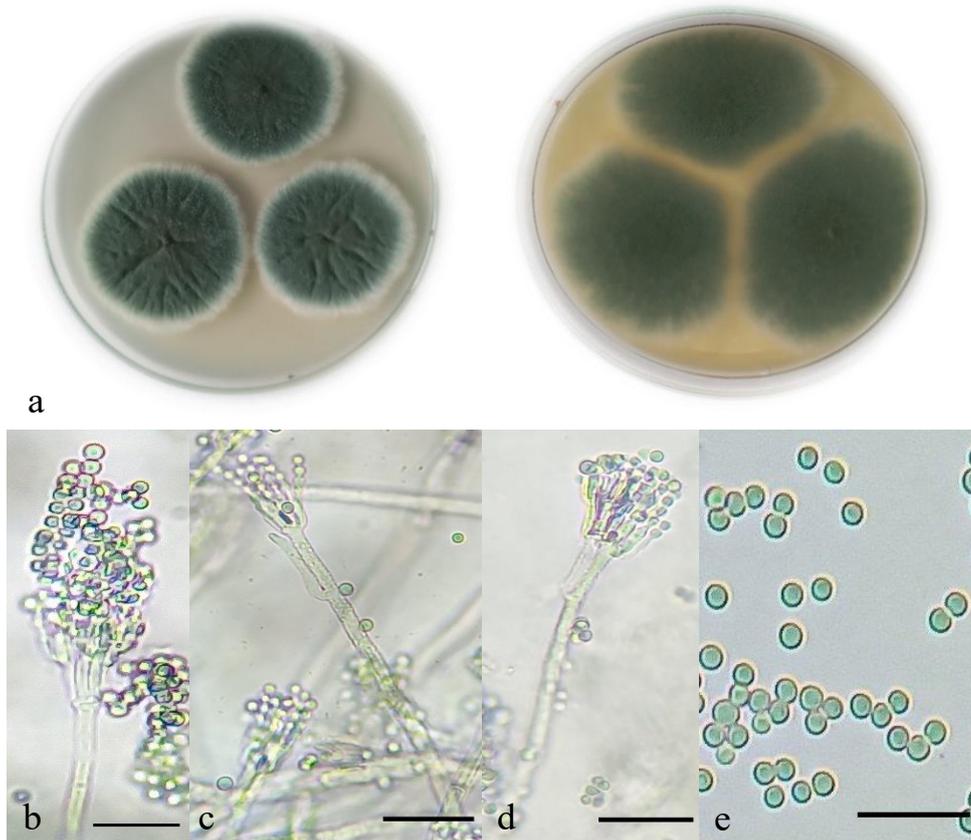
Aislado SMOR-S12, *Aspergillus versicolor* Tirab (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d, e) conidióforos, escala de barra = 10 μm



Colonias en CYA de 22.71 mm de diámetro, ligeramente surcadas, de micelio denso, color verde opaco, bordes de color beige, inverso de color marrón amarillo a marrón anaranjado. En MEA, colonias de 20.88 mm de diámetro, planas y densas de colores similares que en CYA. Colonias en G25N de 17.65 mm de diámetro, planas y densas ligeramente algodonosas. Estructuras nacidas de hifas superficiales, estipes de paredes gruesas, vesículas casi esféricas de 17.67 μm de diámetro, con fiálides de 10.01 μm de largo, conidios verdes esféricos de 3.08 μm de diámetro, de paredes finamente lisas.

### Figura 8

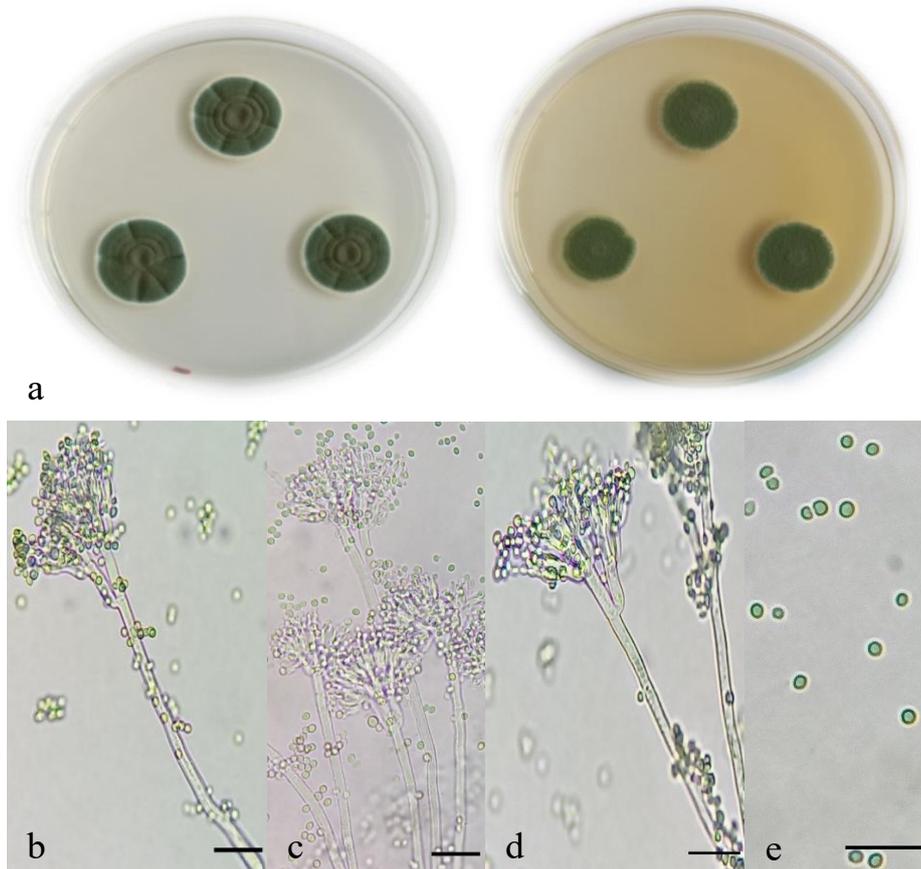
Aislado PRRA-F2P2, *Penicillium roqueforti* Thom (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 20 μm; (e) conidios, escala de barra = 14 μm



Conidios de color verde, estipe de paredes rugosas, colonias en CYA que exceden los 30 mm de diámetro, conidios de paredes lisas, colonia mayor a 20 mm de diámetro en CREAD, en MEA excede los 40 mm de diámetro, conidios de color verde azulado: *P. roqueforti*. Colonias en CYA de 39.20 mm de diámetro y MEA de 51.58 mm de diámetro, ligeramente surcadas, micelio blanco en los márgenes, verde grisáceo a verde opaco, reverso pálido, marrón a verde azulado profundo. Conidióforos nacidos de hifas subsuperficiales, estipes de 131 μm de largo, con paredes rugosas, fiálides ampuliformes, conidios esféricos de 3.22 μm de diámetro, con paredes delgadas y finamente lisas, de color verde oscuro y de formación desordenada.

### Figura 9

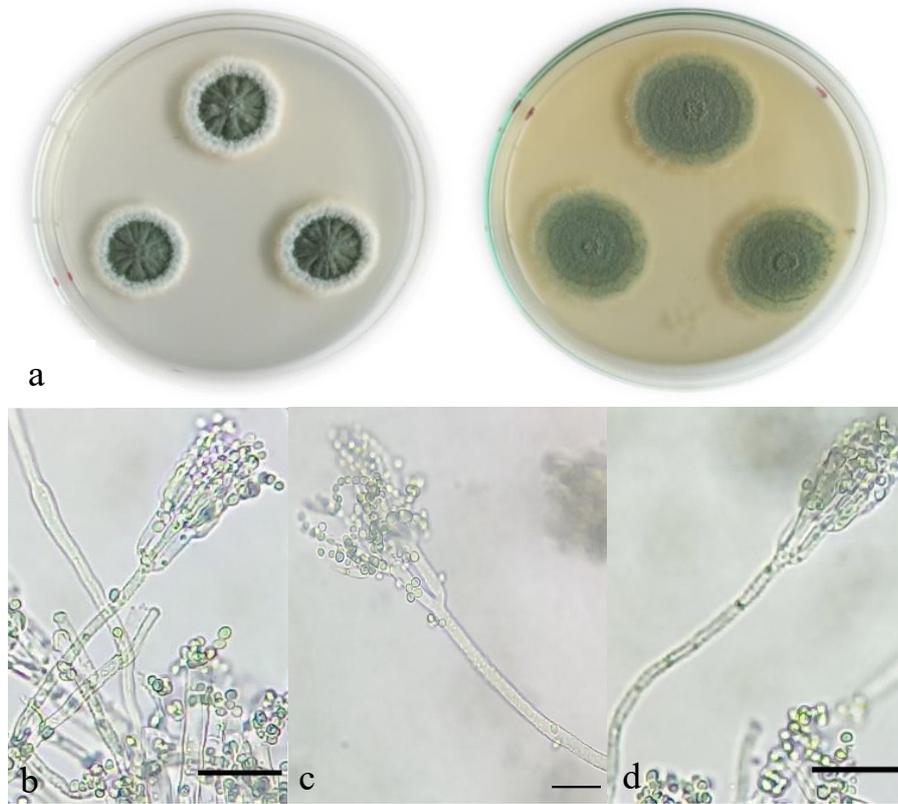
Aislado SMOR-M23, *Penicillium solitum* Westling (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 10  $\mu$ m; (e) conidios, escala de barra = 5  $\mu$ m



Producción de conidios verdes azulados, estipes de paredes finas y suaves, conidios maduros y esferoidales, con dos ramificaciones, estructuras completamente definidas, colonias verdes a verde grisáceo, reverso del medio CYA con color amarillo a naranja, colonias de color verde oscuro: *P. solitum*. Colonias en CYA de 23.82 mm de diámetro, planas levemente surcadas, de textura algodonosa a granular, micelio blanco en los márgenes, producción abundante de conidios, reverso amarillo pálido. Colonias en MEA de 21.63 mm de diámetro, planas, textura granular, reverso color pálido. Colonias en G25N de 23.53 mm de diámetro, características similares a CYA, de reverso amarillo pálido. Los conidióforos nacen solos, estipes de longitud indeterminada, de paredes lisas, fiálides cilíndricas, conidios esféricos de 3.49  $\mu$ m de diámetro, con paredes lisas a poco rugosas.

### Figura 10

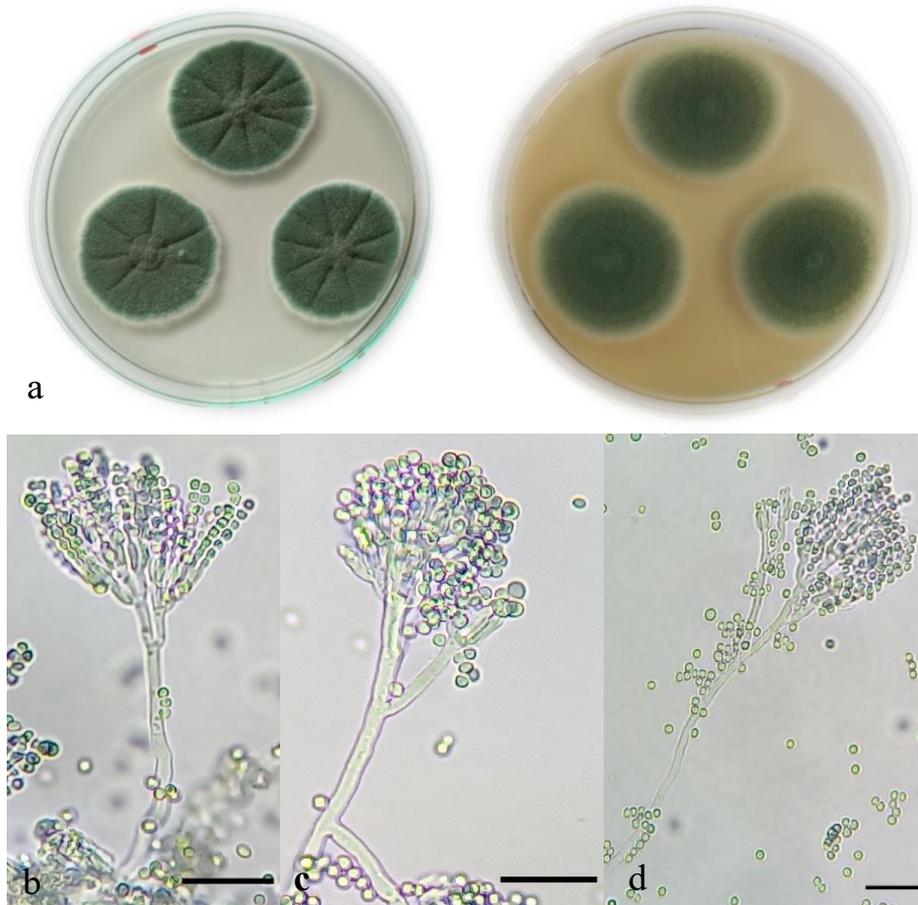
Aislado SMOR-F14, *Penicillium viridicatum* Westling (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 20  $\mu\text{m}$



Colonias en CYA de 27.31 mm de diámetro, surcadas radialmente, densas, aterciopeladas, granulares, micelio usualmente discreto, blanco; producción de conidios moderada, amarillo verdoso; el reverso en tonos de blanco pálido a naranja. Colonias en MEA: 34.91 mm de diámetro, planas u ocasionalmente surcadas radialmente, granulares; formación de conidios moderados, de color amarillo verdoso similares a los de CYA; con el reverso de marrón anaranjado a marrón amarillento. Colonias en G25N de 24.19 mm de diámetro. Conidióforos de paredes rugosas, de fiálides de 16.81  $\mu\text{m}$  de largo, conidios de color amarillo verdoso subsferoidales, de 2.73  $\mu\text{m}$  de diámetro con paredes lisas a finamente rugosas.

### Figura 11

Aislado SRRA-S10, *Penicillium aurantiigriseum* Dierckx (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 20  $\mu$ m

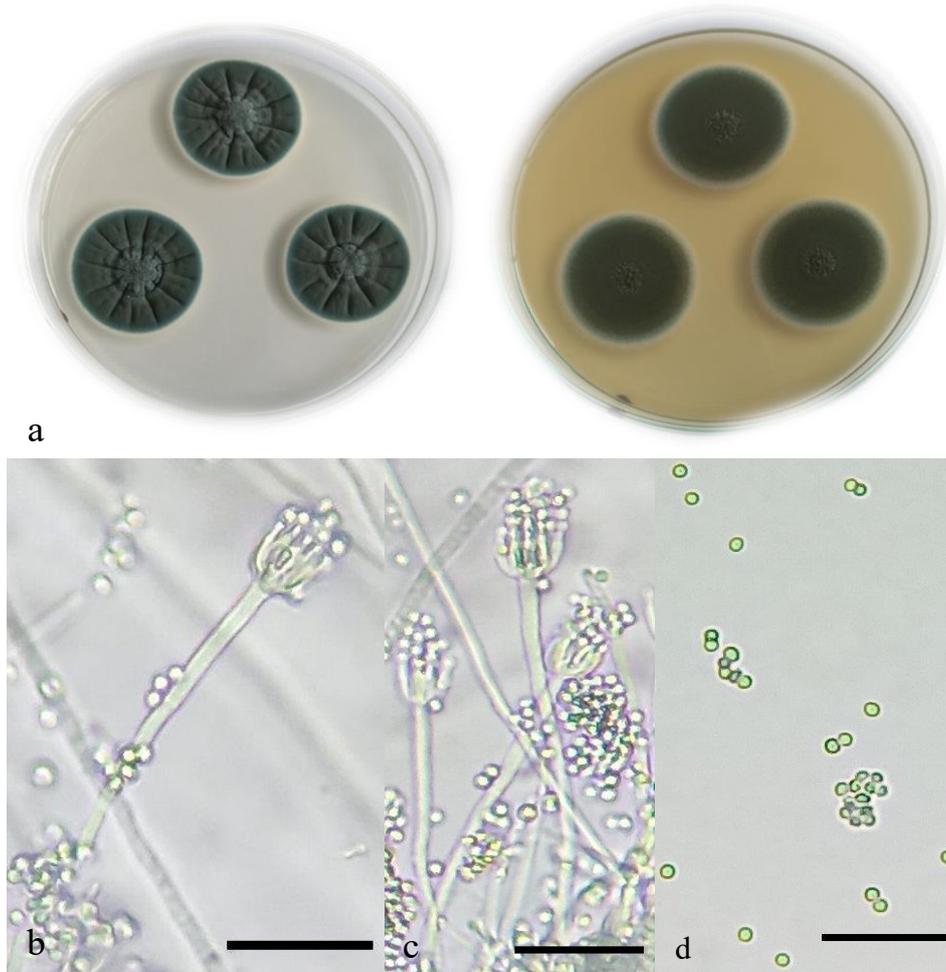


Colonias en CYA de 36.93 mm de diámetro, surcadas radialmente, de textura suave a granular; micelio blanco presente en los márgenes, generalmente discreto; producción de conidios de moderada a abundante, de color turquesa grisáceo a verde opaco, presencia de exudado de marrón a marrón rojizo; reverso pálido. En MEA, colonias de 35.20 mm de diámetro, planas, bajas, textura superficial finamente granular; producción de conidios intenso, de color turquesa grisáceo a verde opaco. Colonias en G25N de 32.02 mm de diámetro, radialmente surcadas, densas, de textura granular; reverso pálido. Conidióforos nacidos solos, principalmente de hifas subsuperficiales, estipes de longitud indeterminada, con paredes lisas a finamente rugosas, con estructura terminal tertverticilada; fiálides delgadas, ampuliformes de 12.3  $\mu$ m de largo; conidios esféricos a

subesferoidales de 3.41  $\mu\text{m}$  de largo, con paredes lisas, en su mayoría sostenidos en columnas largas y bien definidas.

### Figura 12

Aislado PRRA-S2, *Penicillium glabrum* Westling (a) colonias en CYA y MEA, después de 7 días de incubación a 25 °C; (b, c, d) conidióforos, escala de barra = 20  $\mu\text{m}$



Colonias en CYA de 32.94 mm de diámetro, surcadas, bajas, planas y aterciopeladas, micelio blanco en los márgenes, micelio de color verde opaco a verde oscuro, al reverso pálido. Colonias en MEA de 34.81 mm de diámetro bajas, planas; micelio blanco visible sólo en los márgenes; coloreada como en CYA, con el reverso amarillo a marrón. Colonias en G25N de 25.96 mm de diámetro, surcadas o rugosas, aterciopeladas; micelio blanco. Conidióforos nacidos del micelio superficial, estipe de 65.51  $\mu\text{m}$  de largo, con paredes lisas a finamente rugosas, monovérticilados, de diámetro; fiálides numerosas,

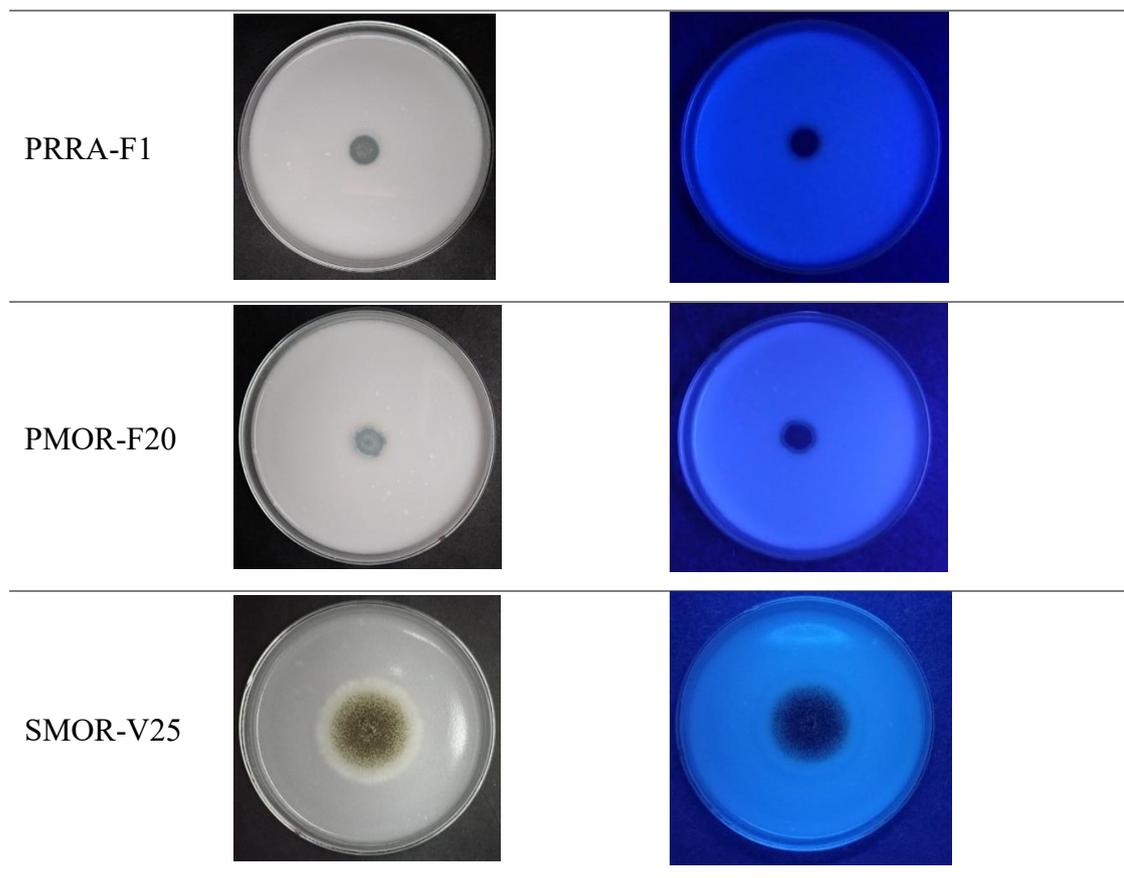
ampuliformes, de 15.18  $\mu\text{m}$  de largo; conidios esféricos de 2.50  $\mu\text{m}$  de diámetro, con paredes lisas a muy finamente rugosas, sostenidos en largas columnas bien definidas.

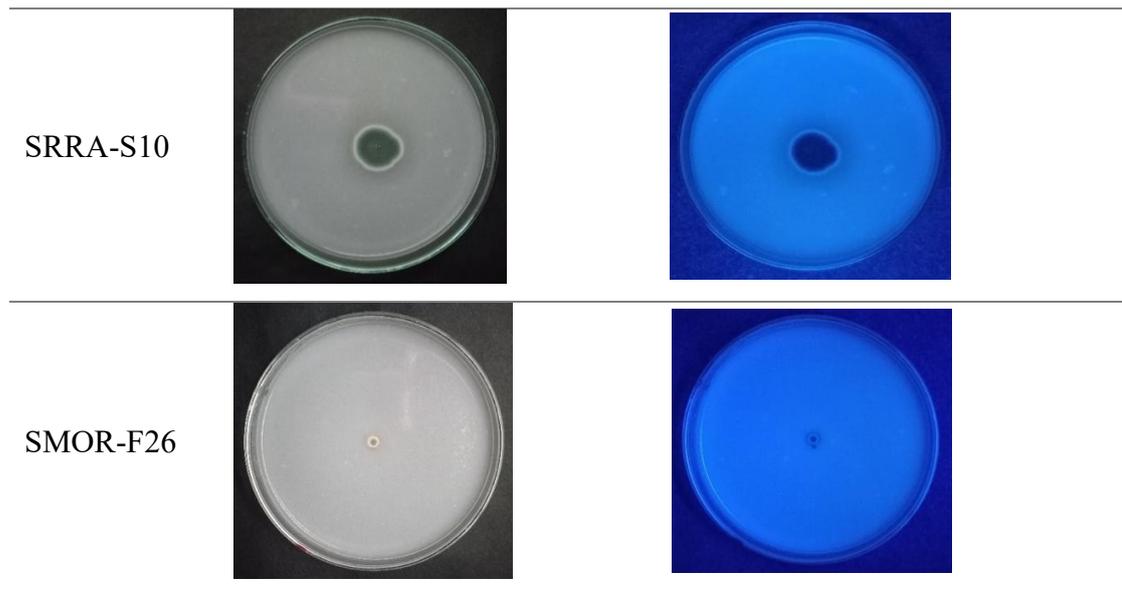
### 3.3. Colonias en medio agar coco (CAM)

Las colonias en la figura 13 muestran los resultados negativos de las pruebas de fluorescencia en medio agar coco, examinado bajo luz ultravioleta con longitud de onda de 366 nm.

#### Figura 13

*Aislados PRRA-F1, PMOR-F20, SRRA-S10, SMOR-F26 del género Penicillium y SMOR-V25 del género Aspergillus; imágenes a la izquierda en medio CAM visualizadas bajo luz natural y a la derecha visualizadas bajo luz UV (366 nm)*



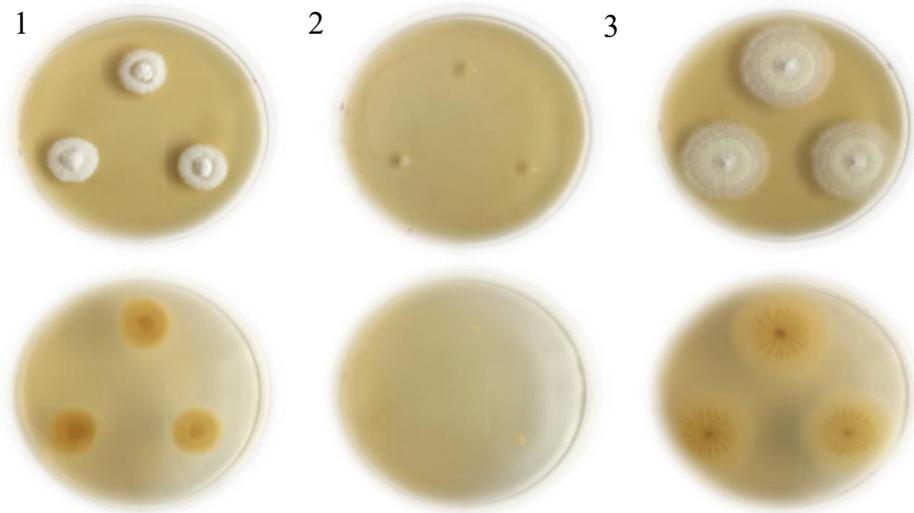


*Nota.* PRRA-F1: primera colecta, variedad Caturra, etapa en fermentación, aislado 1. PMOR-F20: primera colecta, variedad Catimor, etapa en fermentación, aislado 20. SMOR-V25: segunda colecta, variedad Catimor, etapa del fruto verde, aislado 25. SRRA-S10: segunda colecta, variedad Caturra, etapa de secado, aislado 10. SMOR-F26: segunda Colecta, etapa en fermentación, aislado 26.

La figura 14, muestra las principales características macroscópicas propias de cada colonia perteneciente al género *Aspergillus*, siendo el aislado 1 identificado como *Aspergillus versicolor*, el aislado 2 como *Aspergillus penicilloides* y el aislado 3 *Aspergillus* sp.

## Figura 14

*Colonias de Aspergillus en medio AFPA. 1: SRRA-S12, 2: SMOR-V25, 3: PRRA-S4, incubadas por siete días a 25°C; la línea superior muestra las imágenes del anverso de la placa y la línea inferior, el reverso*

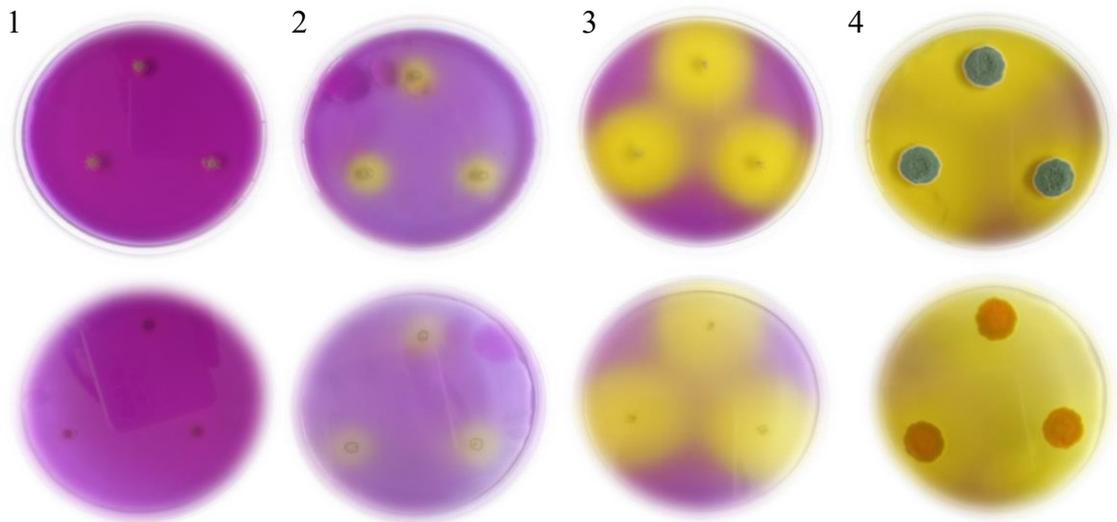


*Nota.* SRRA-S12: segunda colecta, variedad Caturra, etapa de secado, aislado 12. SMOR-V25: segunda colecta, variedad Catimor, etapa de frutos verdes, aislado 25. PRRA-S4: primera colecta, variedad Caturra, etapa de secado, aislado 4.

La figura 15, muestra las características macroscópicas de cultivos en medio CREAD. Los aislados 2, 3 y 4 producen ácido donde el púrpura de bromocresol, utilizado como indicador orgánico de valoración ácido-base, cambió de color púrpura a amarillo por la mudanza de pH del medio. Mientras que el aislado 1, no produce ácido por evidenciar en las imágenes que no hubo cambio de color.

### Figura 15

*Colonias de Penicillium sembradas en medio CREAD. 1: SMOR-M17, 2: SRRA-V1, 3: PRRA-S2, 4: SMOR-F11, incubadas por siete días a 25°C*



*Nota.* SMOR-M17: segunda colecta, variedad Catimor, etapa de frutos maduros, aislado 17. SRRA-V1: segunda colecta, variedad Caturra, etapa de frutos verdes, aislado 1. PRRA-S2: primera colecta, variedad Caturra, etapa de secado, aislado 2. SMOR-F11: segunda colecta, variedad Catimor, etapa de secado en fermentación, aislado 11

#### IV. DISCUSIÓN

La microbiota del café ha sido estudiada por varios autores y una diversidad de especies fúngicas es descrita como contaminantes del grano de café. Estudios indican que la contaminación por hongos es influenciada por las prácticas de procesamiento como la fermentación, periodos de secado, y almacenamiento inadecuado (Noonim et al., 2009). El café peruano suele ser procesado mediante el proceso húmedo, generando menos contaminación fúngica al ser limpio en comparación al proceso seco (Iamanaka et al., 2014). En este proceso, los hongos, bacterias y levaduras actúan produciendo un conjunto de reacciones biológicas y químicas (Nigam & Singh, 2014). Los resultados encontrados mostraron incidencias de más del 90% de contaminación por *Penicillium* en la etapa de fermentación (Figuras 4 y 5), tanto en ambas variedades trabajadas como en cada recolección. Frecuentemente los hongos aislados y caracterizados durante la fermentación fueron los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Cladosporium*, así como descrito por Silva et al. (2000, 2008). En la investigación de Cruz-O'Byrne et al. (2021) hacen mención que las primeras horas de la fermentación la presencia de los géneros de *Penicillium* y *Aspergillus* es relativamente baja y posteriormente va disminuyendo hasta el final del proceso. Un interesante resultado del estudio de Silva et al. (2008) fue que el número de hongos fue inversamente proporcional al número de levaduras; exponiendo una disminución de la población fúngica.

El ambiente en el que son secados los granos de café influencia en el nivel de contaminación fúngica que pueden poseer. Los granos en proceso de secado colectados en el presente trabajo se obtuvieron de secadores solares, por lo que se estima la obtención de los menores porcentajes de granos infectados. El proceso de secado es importante ya que permite que el café pergamino se seque por completo y puede disminuir la contaminación. Fue encontrada una incidencia de 60% por hongos del género *Penicillium* en la etapa de secado, los porcentajes concuerdan con Suárez Quiroz et al. (2004) quienes estudiaron muestras de café en México y reportaron una incidencia de hongos entre el 80% para el café procesado en húmedo en comparación con el 92% para el café procesado en seco. Los resultados obtenidos en la etapa de secado pueden atribuirse a dificultosas condiciones de cultivo y cosecha, si el grano no se llega a manipular correctamente después de la cosecha (Elmholt & Rasmussen, 2005).

Durante el almacenamiento, la contaminación fúngica de los granos de café verde se podría introducir debido a la humedad del café después del proceso de secado y el período de almacenamiento extendido (Maman et al., 2021). Se evaluaron las muestras recolectadas con dos semanas en almacenamiento y nuestros resultados mostraron un 15% de infección del género *Penicillium* en la segunda colecta de granos almacenados. Estos resultados contradicen lo encontrado por Geremew et al. (2016) que reportan que un almacenamiento más largo resulta en una menor contaminación por hongos.

Fue posible determinar el porcentaje de infección que llegó hasta 95% (Tabla 1). Considerando cada tipo de muestra de grano de café, en Caturra se reporta la aparición de *Aspergillus* spp. en dos muestras. Para los granos de café Catimor, estuvo presente en una muestra solamente. La baja abundancia de *Aspergillus* podría deberse a los efectos del biocontrol que ejercen las levaduras que se encuentran presentes durante el fermentado (de Souza et al., 2017; Masoud & Kaltoft, 2006). En el estudio realizado por Gil-Serna et al. (2014) muestran el crecimiento de *Aspergillus* en café verde bajo diferentes condiciones ambientales, mencionando que una temperatura cálida y alta humedad favorecen el crecimiento de hongos.

El objetivo del trabajo fue estudiar la microbiota del café y esto incluye un intento de identificación de especies. La especie *Penicillium roqueforti* fue identificada en el presente trabajo de acuerdo a sus características biológicas (O'brien et al., 2008; Pitt & Hocking, 2009). Esta especie ha sido reportada en la uva, que es un cultivo de importancia económica, al igual que el café (Harwig et al., 1978). Esta especie de hongo tiene importancia en la industria alimentaria. Es mundialmente conocida por ser de gran importancia industrial utilizada en la producción y maduración de quesos azules, impactando en las características organolépticas, con la producción de metilcetonas, responsables del típico aroma que brinda al queso azul (Coton et al., 2020; Ropars et al., 2012). Además, se ha desarrollado un nuevo alimento a base de cereales con la fermentación de *P. roqueforti* (Dwivedi et al., 2015). Sin embargo, hay relatos de la producción de otros tipos de micotoxinas por esta especie (Scott, 1981).

Lograron extraer solistatinol un análogo fenólico de la compactina, aislado de *Penicillium solitum* (Larsen et al., 2007; Sorensen et al., 1999). La compactina, es un potente inhibidor de la biosíntesis del colesterol y son útiles contra la aterosclerosis (Shaligram et al., 2008).

El café podría ser una fuente importante de este microorganismo, para ser usado dentro de procesos biotecnológicos.

El *Aspergillus versicolor*, aunque no es productor de AFLAs u OTA, produce esterigmatocistina que es un metabolito relacionado a las AFLA, siendo producida en la misma vía metabólica, pero en las fases finales (Bennett et al., 2003).

Las contaminaciones por el género *Fusarium* ocurren normalmente en el campo (Ma et al., 2013). Este patógeno de plantas es caracterizado por causar enfermedades en los cultivos, ocasionando pérdidas económicas, asociada también a la producción de toxinas (Asam et al., 2017). Aunque su abundancia en este estudio no fue notable en comparación al género *Penicillium*, su presencia fue alta en los granos verdes y maduros de ambas variedades, corroborando la información del género *Fusarium* estar más asociado a contaminaciones en el campo, mientras *Penicillium* y *Aspergillus*, en el almacenamiento (Champ et al., 1991).

Las especies de *Penicillium* que son reportadas como no toxigénicas, podrían no ser un peligro latente, suponiendo que no son patógenos, y, al contrario, podrían presentar algunos potenciales beneficios para las plantas, como mayor acceso a nutrientes, protección contra la desecación, protección contra insectos que se alimentan de la superficie, y protección contra hongos parásitos y otros microorganismos (White, 2000). Sin embargo, identificaciones más precisas son necesarias para garantizar que otras micotoxinas no pueden ser producidas por las especies encontradas en esta investigación.

No obstante, la presencia de mohos alojados en los granos de café puede influenciar en la calidad organoléptica de la bebida final. Es importante destacar que hongos como *Penicillium* pueden tener otras funciones importantes en el ambiente, como la solubilización de fosfatos (Asea et al., 1988; Nahas, 1996; Whitelaw et al., 1999). La presencia de estos microorganismos puede estar relacionada a las prácticas agrícolas, condiciones de cultivo, condiciones y temperatura de almacenamiento y transporte.

## V. CONCLUSIONES

En la parcela de estudio ubicada en las alturas de Huabal se reporta alta infección fúngica por el género *Penicillium* y *Aspergillus* en la etapa de fermentación húmeda del café, seguido de los granos en el proceso de secado. En las demás etapas los géneros más comunes fueron *Cladosporium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Aureobasidium*.

Los hongos están distribuidos en ambas variedades de café, siguiendo una tendencia similar en cada recolección. No se detectaron hongos potencialmente productores de AFLA u OTA. Eso no significa que estos no existan.

## **VI. RECOMENDACIONES**

Con base en las conclusiones, se recomienda que los monitoreamientos de hongos en los granos de café sean periódicos.

Los hallazgos en este estudio se espera que sean de utilidad para futuras investigaciones e inflencie en la toma de decisiones que impliquen la optimización en sus procesos.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfenas, C. A., & Mafia, R. G. (2016). *Métodos em Fitopatologia* (Segunda Ed). Editora UFV.
- Asam, S., Habler, K., & Rychlik, M. (2017). *Fusarium Mycotoxins in Food*. In *Chemical Contaminants and Residues in Food: Second Edition*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100674-0.00014-X>
- Asea, P. E. A., Kucey, R. M. N., & Stewart, J. W. B. (1988). Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 20(4), 459–464. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(88\)90058-2](https://doi.org/10.1016/0038-0717(88)90058-2)
- Batista, L. R., Chalfoun, S. M., Silva, C. F., Cirillo, M., Varga, E. A., & Schwan, R. F. (2009). Ochratoxin A in coffee beans (*Coffea arabica* L.) processed by dry and wet methods. *Food Control*, 20(9), 784–790. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.10.003>
- Bennett, J. W., Klich, M., & Mycotoxins, M. (2003). Mycotoxins. *Mycotoxins*, 16(3), 497–516. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.3.497>
- Bessaire, T., Perrin, I., Tarres, A., Bebius, A., Reding, F., & Theurillat, V. (2019). Mycotoxins in green coffee: Occurrence and risk assessment. *Food Control*, 96(June 2018), 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.08.033>
- Champ, B. R., Highley, E., Hocking, A. D., & Pitt, J. I. (1991). *Fungi and mycotoxins in stored products: proceedings of an international conference held at Bangkok, Thailand, 23-26 April 1991*. Australian Centre for International Agricultural Research.
- Coton, E., Coton, M., Hymery, N., Mounier, J., & Jany, J. L. (2020). *Penicillium roqueforti*: an overview of its genetics, physiology, metabolism and biotechnological applications. *Fungal Biology Reviews*, 34(2), 59–73. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2020.03.001>

- Cruz-O'Byrne, R., Piraneque-Gambasica, N., & Aguirre-Forero, S. (2021). Microbial diversity associated with spontaneous coffee bean fermentation process and specialty coffee production in northern Colombia. *International Journal of Food Microbiology*, 354(March), 109282. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109282>
- de Souza, M. L., Passamani, F. R. F., Ávila, C. L. da S., Batista, L. R., Schwan, R. F., & Silva, C. F. (2017). Uso de leveduras selvagens como agente de biocontrole contra fungos toxigênicos e produção de OTA. *Acta Scientiarum - Agronomy*, 39(3), 349–358. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v39i3.32659>
- Dwivedi, M., Vasantha, K. Y., Sreerama, Y. N., Haware, D. J., Singh, R. P., & Sattur, A. P. (2015). Nilamadana, new fungal fermented cereal based food. *Journal of Functional Foods*, 15, 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.023>
- Elmholt, S., & Rasmussen, P. H. (2005). *Penicillium verrucosum* occurrence and Ochratoxin A contents in organically cultivated grain with special reference to ancient wheat types and drying practice. *Mycopathologia*, 159(3), 421–432. <https://doi.org/10.1007/s11046-005-1152-5>
- Galarce-Bustos, O., Alvarado, M., Vega, M., & Aranda, M. (2014). Occurrence of ochratoxin A in roasted and instant coffees in Chilean market. *Food Control*, 46, 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.014>
- Geremew, T., Abate, D., Landschoot, S., Haesaert, G., & Audenaert, K. (2016). Occurrence of toxigenic fungi and ochratoxin A in Ethiopian coffee for local consumption. *Food Control*, 69, 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.025>
- Gil-Serna, J., Vázquez, C., García Sandino, F., Márquez Valle, A., González-Jaén, M. T., & Patiño, B. (2014). Evaluation of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus steynii* and *Aspergillus westerdijkiae* in green-coffee based medium under different environmental conditions. *Food Research International*, 61, 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.058>

- Harwig, J., Blanchfield, B. J., & Scott, P. M. (1978). Patulin Production by *Penicillium roqueforti* Thom from grape. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, *11*(3), 149–151. [https://doi.org/10.1016/s0315-5463\(78\)73229-3](https://doi.org/10.1016/s0315-5463(78)73229-3)
- Iamanaka, B. T., Teixeira, A. A., Teixeira, A. R. R., Copetti, M. V., Bragagnolo, N., & Taniwaki, M. H. (2014). The mycobiota of coffee beans and its influence on the coffee beverage. *Food Research International*, *62*, 353–358. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.033>
- Khaneghah, A. M., Fakhri, Y., Abdi, L., Coppa, C. F. S. C., Franco, L. T., & de Oliveira, C. A. F. (2019). The concentration and prevalence of ochratoxin A in coffee and coffee-based products: A global systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Fungal Biology*, *123*(8), 611–617. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.05.012>
- Kuntawee, S., & Akarapisan, A. (2015). Isolation and identification of *Aspergillus* species producing Ochratoxin A in Arabica coffee beans. *International Journal of Agricultural Technology*, *11*(5).
- Larsen, T. O., Lange, L., Schnorr, K., Stender, S., & Frisvad, J. C. (2007). Solistatinol, a novel phenolic compactin analogue from *Penicillium solitum*. *Tetrahedron Letters*, *48*(7), 1261–1264. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.12.038>
- Lin, &, & Dianese. (1976). Lin & Dianese, 1976-A Coconut-Agar Medium for Rapid Detection of Aflatoxin Production by *Aspergillus* spp.PDF. *Phytopathology*.
- Ma, L. J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D. M., Manners, J. M., & Kazan, K. (2013). *Fusarium* pathogenomics. *Annual Review of Microbiology*, *67*, 399–416. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155650>
- Magan, N., Aldred, D., Hope, R., & Mitchell, D. (2010). Environmental factors and interactions with mycobiota of grain and grapes: Effects on growth, deoxynivalenol and ochratoxin production by *Fusarium culmorum* and *Aspergillus carbonarius*. *Toxins*, *2*(3), 353–366. <https://doi.org/10.3390/toxins2030353>

- Maman, M., Sangchote, S., Piasai, O., Leesutthiphonchai, W., Sukorini, H., & Khewkhom, N. (2021). Storage fungi and ochratoxin A associated with arabica coffee bean in postharvest processes in Northern Thailand. *Food Control*, *130*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108351>
- Masoud, W., & Kaltoft, C. H. (2006). The effects of yeasts involved in the fermentation of *Coffea arabica* in East Africa on growth and ochratoxin a (OTA) production by *Aspergillus ochraceus*. *International Journal of Food Microbiology*, *106*(2), 229–234. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.015>
- Nahas, E. (1996). Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *12*(6), 567–572. <https://doi.org/10.1007/BF00327716>
- Nigam, P. S., & Singh, A. (2014). Cocoa and Coffee Fermentations. In *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (Second Edi, Vol. 1). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00074-4>
- Noonim, P., Mahakarnchanakul, W., Nielsen, K. F., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2009). Fumonisin B2 production by *Aspergillus niger* in Thai coffee beans. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, *26*(1), 94–100. <https://doi.org/10.1080/02652030802366090>
- O'brien, M., Egan, D., O'kiely, P., Forristal, P. D., Doohan, F. M., & Fuller, H. T. (2008). Morphological and molecular characterisation of *Penicillium roqueforti* and *P. paneum* isolated from baled grass silage. *Mycological Research*, *112*(8), 921–932. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.01.023>
- Pitt, J. I. (2000). Toxigenic fungi and mycotoxins. *British Medical Bulletin*, *56*(1), 184–192. <https://doi.org/10.1201/9780203970553>
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). Fungi and food spoilage. In *Fungi and Food Spoilage*. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>
- R Development Core Team. (2020). RStudio Team. In *RStudio: Integrated Development Environment for R* (No. 2). R Foundation for Statistical Computing.

- Rezende, E. D. F., Borges, J. G., Cirillo, M. A., Prado, G., Paiva, L. C., & Batista, L. R. (2013). Hongos ocratoxigénicos asociados a granos de café verde ( Café arábical ) en cultivo convencional y orgánico en Brasil. *Microbiología*, 384, 377–384.
- Ropars, J., Dupont, J., Fontanillas, E., Rodríguez de la Vega, R. C., Malagnac, F., Coton, M., Giraud, T., & López-Villavicencio, M. (2012). Sex in Cheese: Evidence for Sexuality in the Fungus *Penicillium roqueforti*. *PLoS ONE*, 7(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049665>
- Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbraken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., Seifert, K. A., Susca, A., Tanney, J. B., Varga, J., Kocsubé, S., Szigeti, G., Yaguchi, T., & Frisvad, J. C. (2014). Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78(1). <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.07.004>
- Scott, P. M. (1981). Toxins of *Penicillium* Species Used in Cheese Manufacture. *Journal of Food Protection*, 44(9), 702–710. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-44.9.702>
- Shaligram, N. S., Singh, S. K., Singhal, R. S., Szakacs, G., & Pandey, A. (2008). Compactin production in solid-state fermentation using orthogonal array method by *P. brevicompactum*. *Biochemical Engineering Journal*, 41(3), 295–300. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.05.011>
- Silva, C. F., Batista, L. R., Abreu, L. M., Dias, E. S., & Schwan, R. F. (2008). Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. *Food Microbiology*, 25(8), 951–957. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.07.003>
- Silva, C. F., Schwan, R. F., Sousa Dias, E., & Wheals, A. E. (2000). Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 60(2–3), 251–260. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00315-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00315-9)

- Solhaug, A., Karlsøen, L. M., Holme, J. A., Kristoffersen, A. B., & Eriksen, G. S. (2016). Immunomodulatory effects of individual and combined mycotoxins in the THP-1 cell line. *Toxicology in Vitro*, 36, 120–132. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.07.012>
- Sorensen, D., Ostenfeld Larsen, T., Christophersen, C., Nielsen, P. H., & Anthoni, U. (1999). Solistatin, an aromatic compactin analogue from *Penicillium solitum*. *Phytochemistry*, 51(8), 1027–1029. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00015-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00015-1)
- Sorrenti, V., di Giacomo, C., Acquaviva, R., Barbagallo, I., Bognanno, M., & Galvano, F. (2013). Toxicity of ochratoxin A and its modulation by antioxidants: A review. *Toxins*, 5(10), 1742–1766. <https://doi.org/10.3390/toxins5101742>
- Suárez Quiroz, M., González, Rios, O., Barel, M., Guyot, B., Schorr-Galindo, S., & Guiraud, J. P. (2004). Study of ochratoxin A-producing strains in coffee processing. *International Journal of Food Science and Technology*, 39(5), 501–507. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00810.x>
- Taniwaki, M. H., Pitt, J. I., Teixeira, A. A., & Iamanaka, B. T. (2003). The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. *International Journal of Food Microbiology*, 82(2), 173–179. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00310-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00310-0)
- Tozlovanu, M., & Pfohl-Leszkowicz, A. (2010). Ochratoxin A in roasted coffee from French supermarkets and transfer in coffee beverages: Comparison of analysis methods. *Toxins*, 2(8), 1928–1942. <https://doi.org/10.3390/toxins2081928>
- von Hertwig, A. M., Sant’Ana, A. S., Sartori, D., da Silva, J. J., Nascimento, M. S., Iamanaka, B. T., Pelegrinelli Fungaro, M. H., & Taniwaki, M. H. (2018). Real-time PCR-based method for rapid detection of *Aspergillus niger* and *Aspergillus welwitschiae* isolated from coffee. *Journal of Microbiological Methods*, 148, 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.03.010>

- White, J. F. (2000). Biotrophic Endophytes of Grasses: A Systematic Appraisal. In *Microbial Endophytes* (Issue January). <https://doi.org/10.1201/9781482277302-3>
- Whitelaw, M. A., Harden, T. J., & Helyar, K. R. (1999). Phosphate solubilisation in solution culture by the soil Fungus *Penicillium radicum*. *Soil Biology and Biochemistry*, *31*(5), 655–665. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(98\)00130-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(98)00130-8)

## ANEXOS

### Figura 16

#### *Clave dicotómica general*

---

Presenta crecimiento en los tres medios estándar (CYA, MEA, G25N) (1); de características filamentosas (2), muestra mayor crecimiento en CYA y MEA que en G25N (3), de hifas tabicadas (4), con esporas maduras presentes dentro de los siete días (5), los conidios menores a 10 µm llevadas sobre sus fiálides y con estipes bien definidos (9), con estipes no hinchados con o sin métula y ramificaciones intermedias (10).  
Capítulo 7 - "*Penicillium* y géneros relacionados".

---

Deriva al Capítulo 7 - "*Penicillium* y géneros relacionados".

Crecimiento en los medios estándar CYA, MEA Y G25N (1). de crecimiento y estructura filamentosa (2), crecimiento mayor en CYA y MEA que en G25N (3), presencia de hifas semi-tabicadas (4), esporas maduras presentes en siete días (5), conidios de menos de 10 µm de tamaño y estipe formado (9), fiálides soportadas por hinchazones más o menos esféricas en los ápices del estipe (10), conidios de colores, presencia de vesícula de más de 10 µm de diámetro, estipes no septados (11). Capítulo 8 - "*Aspergillus* y sus teleomorfos".

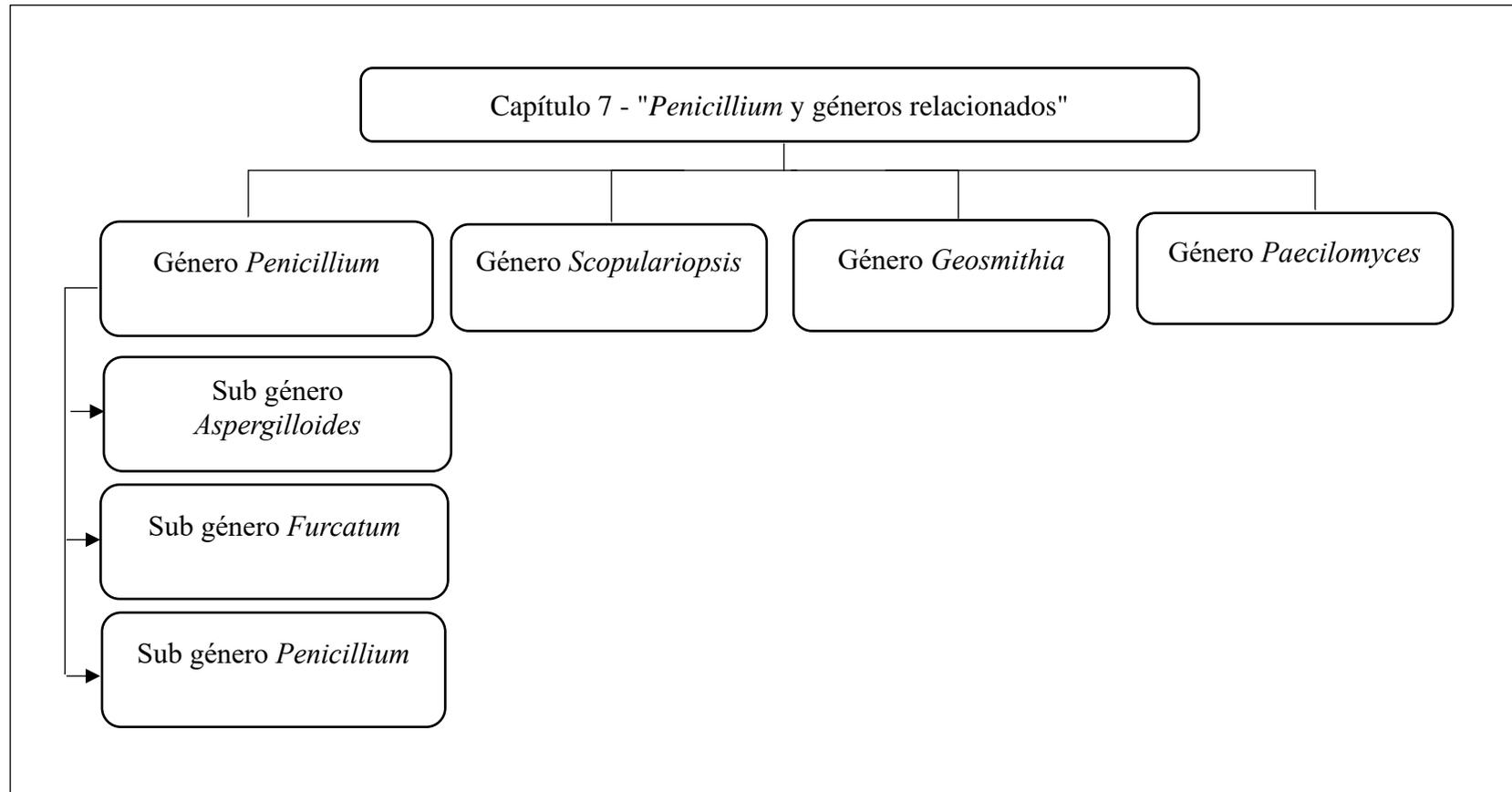
---

Deriva al Capítulo 8 - "*Aspergillus* y sus teleomorfos".

*Nota.* Adaptado de Pitt & Hocking (2009).

**Figura 17**

Clave para géneros productores de penicilli. Los conidios no están truncados en la base, completamente simétricos, de colonias brillantes y colores diferentes (1), los conidios son maduros, de esféricos a elipsoidales, en tonos de azul, verde y/o gris



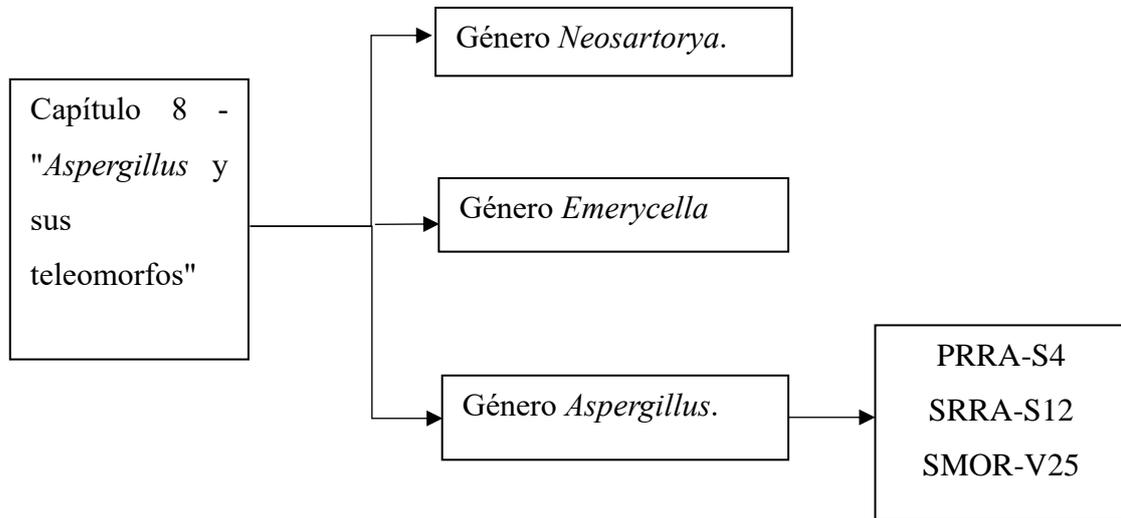
**Figura 18**

*Clave para los Subgéneros de Penicillium*

1	<i>Penicillium</i> monoverticilados o con solo una proporción menor que lleva métula.	Subgénero <i>Aspergilloides</i>	PRRA-S2
			PRRA F2
			SMOR-M23
			SRRA-S10
			SMOR-F26
2	<i>Penicillium</i> comúnmente biverticilados o más complejos. <i>Penicillium</i> predominantemente teverticilados; las colonias en G25N no suelen tener menos de 18 mm de diámetro.	Subgénero <i>Penicillium</i>	SMOR-F14
			SMOR-S15
			SMOR-S37
			PMOR-S4
			SMOR-F20
			PMOR- S9
			SMOR-F14
			SMOR-S16
3	<i>Penicillium</i> biverticilados o irregularmente monoverticilados y biverticilados; relación de longitud de métula a fiálide mucho mayor que uno; colonias en G25N de más de 9 mm de diámetro.	Subgénero <i>Furcatum</i>	No fueron encontrados aislados relacionados con este Subgénero.

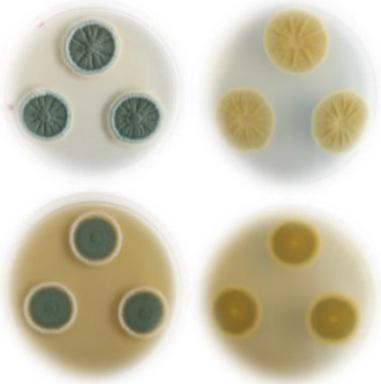
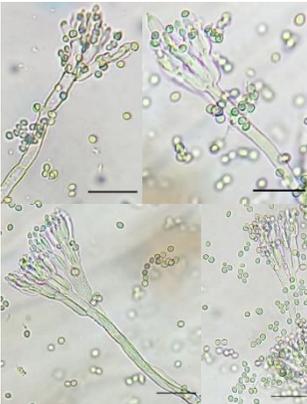
**Figura 19**

*Clave para Géneros de Aspergillus*



**Tabla 2**

*Descripción de colonias macroscópicas y microscópicas, tomando como guía el libro de Pit & Hocking (2009)*

N	Colonias macroscópicas Anverso y Reverso	Micrografía vista a 40X	Descripción y promedios de medidas
<b>SMOR- F20</b>			<p>Colonias en CYA de 32.34 mm de diámetro, radialmente surcadas, densas y velutinosas a bastante algodonosas, con producción de conidios densos, de color verde opaco; inverso pálido. Colonias en MEA de 28.41 mm de diámetro, planas, densas a algo algodonosas, por lo general muy esporuladas, de color blanco a verde opaco; reverso coloreado en tonos marrón anaranjado intenso. Colonias en G25N de 18.98 mm de diámetro, planas, densas a algodonosas, producción de conidios abundante, verde opaco, como en CYA; reverso pálido a marrón dorado. Conidióforos nacidos de las hifas superficiales, estipes largos de longitud indeterminada, a menudo ramificados irregularmente, de paredes lisas, con penicilos irregulares; penicilli muy</p>

*Penicillium nalgiovense*

---

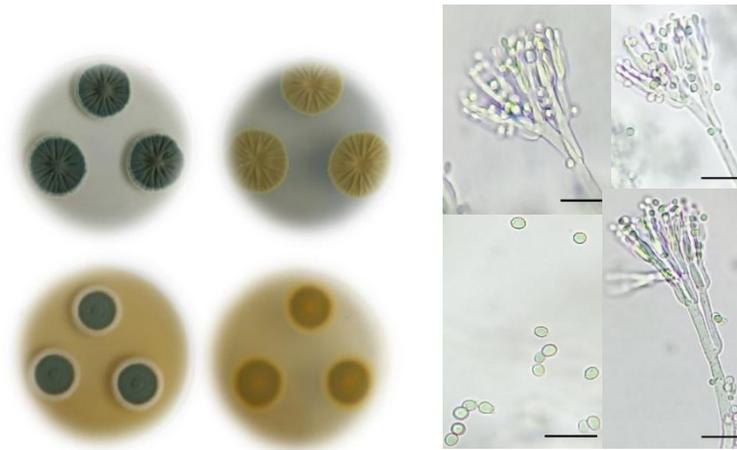
variable dentro de una sola preparación, en la forma más característica una estructura terminal teverticilados, a veces con métulas o ramas intercaladas irregulares; fiálides ampuliformes, de 7–10  $\mu\text{m}$  de largo; conidios esféricos a subesferoidales, de 3,06  $\mu\text{m}$  de diámetro, de paredes lisas, en columnas cortas.

---

**PMOR-  
S9**

**CYA**

**MEA**



*Penicillium hirsutum*

---

Colonias en CYA de 29.86 mm de diámetro, radialmente surcadas, textura superficial típicamente granular a coremial; micelio blanco en los márgenes; producción de conidios moderada, verde opaco; ocasionalmente marrón rojizo; reverso en color pálido. Colonias en MEA de 27.38 mm de diámetro, planas, textura superficial generalmente granular; micelio blanco; producción de conidios moderada, en colores similares a los de CYA; reverso pálido a amarillo intenso, marrón anaranjado. Colonias en G25N de 18.38 mm de diámetro, surcadas, de micelio blanco a amarillo; inverso verde amarillo

---

---

brillante. Los conidióforos nacen comúnmente de las hifas superficiales, de longitud indeterminada, típicamente con paredes notablemente rugosas, con grandes penicilos terminales terverticilados a cuaternarios; ramas 1–2 por penicilli, típicamente con paredes rugosas; métula generalmente de paredes ásperas; fiálides ampuliformes; conidios esféricos, de 3.39  $\mu\text{m}$  de diámetro, con paredes lisas a muy finamente rugosas, sostenidas en cadenas desordenadas.

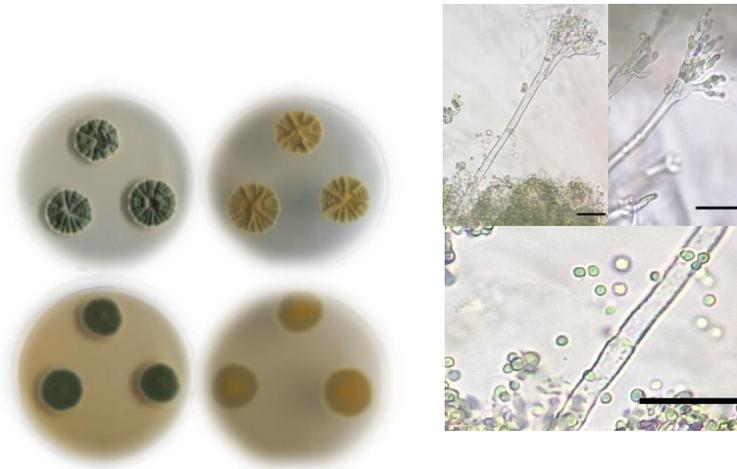
---

**PMOR-**

**S4**

**CYA**

**MEA**



*Penicillium nalgiovense*

---

Conidios de color verde grisáceo pálido, estipes de paredes lisas, sus conidios miden no más de 3.5 $\mu\text{m}$ . *P. nalgiovense*. Colonias en CYA de 23.60 mm de diámetro, radialmente surcadas, velutinosas, producción de conidios verde opaco, de reverso color pálido a rubio. Colonia en MEA de 25.11 mm de diámetro, plas y densas, muy esporosas de color verde opaco, reverso de color naranja a marrón. Colonias en G25N de 20.56 mm de diámetro, planas densas, de color verde opaco, de reverso pálido. Conidióforos nacidos de hifas

---

---

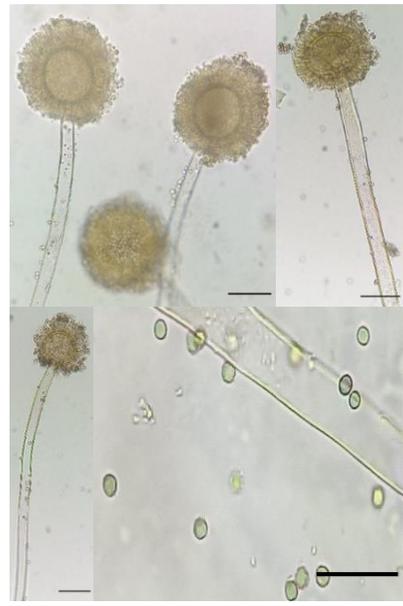
superficiales, estípites comúnmente de longitud indeterminada, ramificados irregularmente, de paredes lisas, a veces con ramas intercaladas irregulares; fiálides ampuliformes a acerosas, conidios esféricos de 2.58  $\mu\text{m}$  de diámetro, de paredes lisas.

---

**SMOR-  
V25**

**CYA**

**MEA**



*Aspergillus* sp.

---

Colonias en CYA de 42.95 mm de diámetro, planas o ligeramente arrugadas, moderadamente profundas, algodonosas, con micelio blanco a amarillo pálido; producción de conidios moderada, de color amarillo grisáceo; reverso pálido. Colonias en MEA colonias llenaron la placa el 7 mo día, planas, relativamente densas, velutinosas; micelio blanco; abundante producción de conidios, marrón; reverso pálido. Colonias en G25N de 29.78 mm de diámetro, planas, profundas, con áreas de micelio blanco algodonoso, abundantes esporas en tallos largos; conidios de color amarillo pardusco; reverso marrón pálido. Conidióforos nacidos de hifas aéreas, con paredes finas y lisas; vesículas casi

---

---

esféricas, 47.80  $\mu\text{m}$  de diámetro, con métulas y fiálides densamente empaquetadas en toda la superficie; conidios esféricos, de 3.03  $\mu\text{m}$  de diámetro, de paredes lisas, nacidas en cabezas radiadas sueltas.

---

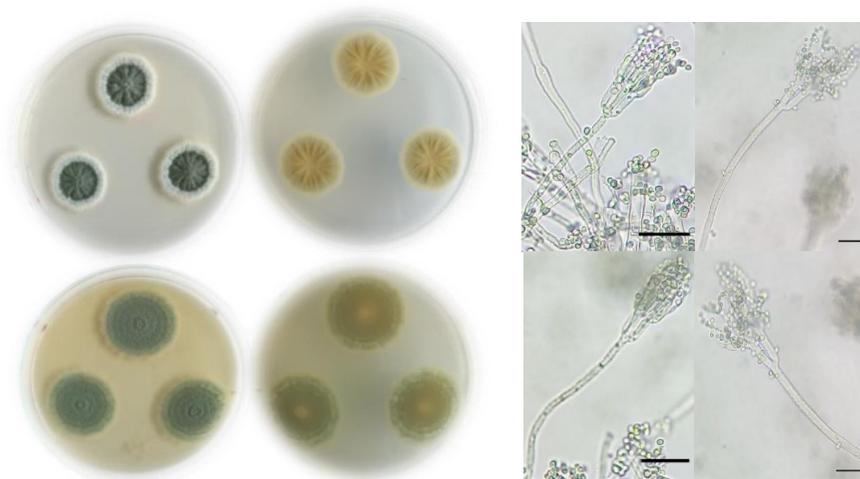
---

**SMOR-**

**F14**

**CYA**

**MEA**



*Penicillium viridicatum*

Conidios de color verde, estructuras claras, conidios de paredes suaves, colonias en CYA, no exceden los 35 mm de diámetro: *Penicillium viridicatum*. Colonias en CYA de 27.31 mm de diámetro, surcadas radialmente, densas, velutinosas, granulares, micelio usualmente discreto, blanco; producción de conidios moderada, amarillo verdoso; el reverso en tonos de blanco pálido. Colonias en MEA: 34.91 mm de diámetro, planas u ocasionalmente surcadas radialmente, granulares; formación de conidios moderados, de colores amarillo verdosos similares a los de CYA; marrón anaranjado inverso a marrón amarillento. Conidióforos de paredes rugosas, con penicilos grandes, teverticilados, de fiálides de 16.81  $\mu\text{m}$  de largo, conidios de color amarillo verdoso subsferoidales, de 2.73.  $\mu\text{m}$  de diámetro con paredes lisas a finamente rugosas.

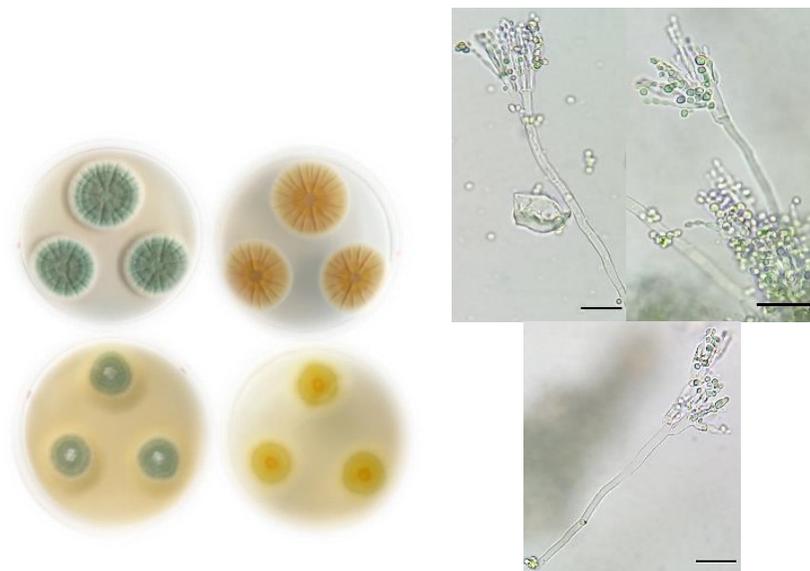
---

**SMOR-**

**F26**

**CYA**

**MEA**



*Penicillium* sp.

Colonias en CYA de 39.06 mm de diámetro, planas y surcadas radialmente, típicamente bajas con una textura granular; micelio discreto, blanco; producción de conidios intensa en toda el área de la colonia, de color predominantemente verde opaco a grisáceo, en las áreas marginales; exudado claro a marrón pálido; reverso de amarillo a marrón anaranjado, de color intenso en los márgenes. MEA de 34.55 mm de diámetro, planas y bajas y aterciopeladas los conidios que producen es abundante con una apariencia de polvo seco; reverso pálido a amarillo marrón bajo. Los conidióforos definidos, con estipe con paredes rugosas con estructura terminal biverticilados, fiálides ampuliformes de 13.43  $\mu\text{m}$  de largo, conidios esféricos de 3.06  $\mu\text{m}$ , de paredes lisas, generalmente agrupadas.

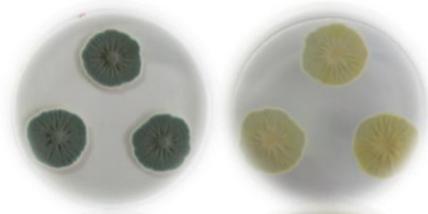
---

---

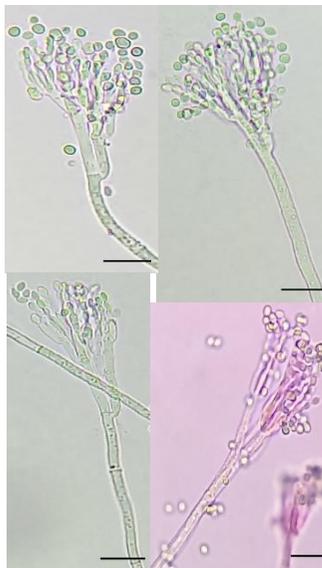
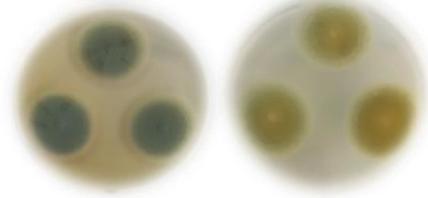
**SMOR-**

**S16**

**CYA**



**MEA**

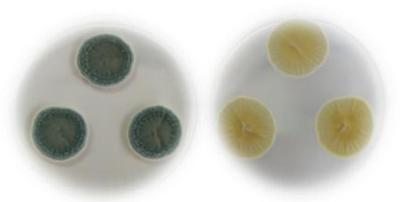


*Penicillium* sp.

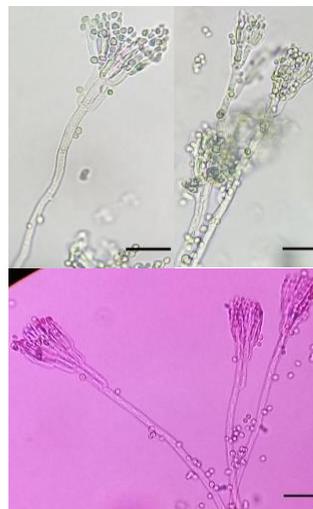
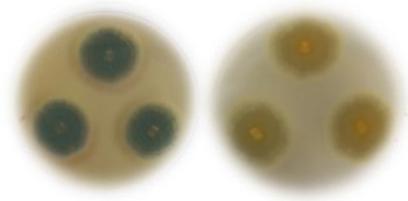
Colonias en CYA de 29.53 mm de diámetro, surcadas radialmente, umbonada en el centro, conidios producidos en cantidades moderadas, verde opaco, reverso pálido. Colonias en MEA de 36.32 mm de diámetro, planas, producción de conidios densa, coloreada como en CYA, reverso pálido a marrón anaranjado. Colonias en G25N de 22.96 radialmente surcadas, densas, textura granular. Conidióforos nacidos de hifas superficiales, solos, estípites largos, con paredes lisas, con penicilos terminales, típicamente terverticilados; las ramas nacen solas, fiálides muy compactas, ampuliformes a casi cilíndricas, de 8.90  $\mu\text{m}$  de largo, con métulas cortas; conidios elipsoidales verde opaco, 3.02  $\mu\text{m}$  de largo, paredes lisas, sostenidos en cadenas irregulares largas.

**SMOR-  
S15**

**CYA**



**MEA**



*Penicillium italicum*

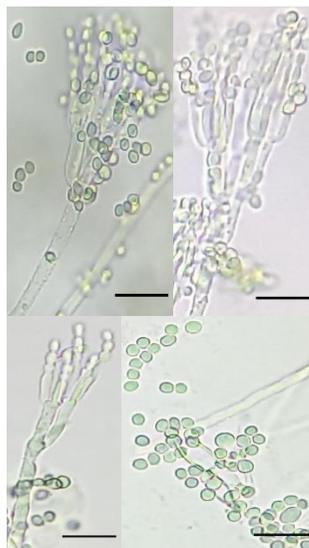
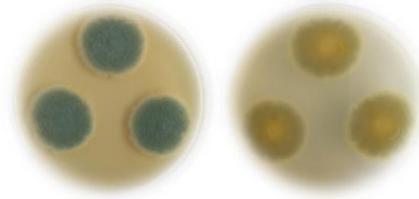
Conidios color verde, esferoidales, conidios menores de 6  $\mu\text{m}$ , las colonias en CYA y en MEA sobrepasan los 30 mm de diámetro. *P. italicum*. Colonias en CYA de 29.69 mm de diámetro, densas, granulares, presenta coremia en los márgenes, micelio blanco alrededor de la colonia, conidios verdes grisáceo., reverso pálido. colonias en MEA de 35.57 mm de diámetro, planas, coloreada como en CYA. Reverso de marrón amarillo. Conidióforos nacidos de hifas superficiales o subsuperficiales, con paredes delgadas y lisas, con estructura terminal teverticilados regulares a irregulares; ramas 1-2 por conidióforo, fiálides de forma aproximadamente cilíndrica; conidios nacidos como cilindros, agrandados y redondeados con la maduración, de elipsoidales a cilíndricas cortas, de 3.45  $\mu\text{m}$  de largo, con paredes lisas, nacidas en largas cadenas desordenadas.

**SMOR-  
S37**

**CYA**



**MEA**



*Penicillium crustosum*

Colonias en CYA de 36.57 mm de diámetro, comúnmente surcadas radialmente, textura granular y un polvo de apariencia superficial, con una pequeña coremia en los centros; micelio discreto, blanco; producción de conidios intensa en toda el área de la colonia, de color verde opaco o ligeramente más grisáceo; reverso pálido o más comúnmente de amarillo. Colonias en MEA de 33.76 mm de diámetro, planas, generalmente bajas y aterciopeladas; subsuelo del micelio; los conidios se producen muy abundantemente; reverso amarillo marrón bajo. Los conidióforos provienen principalmente de hifas del subsuelo, estipes largos, con paredes rugosas, con estructura terminal teverticilados; fiálides ampuliformes, de 9–11  $\mu\text{m}$  de largo; conidios esféricos, de 3.16  $\mu\text{m}$  de diámetro, con paredes lisas, sostenidas en masas.

## Figura 20

### Datos de campo obtenidos del agricultor

<b>Datos de cada agricultor en el Campo</b>	
1.	¿Cuántas hectáreas tiene de café y cuál es la densidad de siembra?
2.	¿Cuál es la variedad de café cultivado?
3.	Edad de la plantación (si tiene diferentes edades, indicar el área)
4.	Observar si la plantación tiene malhierbas o no y preguntar al productor su impresión sobre este punto.
5.	¿Si realiza fertilización orgánica (abono) o con fertilizantes comerciales?
6.	¿Cuándo fue la última fertilización orgánica (abono) o fertilización con productos comerciales?
7.	¿Cuál es la frecuencia de abono/ fertilización?
8.	¿Son realizadas análisis de suelo?
9.	¿Cuánto produce de café (productividad por año o por campaña)?
10.	Preguntar más o menos cuánto ganan por campaña, para tener noción de la rentabilidad.
11.	¿El café es cultivado con sombra? ¿Qué tipo de sombra (especies de árboles que son utilizadas y cuál es la distancia entre los árboles o densidad de siembra)?
12.	Pendiente y localización del área de cultivo (Google Maps – coordenadas)
13.	¿Qué problemas sanitarios tiene en el campo (broca u otros insectos, roya, ojo de pollo, cercospora, arañero, pie negro (Roselinia), nemátodo)?
a.	Indicar la intensidad de la enfermedad (alto o bajo)
14.	¿Aplican fungicida, insecticida o cualquier otro agroquímico?
15.	¿Con qué frecuencia y cuál fue la última vez?
16.	¿Quién está contestando a todas las preguntas (padre de familia, hijo etc., o sea, cuál es el perfil de la persona encuestada)?
17.	¿Pertenece a una cooperativa y a cuál cooperativa y/o a quién venden el café?
18.	¿Cuál es la apreciación de la calidad de la plantación (creen que está muy buena, está regular o está bajo, o sea, la apariencia de las plantas, sombra etc)? Sacar fotos panorámicas.
19.	¿Llovió esta última semana? (para saber las condiciones ambientales que fueron sometidas las muestras que será recolectadas)
20.	¿Hace cuántas horas está fermentando el grano muestreado?
21.	¿Hace cuánto tiempo está almacenado el grano muestreado?
22.	Sacar foto de cada local de muestreo.
23.	Verificar si tienen producción animal, animales domésticos, aves etc.
24.	Verificar la región alrededor (situación geográfica o en qué parte del paisaje está la plantación – morro, parte baja, cerca de ríos, montañas etc.)
<b>Incluir la coleta de muestra de suelo (para análisis de caracterización, microbiológica y de nematodos)</b>	
<b>No preguntar solamente, ir a verificar las informaciones dadas por el agricultor</b>	
Preguntar al productor lo que está haciendo falta y si podríamos apoyar en algo	