

ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DE INFECCIONES QUIESCENTES DE  
*Colletotrichum* spp., EN FLORES Y FRUTOS DE MORA (*Rubus glaucus*  
Benth)



YULI ANDREA ABELLA MONTAÑO

CORPORACION COLOMBIANA DE INVESTIGACION AGROPECUARIA  
(CORPOICA) SEDE TIBAITATÁ

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONÓMICA

MOSQUERA, 2015

ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DE INFECCIONES QUIESCENTES DE  
*Colletotrichum* spp., EN FLORES Y FRUTOS DE MORA (*Rubus glaucus*  
Benth)

YULI ANDREA ABELLA MONTAÑO

DIRECTOR:

ERIKA P. MARTÍNEZ LEMUS

INVESTIGADOR MÁSTER

FITOPATOLOGÍA

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONÓMICA

MOSQUERA, 2015

## CONTENIDO

<b>1. RESUMEN</b>	<b>8</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
<b>3. MARCO REFERENCIAL</b>	<b>13</b>
3.1 ANTECEDENTES	12
3.2 MARCO TEORICO	14
3.2.1 MORA ( <i>Rubus glaucus</i> Benth)	14
Botánica y descripción de la planta	15
Requerimientos edafoclimáticos	16
Ciclo del cultivo	16
Problemas fitosanitarios	16
3.2.2 ANTRACNOSIS	17
Sintomatología	17
Agente causal de la antracnosis	20
Generalidades del género <i>Colletotrichum</i> spp	20
Infecciones quiescentes	22
Manejo cultural de la antracnosis	23
<b>4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA</b>	<b>24</b>
4.1 JUSTIFICACION	24
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>26</b>
5.1 Objetivo general	26
5.2 Objetivos específicos	26
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>27</b>
Localización de la investigación	27

Colecta de material vegetal	27
Desinfección y montaje del material vegetal	28
Detección de infecciones quiescentes en flores y frutos asintomáticos de mora	29
Identificación de especies de <i>Colletotrichum</i> spp., mediante medios selectivos	29
Pruebas preliminares de patogenicidad sobre tallos de mora	31
Pruebas de patogenicidad sobre flores y frutos de mora	33
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>35</b>
Colecta de material vegetal	35
Detección de infecciones quiescentes en flores y frutos asintomáticos de mora	37
Incidencia de I. Q en los seis estados fenológicos del botón floral de mora	38
Incidencia de I. Q en los municipios visitados	42
Identificación de especies de <i>Colletotrichum</i> spp	43
Análisis macro y microscópico de los aislamientos de <i>Colletotrichum</i> spp	48
Pruebas de patogenicidad sobre flores y frutos de mora	50
<b>8. CONCLUSIONES</b>	<b>53</b>
<b>9. RECOMENDACIONES</b>	<b>55</b>
<b>10. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>56</b>

## ANEXOS

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Síntomas producidos por antracnosis sobre tallos de mora.	18
<b>Figura 2.</b> Momificación de frutos de mora causada por antracnosis.	19
<b>Figura 3.</b> Planta de mora enferma por antracnosis.	19
<b>Figura 4.</b> Eventos entre el patógeno y el hospedero dentro de la infección quiescente en frutos por <i>C. gloeosporioides</i> .	22
<b>Figura 5.</b> Clasificación de los seis estados fenológicos del botón floral de mora ( <i>Rubus glaucus</i> Benth).	27
<b>Figura 6.</b> Órganos clasificados en los seis estados fenológicos del botón floral de mora, provenientes de la colecta en campo.	28
<b>Figura 7.</b> Disposición de los discos de agar sobre tallos de mora en cámaras húmedas.	32
<b>Figura 8.</b> Estados fenológicos del botón floral de mora inoculados con disco de agar de los siete aislamientos seleccionados.	34
<b>Figura 9.</b> Presencia de acérvulos con masas de conidios color naranja-salmón característicos de <i>Colletotrichum</i> spp., sobre el pedúnculo floral de mora.	38
<b>Figura 10.</b> Presencia de acérvulos con masas de conidios color naranja-salmón característicos de <i>Colletotrichum</i> spp., sobre el pedúnculo y porción basal del botón floral de mora.	40
<b>Figura 11.</b> Desarrollo de las colonias de <i>Colletotrichum</i> spp., en los tres medios de cultivo.	44
<b>Figura 12.</b> Desarrollo de las colonias de <i>Colletotrichum</i> spp., en los tres medios de cultivo.	45
<b>Figura 13.</b> Desarrollo de las colonias de <i>Colletotrichum</i> spp., en los tres medios de cultivo.	46
<b>Figura 14.</b> Desarrollo de las colonias de <i>Colletotrichum</i> spp., en los tres medios de cultivo.	47

<b>Figura 15.</b> Dendograma de la velocidad de crecimiento de los aislamientos de <i>Colletotrichum</i> spp., obtenidos de flores y frutos de mora.	48
<b>Figura 16.</b> Morfología apical de conidias de <i>Colletotrichum</i> spp.	49
<b>Figura 17.</b> Dendograma de la similitud de los extremos de las conidias de cada uno de los aislamientos de <i>Colletotrichum</i> spp.	50
<b>Figura 18.</b> Botón floral cerrado con síntomas de antracnosis.	51
<b>Figura 19.</b> Fruto de mora con necrosis, hundimiento y presencia de acérvulos en la zona de inoculación.	51

#### LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de las dos especies de <i>Colletotrichum</i> mediante pruebas de identificación.	30
<b>Tabla 2.</b> Información sobre los siete aislamientos seleccionados.	33
<b>Tabla 3.</b> Tiempo de incubación para los seis estados fenológicos del botón floral de mora.	37

## LISTA DE GRAFICAS

<b>Grafica 1.</b> Porcentaje de producción de mora por departamentos durante el año 2012.	14
<b>Grafica 2.</b> Distribución del porcentaje de las fincas muestreadas en los departamentos de Cundinamarca, Santander y Antioquia.	35
<b>Grafica 3.</b> Distribución del porcentaje de fincas muestreadas en tres municipios del departamento de Cundinamarca.	36
<b>Grafica 4.</b> Distribución del porcentaje de fincas muestreadas en cinco municipios del departamento de Santander.	36
<b>Grafica 5.</b> Distribución del porcentaje de fincas muestreadas en tres municipios del departamento de Antioquia.	37
<b>Grafica 6.</b> Porcentaje de infecciones quiescentes causada por <i>Colletotrichum</i> spp., en los seis estados fenológicos del botón floral de mora.	39
<b>Grafica 7.</b> Porcentaje de infecciones quiescentes causada por <i>Colletotrichum</i> spp en los municipios visitados.	42
<b>Gráfica 8.</b> Porcentaje de la incidencia de los siete tratamientos utilizados en el ensayo de pruebas de patogenicidad sobre flores y frutos de mora.	52

## LISTA DE ANEXOS

<b>ANEXO 1.</b> Incidencia de infecciones quiescentes en los seis estados fenológicos del botón floral de mora.	62
<b>ANEXO 2.</b> Incidencia de infecciones quiescentes en los municipios visitados.	63
<b>ANEXO 3.</b> Pruebas con medios selectivos a los 63 aislamientos de <i>Colletotrichum</i> spp.	64
<b>ANEXO 4.</b> Base de datos con el registro de incidencia y coordenadas geográficas de las 50 fincas productoras de mora visitadas en los departamentos de Cundinamarca, Antioquia y Santander.	65

## **MARCO CONCEPTUAL**

**Acérvulo:** Cuerpo fructífero en forma de cojín, donde se originan los conidióforos y conidias.

**Anamorfo:** Fase asexual del hongo, también llamada el estado imperfecto; se presenta cuando el hongo produce esporas asexuales o conidias.

**Antracnosis:** Lesión necrótica profunda, se caracteriza por presentarse en diferentes órganos de la planta hospedera.

**Apresorio:** Porción hundida del filamento del hongo que se adhiere a la superficie de una planta superior. Es responsable de la fijación a la pared celular, penetración y fisiología de la enfermedad.

**Colonia:** Desarrollo de un microorganismo en masa.

**Conidia:** Espora de origen asexual.

**Conidióforo:** Hifa fértil en la cual se producen las conidias, puede ser simple o ramificado.

**Cuerpo fructífero:** Estructura fungosa compleja que origina esporas.

**Hialina:** Transparente o traslucido.

**Incidencia:** Numero de plantas o partes de la planta afectada.

**Infeción:** Invasión y desarrollo de un microorganismo en un tejido.

**Latencia o quiescencia:** Periodo inactivo; ocurre cuando la infección está presente pero no se manifiesta visible.

**Patogenicidad:** Habilidad de causar enfermedad.

**Patógeno:** Organismo u agente que causa enfermedad.

**Teleomorfo:** Fase sexual del hongo o estado perfecto.

**Tubo germinal:** Hifa resultante de una conidia.

## 1. RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de *Colletotrichum* spp., en estado quiescente de flores y frutos de mora (*Rubus glaucus* Benth). Para ello, se realizaron colectas de flores y frutos asintomáticos de cultivos en etapa productiva de los departamentos de Cundinamarca, Santander y Antioquia, las cuales fueron procesadas y colocadas en cámaras húmedas con el fin de detectar infecciones quiescentes mediante la formación de acérvulos. Al cabo de ocho y 15 días (estados IV, V, VI; y I, II, III respectivamente) se identificaron los primeros síntomas de antracnosis y signos característicos del patógeno en todas las estructuras. Sin embargo, estadísticamente se observaron diferencias significativas en la incidencia de infecciones quiescentes en los seis estados fenológicos del botón floral de mora; además, se evidenció mayor presencia de la enfermedad en los dos primeros estados.

Se estableció una colección de estudio la cual se conformó con 63 aislamientos de *Colletotrichum* spp., obtenidos a partir de la siembra de acérvulos presentes en cada uno de los órganos. A cada colonia se le realizaron pruebas de identificación con medios selectivos para diferenciar entre especies de *Colletotrichum*; y posteriormente su respectiva caracterización morfológica a nivel macroscópico y microscópico, obteniendo como resultado la identificación de 61 aislamientos, los cuales posiblemente pertenecen al complejo de especies de *Colletotrichum acutatum* y dos a la especie *Colletotrichum gloeosporioides*.

La patogenicidad de los aislamientos seleccionados se evaluó inoculando discos de agar sobre los seis estados fenológicos del botón floral de mora, demostrando que todos los aislamientos causaron infección en esas estructuras; sin embargo, el aislamiento C4EF: V presentó mayor colonización de acérvulos y por ende, necrosis del tejido con mayor rapidez con respecto a los demás tratamientos.

**Palabras claves:** *antracnosis, latencia, enfermedad.*

## ABSTRACT

This research aimed to determine the presence of *Colletotrichum* spp., quiescent flower and fruit of blackberry (*Rubus glaucus* Benth). To do this, asymptomatic collections of flowers and fruits of crops in productive stage of Cundinamarca, Santander and Antioquia, which were processed and placed in humid chambers in order to detect quiescent infections by forming acervuli were made. After eight and 15 days (states IV, V, VI, and I, II, III respectively) the first symptoms of anthracnose and characteristic signs of the pathogen in all the structures were identified. However, statistically significant differences were observed in the incidence of quiescent infections in six growth stages of flower bud blackberry; also greater presence of the disease is evident in the first two states.

A collection of study which was made up of 63 isolates was established *Colletotrichum* spp., obtained from planting acervuli present in each of the bodies. Each colony was subjected to tests with selective identification to differentiate between species of *Colletotrichum* means; and subsequently to their respective morphological characterization macroscopic and microscopic level, resulting in the identification of 61 isolates, which possibly belong to species complex *Colletotrichum acutatum* and two to the species *Colletotrichum gloeosporioides*.

The pathogenicity of selected isolates was evaluated by inoculating agar plates on the six phenological stages blackberry flower bud, demonstrating that all isolates caused infection in these structures; however, the isolation C4EF: V showed higher colonization of acervuli and thus tissue necrosis faster relative to other treatments.

**Key words:** *anthracnose, latency, disease.*

## 2. INTRODUCCION

Los frutales tropicales se perfilan como una de las mejores opciones en la agricultura Colombiana por el crecimiento de la demanda a nivel nacional e internacional; la cual es suplida en la actualidad por importaciones. La especie *Rubus glaucus* Benth, conocida comúnmente como mora de castilla, ha sido identificada como uno de los frutales con mayor potencial de desarrollo en la zona andina colombiana (Marulanda *et al.*, 2007). Las estadísticas para 2011, reportadas por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, registraron una producción nacional de 94.303 t, procedentes de 11.673 hectáreas, cifras que, según proyecciones del Plan Frutícola Nacional para el 2026, presentarán un incremento equivalente a 20.631 ha, esto significa mayores oportunidades para los pequeños y medianos productores que abastecen el consumo tanto en fresco como para la industria, ya que este incremento le permite al cultivo de mora constituirse como una alternativa agrícola rentable frente a otros cultivos del mismo piso térmico (Ayala *et al.*, 2013; Forero de la Rotta *et al.*, 2002).

En los últimos años el cultivo de la mora ha presentado numerosos problemas fitosanitarios, entre las más importantes se encuentra la antracnosis (*Colletotrichum* spp.), moho gris (*Botrytis cinerea*), mildew veloso (*Peronospora* spp.) y mildew polvoso (*Oidium* spp.). La antracnosis causada por el hongo *Colletotrichum* spp., ha sido considerado como uno de los principales patógenos que ataca las plantaciones de frutales durante prefloración, y la enfermedad permanece asintomática hasta que el grado de maduración del fruto es tal, que el patógeno realiza una invasión intercelular y la enfermedad se expresa, conociéndose dicho fenómeno como infección quiescente (Montoya y Vargas, 2002); aunque no se reporta como la principal limitante en la producción del cultivo de mora, cada vez está cobrando mayor interés en el campo fitopatológico debido a que presenta incidencias superiores al 52%, severidad estimada del 25% y abandono de cultivos (Saldarriaga, 2007); siendo los tallos, brotes tiernos, inflorescencias, frutos en formación y en estados avanzados de desarrollo las partes más afectadas (Femenia, 2007).

La enfermedad causada por las diferentes especies del género *Colletotrichum* (*C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *C. boninense*) (Saldarriaga, 2011), se manifiesta por la aparición de manchas oscuras en hojas y frutos, con formas redondeadas u ovaladas, con tamaños variables que pueden oscilar entre un diámetro de 1 o 2 mm hasta 5 cm; en algunas ocasiones, las lesiones se presentan ligeramente sumidas o poseen un contorno levemente elevado. En general, las lesiones producidas por la antracnosis se presentan con tonalidades negras o marrones; en otras ocasiones, las infecciones aparecen con coloraciones que van del rojo ladrillo al púrpura, y posteriormente cambian a coloraciones pardas oscuras, hasta adquirir tonalidades muy negras; por ende, el nombre de antracnosis hace alusión al aspecto visual de las manchas (Femenia, 2007).

Reportes indican que esta enfermedad ha ocasionado pérdidas entre 53% y 70% en cultivos de mora en Colombia (Marulanda *et al.*, 2007), 50% y 70% en tallos y un 5% en frutos tanto en precosecha como en postcosecha (Saldarriaga, 2007).

El presente trabajo tiene como propósito estudiar la incidencia de infecciones quiescentes de *Colletotrichum* spp., en flores y frutos de mora (*Rubus glaucus* Benth), como fuentes de inóculo que debe tenerse en cuenta para diseñar estrategias de manejo eficaces para el manejo preventivo de la antracnosis en mora.

### 3. MARCO REFERENCIAL

#### 3.1 ANTECEDENTES

Reyes (2007), demostró la relación fenológica reproductiva y el comportamiento de las infecciones latentes de *Colletotrichum acutatum* en los cuatro estados fenológicos del fruto de tomate de árbol, concluyendo que los frutos inmaduros son los que presentan una mayor abundancia de infecciones quiescentes debido a sus altos valores de pH, además, de corroborar por medio de pruebas biológicas a *Colletotrichum acutatum* como agente causal de la enfermedad.

Parra (2008), mediante pruebas de sensibilidad al Benomyl, la prueba cualitativa de la proteasa y el medio selectivo para *Colletotrichum* spp (Cu(OH)<sub>2</sub> + PDA), determinó la presencia de la especie *C. gloeosporioides* como el agente causal de la antracnosis en mango; además, mediante inoculación de bloques de agar sobre los frutos demostró que todos los aislamientos provenientes de los diferentes estados fenológicos del fruto de mango (*Mangifera indica* L) var. Hilacha causan infección.

Saldarriaga *et al.*, (2008), realizaron la caracterización morfológica del agente causal de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora mediante pruebas moleculares usando oligonucleótidos específicos, dando como resultado que *C. acutatum* es el agente causal de la enfermedad, además estas pruebas permitieron diferenciar a *C. gloeosporioides* de *C. acutatum*.

Santacruz (2013), determinó por medio de caracterización morfológica, patogénica y molecular, la presencia de *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *C. capsici*, asociadas a la antracnosis del ají. Sin embargo, el análisis de los RAMs mostró diferenciación genética entre y dentro de los aislamientos, lo que evidencia la diversidad fenotípica y genética del complejo *Colletotrichum* spp.

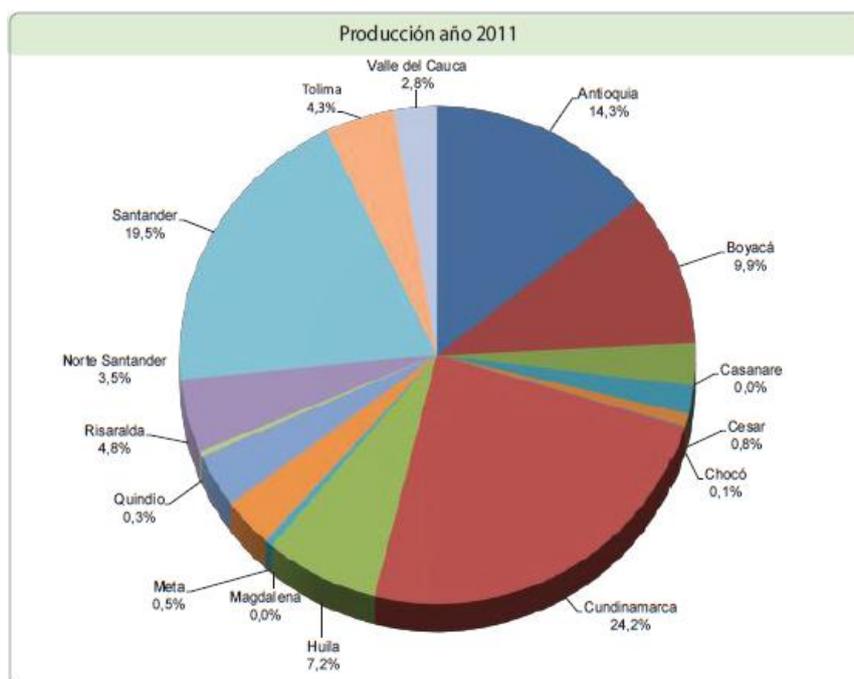
### 3.2 MARCO TEORICO

#### 3.2.1 MORA (*Rubus glaucus* Benth)

Los Andes de Colombia y Ecuador son el hábitat natural del género *Rubus*, con casi 700 especies la más grande de la familia *Rosaceae* y uno de los más diversos del reino vegetal; este género se ha extendido por las tierras altas tropicales, por lo general a más de 800 metros sobre el nivel del mar produciéndose desde México hasta Ecuador (Marulanda *et al.*, 2007)

Las especies más conocidas y cultivadas en Colombia son *Rubus glaucus*, *Rubus bogotensis* que se cultivan en Antioquia, Cundinamarca, Boyacá y Valle; *Rubus notingensis*, cultivada en Caldas, Cauca y Cundinamarca; *Rubus floribundus* es la más común en la sabana de Bogotá (Gutiérrez y Parra, s.f); como se puede observar en las cifras reportadas por el ministerio de agricultura y desarrollo rural (MADR) en el año 2012, las cuales posicionan a los departamentos de Cundinamarca, Santander y Antioquia con los mejores porcentajes de producción de este cultivo.

**Grafica 1.** Porcentaje de producción de mora por departamentos durante el año 2012



Fuente: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) 2012

## Botánica y descripción de la planta

Reino: Vegetal

División: Antofita

Clase: Dicotiledónea

Orden: Rosales

Familia: Rosáceas

Género: *Rubus*

La mora es una planta de vegetación perenne, arbustiva semi-erecta, conformada por varios tallos espinosos que pueden crecer hasta tres metros. Las hojas tienen tres folíolos, ovoides de 3 a 5 cm de largo con espinas ganchudas. Los tallos son espinosos con un diámetro entre 1 a 2 cm y de 3 a 4 m de longitud, se clasifican en tallos primarios, del cual se desprenden ramas primarias, secundarias y terciarias. Tanto los tallos como las hojas están cubiertos por un polvo blanquecino. Los peciolos también tienen espinas de color blanco y son de forma cilíndrica. En la base de la planta se encuentra la corona de donde se forman los tallos la cual está conformada por una gran cantidad de raíces superficiales. El sistema radicular es profundo y puede llegar a profundizar más de un metro dependiendo del suelo (Martínez *et al.*, 2007). El fruto es agregado, constituido por un conjunto de drupas succulentas (polidrupa) con una semilla en su interior; pueden ser circulares, cónicos o elípticos, su tamaño puede ser grande, mediano o pequeño; maduración dispereja debido a la posición en el racimo, presentan fructificación continua aunque se observan picos de producción a intervalos de 5 a 6 meses (Zapata, 2003 citado por Contreras, 2006). Las flores son blancas, pequeñas, con inflorescencias laterales de 6 a 11 mm de ancho, de pedúnculo corto, cáliz con cinco partes, corola de cinco segmentos lobulados y estambres desiguales (ICA, 2011).

## **Requerimientos edafoclimáticos**

La planta requiere de suelos con textura franca, permeables, profundos, con buen contenido de materia orgánica, buena capacidad de retención de humedad y con un pH de 5,3 a 6,2. Se desarrolla bien a una altitud que oscile entre 1.000 y 3.600 m.s.n.m. y temperaturas de 14 a 19 °C. Los requerimientos hídricos del cultivo fluctúan entre 1.500 y 2.500 mm anuales (Freire, 2012).

## **Ciclo del cultivo**

La mora presenta tres etapas de desarrollo: la primera, en la que se obtienen las nuevas plantas, ya sea de forma sexual o asexual; la segunda o de formación y desarrollo vegetativo, donde se conforma la planta y la tercera etapa, la productiva que se inicia a los ocho meses después del trasplante y se mantiene constante durante varios años (Martínez *et al.*, 2007). De acuerdo con el método de propagación utilizado, la obtención de una nueva planta, puede tomar de 10 hasta 30 días, desde el momento en que se realiza la propagación asexual. Posteriormente se inicia la etapa de vivero que puede tomar entre 45 y 60 días para que estén listas las plantas para el trasplante a sitio definitivo. Contando desde el momento del trasplante, a los ocho meses se inicia la producción, la cual se va incrementando hasta estabilizarse en el mes 18. Se presentan uno o dos picos bien marcados de cosecha dependiendo de los periodos de lluvia en cada zona. Se estima una vida útil de 12 a 15 años dependiendo del manejo que se le dé al cultivo. En Colombia, en zonas de Cundinamarca y Antioquia, existen cultivos que tienen entre 15 y 20 años de edad, pero los rendimientos reportados son inferiores a los registrados en los cultivos más jóvenes (Barrero, 2009).

## **Problemas fitosanitarios**

Normalmente el cultivo de mora se ve atacado por innumerables plagas y enfermedades que afectan diferentes órganos de la planta como raíces, tallos,

hojas, flores y frutos, disminuyendo calidad y volumen de la producción (ICA, 2011). Las plagas más importantes son: perla de tierra *Eurhizococcus* sp., barrenadores del tallo *Zascelis* sp., áfidos *Aphis* sp., araña roja *Tetranychus* sp., y la mosca de la fruta *Anastrepha* sp (Gutiérrez y Parra, s.f). Entre las enfermedades registradas con mayor frecuencia se encuentran el moho gris (*Botrytis cinerea* Pers), mildew polvoso (*Oidium* sp.), mildew veloso (*Peronospora sparsa* Berk), marchitez y pudrición de las raíces (*Verticillium* sp.), *Fusarium* sp. y (*Rosellinia* sp.), y la antracnosis (*Colletotrichum* spp.), considerada como una de las enfermedades que se presenta con mayor frecuencia y severidad, caracterizándose por distribuirse en los cultivos de frutales ubicados entre climas fríos y cálidos (Forero de La Rotta, 2001).

### 3.2.2 ANTRACNOSIS

Es una enfermedad que se encuentra presente en todas las regiones productoras de mora de Colombia, con incidencias que van del 50 al 73% (CIAT, 2010). Se caracteriza por provocar una alteración fisiológica que trastorna los procesos de síntesis, translocación y utilización de agua, minerales y sustancias elaboradas, haciendo que la planta afectada reduzca su rendimiento respecto a su potencial genético (Ulloa, 2008). Se caracteriza por producir lesiones necróticas en frutos, hojas y flores, en los cuales se observa claramente un crecimiento masivo de conidias color naranja (Freeman *et al.*, 1998).

#### Sintomatología

La enfermedad se manifiesta inicialmente en ramas, tallos y peciolo, presentando cambios de color verde normal hacia tonos violeta o morado que los cubre parcial o totalmente. Con el progreso de la enfermedad las manchas se agrandan y el centro toma una coloración grisácea con bordes oscuros, seguidas por la aparición de las estructuras reproductivas del hongo, constituidas por acérvulos y masas de conidias color salmón. Sin embargo, las

diferentes labores del cultivo pueden llegar a ocasionar cortes o heridas en la planta, permitiendo que el microorganismo penetre con mayor facilidad y genere una rápida colonización por todo el tejido, produciendo muerte descendente de la rama y en algunas ocasiones, muerte desde la base del tallo hacia las ramas superiores. Cabe resaltar que ésta enfermedad también se manifiesta en yemas o espinas, produciendo a su alrededor manchas de color oscuro con bordes bien definidos, ocasionando el avance del microorganismo en forma ascendente y posterior necrosis de la rama recién formada (Figura 1) (Forero de La Rotta, 2001), ya que puede atacar brotes tiernos, botones florales y producir momificación de los frutos (Figura 2) (Barrero, 2009). Por último la planta enferma “se seca”, de ahí que en algunas zonas la enfermedad se conozca como “palo negro” o “tuna negra” (Figura 3).



**Figura 1.** Síntomas producidos por la enfermedad, se observa una mancha

(Foto: Abella, 2014)



**Figura 2.** Momificación de frutos de mora causada por antracnosis  
(Foto: Abella, 2014)



**Figura 3.** Planta de mora enferma por antracnosis, se observa muerte total del tejido.  
(Foto: Abella, 2014)

## **Agente causal de la antracnosis**

En lo que respecta a los registros en el mundo tanto Waller (1992) como Gonzales y Ávila (2001), coinciden que las principales especies de *Colletotrichum* que causan enfermedades en las regiones tropicales y que generan las mayores pérdidas socio-económicas a nivel mundial son *C. gloeosporioides* (anamorfo o asexual), siendo el agente causal de la enfermedad en *R. glaucus*, o el hongo *Glomerella cingulata*, en su estado sexual o telemorfo; sin embargo, otras investigaciones en el Valle del Cauca concluyen que el agente causal de la antracnosis es *Colletotrichum acutatum* (Forero de La Rotta *et al.*, 2002 y Marulanda *et al.*, 2007).

Según literatura, *C. gloeosporioides* ha sido asociado con infecciones quiescentes y enfermedades en poscosecha sobre frutos tales como el aguacate, mango, papaya, maracuyá, guayaba, granadilla, cítricos, manzana y uva. *C. acutatum* ha sido reportado sobre hospederos de frutas cultivadas en zonas templadas y subtropicales incluyendo manzana, uva, melocotón, almendra y kiwi. Bajo condiciones tropicales, *C. acutatum* se ha reportado causando pérdidas en poscosecha en guayaba. Sin embargo, se han reportado varias especies de *Colletotrichum* asociadas a un solo hospedero; por ejemplo, la fresa puede ser infectada por *C. acutatum*, *C. fragariae* y *C. gloeosporioides* (Contreras, 2006); pero investigaciones realizadas en el departamento de Antioquia confirman la presencia de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum acutatum* y *Colletotrichum boninense* asociadas al cultivo de mora (Saldarriaga, 2011).

## **Generalidades del género *Colletotrichum***

El género *Colletotrichum* presenta un amplio currículo en cuanto a su historia taxonómica y biológica. Fue establecido por Corda en 1831, siendo caracterizado por cuerpos fructíferos denominados acérvulos (Menezes, 2006). Este género contiene especies que están entre los hongos patógenos de plantas más exitosos, causando daños económicamente significativos a

cultivos en regiones tropicales, subtropicales y templadas (Bailey y Jeger, 1992).

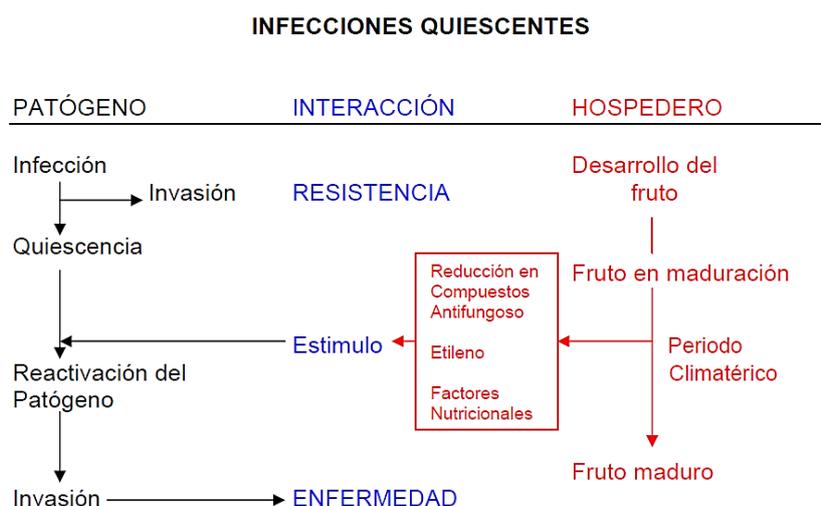
*Colletotrichum* se caracteriza por presentar un micelio enramado inmerso, septado, que toma coloración hialina hasta castaño pálido. Acérvulos separados o confluentes en forma de disco o cojín, ceroso, subepidermal, epidermal y subcuticular típicamente con setas o espinas negras en los bordes o entre los conidióforos, formado de pseudoparénquima con paredes delgadas o gruesas; conidióforos simples, elongados; conidias hialinas, ovoides u oblongadas. Las setas presentes o ausentes, originadas irregularmente desde el pseudoparénquima, más o menos fuertes, no ramificadas, con un ápice agudo u obtuso, suaves y con una pared gruesa septada en algunos casos. Los conidióforos septados, ramificados sobre la base de color castaño claro o hialina, formados de la parte superior de las células del pseudoparénquima son simples, cortos, erectos. Las conidias también son hialinas, aseptadas de forma cilíndrica, fusiforme, de una sola célula, que durante la germinación se torna de color castaño pálido, se septan y forman el apresorio. A menudo las esporas son tan numerosas que pueden formar masas brillantes de color rosado (Contreras, 2006).

Una característica de algunas especies de *Colletotrichum* es que pueden causar infecciones latentes o quiescentes sobre los frutos, las cuales van desde unos pocos días, varias semanas o inclusive meses, originando las infecciones quiescentes, que en el contexto de enfermedades de poscosecha involucra la inhibición del desarrollo del patógeno a través de condiciones fisiológicas impuestas por el hospedero hasta que se lleva a cabo el estado de maduración (Parra, 2008) o sufrir un proceso de activación, ya sea por cambios bruscos de temperatura, daños al tejido por insectos, daños mecánicos o senescencia de tejidos, lo que produce lesiones necróticas que en condiciones normales no son detectadas (Alarcón y Chavarriaga, 2007).

## Infecciones quiescentes

Según Yerhoeff (1974), una infección quiescente se define como una condición en la cual el patógeno reduce su actividad metabólica, deteniendo el proceso de infección por un periodo considerable durante la vida del hospedero, que se reactiva cuando las circunstancias fisiológicas o ambientales lo permitan, como se observa en la figura 4. De Lapeyre (2000), define el estado quiescente del hongo como la circunstancia en la cual una espora que entra en contacto con la superficie del fruto, germina y forma un apresorio que se melaniza y permanece inactivo hasta la maduración del fruto (citado por Parra, 2008).

Para Alarcón y Chavarriaga (2007), la infección quiescente la describen como una relación parasítica latente, que después de un tiempo prolongado cambia a una forma activa y es una de las características que poseen todas las especies de este género, ya que el periodo de latencia puede ser corto, de unos pocos días como en la mayoría de florescencias, o varios meses como ocurre en las infecciones quiescentes de las frutas (Contreras, 2006); en este lapso de tiempo no se observan los síntomas típicos de la enfermedad; las primeras lesiones solo se manifiestan cuando en los frutos comienza el proceso de maduración; cabe resaltar que las investigaciones realizadas sobre esta etapa indican que el desarrollo del patógeno se dispara con los cambios metabólicos que ocurren durante este periodo (Femenia, M. 2007).



**Figura 4.** Eventos entre el patógeno y el hospedero dentro de la infección quiescente en frutos por *C. gloeosporioides*. Tomado de Parra, 2008.

### **Manejo cultural de la antracnosis**

Básicamente para el manejo de la enfermedad se recomienda una serie de practica culturales como realizar periódicamente las podas de saneamiento y de formación; recoger frecuentemente todos los residuos de poda y retirarlos fuera del lote; hacer control de arvenses tanto en el plato como en las calles con el fin de proporcionar mayor aireación dentro del cultivo (ICA, 2011).

## 4. FORMULACION DEL PROBLEMA

### 4.1 JUSTIFICACION

La mora (*Rubus glaucus* Benth), debido a sus características fisicoquímicas, morfológicas y fisiológicas, se constituye en uno de los frutos más lábiles en la cadena hortofrutícola colombiana (Ayala *et al.*, 2013).

Se estima que existen aproximadamente 750 especies del género *Colletotrichum* (Bailey y Jeger, 1992 citado por Lizarazo, 2005) y cada una de ellas está ligada a un hospedero diferente; en algunos casos no es sólo una especie la que ocasiona la enfermedad, lo que hace aún más complejo su estudio (Lizarazo, 2005). Cabe resaltar que la diferenciación y el diagnóstico de las especies de *Colletotrichum* se ha basado en caracteres morfológicos, principalmente tamaño y forma de las conidias, presencia de setas, esclerocios, forma del apresorio, color y aspecto de la colonia, y otras características como tasa de crecimiento, sensibilidad a benomyl, temperatura optima de crecimiento y existencia del telemorfo; sin embargo, estas características no han sido satisfactorias para la diferenciación de las especies del hongo, debido a factores como la plasticidad e inestabilidad de los rasgos morfológicos, la existencia de formas intermedias en la morfología, la superposición fenotípica, los efectos ambientales sobre los rasgos morfológicos, además de la falta de unificación y estandarización de los protocolos (Saldarriaga *et al.*, 2008); por lo anterior, las especies de este género son consideradas como las más exitosas dentro de los hongos patógenos de plantas y los ubican dentro de los patógenos de poscosecha mas importantes (Contreras, 2006).

En la actualidad, algunos estudios han identificado a *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum acutatum* y *Colletotrichum boninense* como agentes causales de la antracnosis en el botón floral de mora; sin embargo, aún no se tiene claridad sobre aspectos claves de la enfermedad y su incidencia en este estado (Saldarriaga, 2011).

Es importante resaltar que los problemas fitosanitarios que se presentan en la etapa productiva del cultivo de mora son clave para identificar al fruto como

posible fuente de inóculo; paralelamente, la utilización de prácticas agronómicas como el manejo de residuos de cosechas o podas, procedencia de la semilla o método de propagación del material vegetal pueden ser claves para disminuir o aumentar la presencia de la enfermedad.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de *Colletotrichum* spp., en estado quiescente en flores y frutos de mora (*Rubus glaucus* Benth)

### 5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Estandarizar una metodología para la detección de infecciones quiescentes de *Colletotrichum* spp., en flores y frutos de mora.
- Identificar el estado fenológico de desarrollo del fruto de mora en el que se presentan infecciones quiescentes de *Colletotrichum* spp.
- Determinar la patogenicidad de los aislamientos de *Colletotrichum* obtenidos a partir de infecciones quiescentes de flores y frutos de mora.

## 6. MATERIALES Y METODOS

### Localización de la investigación

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Fitopatología de CORPOICA, Tibaitatá; ubicado en el municipio de Mosquera (Cundinamarca), km 14 vía Bogotá, entre los meses de febrero y diciembre de 2014.

Cabe resaltar que la presente investigación hace parte del producto 2014 de la agenda quinquenal “Modelos de prevención y manejo de limitantes fitosanitarias de la mora”, cuyo objetivo es desarrollar estrategias tecnológicas en el manejo integrado del cultivo que mejoren la productividad, sostenibilidad y competitividad de mora en el país.

### Colecta de material vegetal

La colecta del material vegetal en los diferentes estados fenológicos del botón floral de mora se realizó con base en la caracterización establecida por Forero de la Rotta (2004). Allí se identificaron seis estados fenológicos: I = botón floral cerrado; II = pétalo recto (inicio de apertura floral); III = flor abierta; IV = fruto en formación; V = fruto en desarrollo (frutos aún verdes); VI = fruto maduro (figura 5).



**Figura 5.** Clasificación de los seis estados fenológicos del botón floral de Mora (*Rubus glaucus* Benth)  
Fuente: Forero de la Rotta (2004)

Se colectaron 10 unidades al azar por cada estado fenológico de plantas asintomáticas y aparentemente sanas, es decir, 60 unidades por finca, para un total de 50 fincas visitadas en la zona rural de los departamentos de Cundinamarca, Antioquia y Santander.

Una vez removidos de la planta, el material vegetal se empacó en bolsas de papel y llevados en nevera de icopor con gel refrigerante para garantizar la conservación y preservación del material, por último, se transportaron al Laboratorio de Fitopatología de CORPOICA.

### **Desinfección y montaje del material vegetal**

Las flores y frutos seleccionados (figura 6) se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% por un minuto, luego con alcohol al 70% por cinco minutos y por último se lavaron dos veces con agua destilada estéril. Se colocaron sobre hojas de papel kraft permitiendo el secado para su posterior montaje.



**Figura 6.** Órganos clasificados en los seis estados fenológicos del botón floral de mora, provenientes de la colecta en campo.

(Foto: Abella, 2014)

El montaje constó de un recipiente de plástico con tapa de 15 cm de altura x 30 cm de ancho y 40 cm de largo. El fondo de cada recipiente contenía 500 ml de

agua destilada para crear humedad y permitirle al patógeno expresar los síntomas; a 5 cm del piso del recipiente se ubicó una malla plástica previamente desinfectada, sobre la cual se colocó una capa de servilletas esterilizadas, humedecidas con agua destilada estéril. Por último, se situaron las 10 unidades de cada estado fenológico, se sellaron y rotularon debidamente. Luego se incubaron a temperatura ambiente durante ocho y 15 días.

### **Detección de infecciones quiescentes en flores y frutos asintomáticos de mora**

Para determinar la presencia de infecciones quiescentes, las flores y frutos dispuestos en las cámaras húmedas, una vez incubados por ocho días para los estados fenológicos IV, V y VI y 15 días para los estados I, II y III, se realizaron observaciones a simple vista y con ayuda del estereoscopio.

Posteriormente, se realizó la siembra de los acérvulos presentes en el tejido vegetal de cada uno de los estados fenológicos con ayuda de una aguja de disección tomando una porción de masa de conidias y sembrando en cajas Petri con medio PDA (Papa-Dextrosa-Agar), por último, se llevaron a incubadora a 28°C durante 15 días en oscuridad. El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis, para determinar la frecuencia de la incidencia de las I. Q en los seis estados fenológicos de los frutos.

### **Identificación de especies de *Colletotrichum* spp., mediante medios selectivos**

Para determinar cual de los patógenos (*C. gloeosporioides* o *C. acutatum*) puede ser el agente etiológico de las infecciones quiescentes tanto en flores como frutos de mora, se realizaron pruebas preliminares de identificación con dos medios diferentes: un medio a base de Hidróxido de Cobre y el otro de

Benomyl, las cuales permiten diferenciar especies de *Colletotrichum* de acuerdo a su crecimiento y morfología en cada medio de cultivo.

- **Prueba con medio selectivo:**

El ion monovalente cobre (Cu+) reacciona con las enzimas del patógeno provocando la desnaturalización de las proteínas (BASF, s. f). Además, impide la germinación de las esporas y puede causar la muerte del haustorio tan pronto como es emitido (Nufarm, s.f). Para llevar a cabo esta reacción, se utilizaron 42mg/L de Cu(OH)<sub>2</sub> + agar PDA (propuesto por Timmer *et al.*, en 1998), esto con el objetivo de clasificar los diferentes aislamientos en base al color de las colonias y la tasa de crecimiento, ya que estos parámetros permiten diferenciar a *C. gloeosporioides* del complejo de especies de *C. acutatum*; a partir de los anteriores criterios se obtiene la siguiente clasificación: FGG (Fast growing gray- rápido crecimiento gris), SGG (Slow growing gray- lento crecimiento gris), FGS (Fast growing salmon- rápido crecimiento salmón), FGO (Fast growing olive- crecimiento rápido oliva) para la especie *Colletotrichum gloeosporioides* y SGO (Slow growing orange- lento crecimiento naranja) para *C. acutatum* (Abang *et al.*, 2002).

**Tabla 1.** Clasificación de las dos especies de *Colletotrichum* mediante pruebas de identificación (Abang *et al.*, 2003).

MEDIO SELECTIVO (PDA + Cu(OH) <sub>2</sub> )	MEDIO CON BENOMYL	CLASIFICACIÓN
FGG	Susceptible	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
SGG	Susceptible	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
FGS	Susceptible	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
FGO	Susceptible	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
SGO	Tolerante	<i>Colletotrichum acutatum</i>

- **Sensibilidad al Benomyl:**

El Benomyl es un fungicida sistémico que pertenece al grupo de los benzimidazoles y que interfiere con la división nuclear de los hongos que son sensibles a su efecto (Palomar, 2007).

Según un estudio realizado por Peres y colaboradores (2004), donde utilizaron diferentes concentraciones del fungicida para conocer la susceptibilidad o tolerancia que presentan las especies de *Colletotrichum*, determinaron que las mínimas concentraciones del fungicida fueron efectivas para diferenciar a *C. gloeosporioides* del complejo de especies de *C. acutatum*, además de observar con claridad la tolerancia que presenta *C. acutatum* y la susceptibilidad de *C. gloeosporioides* sobre este medio.

Para la presente investigación se utilizó una concentración de 2ul/1000 ml de Benomyl + PDA. Una vez preparado el medio y servido sobre cajas Petri previamente esterilizadas, se tomaron discos de cada aislamiento del hongo y se colocaron sobre el medio, posteriormente se incubaron a 28°C por 8 días. La primera lectura se realizó a las 72 horas y la segunda a las 120 horas después de la siembra. Paralelamente se sembró cada aislamiento en medio PDA sin el fungicida con el propósito de utilizarlo como testigo de comparación del diámetro y crecimiento del hongo.

### **Pruebas preliminares de patogenicidad sobre tallos de mora**

La enfermedad es una interacción dinámica entre un patógeno, un hospedante y el medio ambiente, la cual causa en los hospedantes cambios anormales de tipo fisiológico y morfológico. Por consiguiente, la enfermedad no es una propiedad del hospedante, sino un producto de la interrelación del hospedante y el patógeno, bajo un ambiente específico (Agrios, 2005).

Para llevar a cabo las pruebas de patogenicidad sobre los seis estados fenológicos del botón floral de mora con el total de los aislamientos obtenidos, se requería disponer de una gran cantidad de material vegetal. Debido a lo anterior, los 63 aislamientos obtenidos de las 50 fincas muestreadas en los tres departamentos visitados se montaron en un ensayo preliminar sobre tallos de

mora provenientes del C. I Tibaitatá que por sus características morfológicas corresponden a la especie *Rubus glaucus* (Benth), los diferentes tallos se cortaron de 20 a 22 cm de largo y se demarcaron en tres partes, cada una de 7 a 8 cm de largo aproximadamente; esto con el fin de seleccionar un grupo de aislamientos que presentaran lesiones características de antracnosis y colonización del tejido con mayor rapidez.

Este ensayo consistió en colocar 3 discos de agar de 3 aislamientos diferentes seleccionados al azar sobre cada tallo de mora, cada uno con 4 repeticiones y un testigo, como se observa en la figura 7.

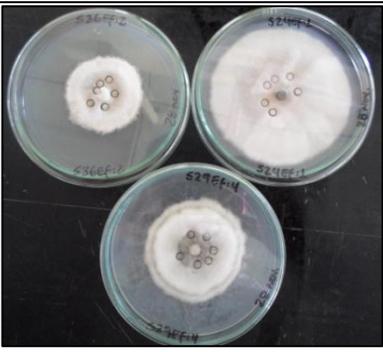
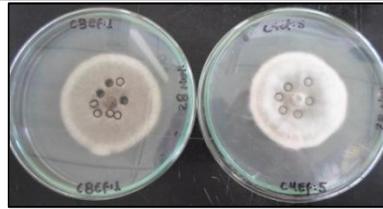


**Figura 7.** Disposición de los discos de agar sobre tallos de mora en cámaras húmedas.

(Foto: Abella, 2014)

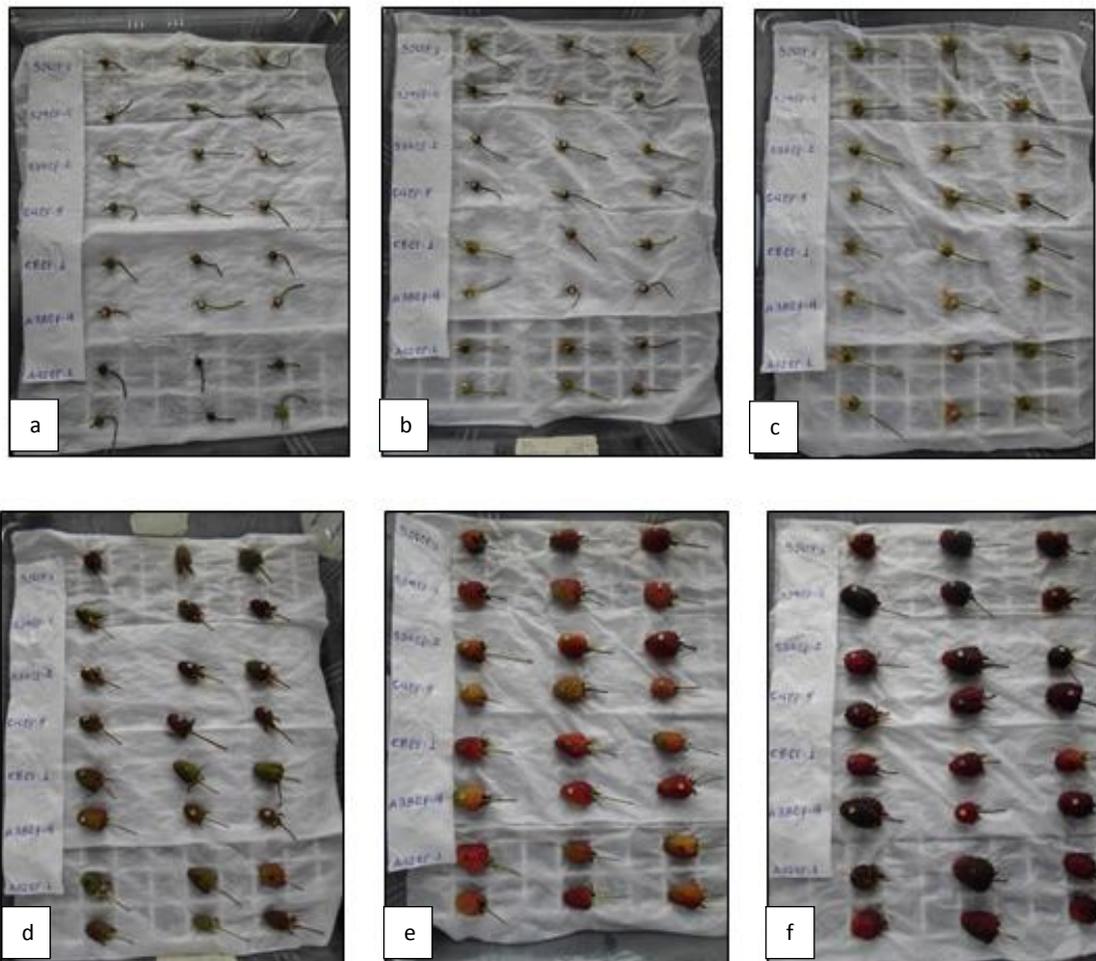
De los 63 aislamientos utilizados en el ensayo preliminar sobre tallos de mora se seleccionaron 14, ya que fueron los primeros en presentar acérvulos y por ende, lesión en el tejido; sin embargo, se hizo una última selección donde se escogieron siete aislamientos que correspondían a un municipio diferente, como se observa en la tabla 2:

**Tabla 2.** Información sobre los siete aislamientos seleccionados

# AISLAMIENTO	ORIGEN	ESTADO FENOLOGICO	COLONIAS EN PDA
<b>S24EF:I</b>	Departamento de Santander, municipio de Piedecuesta	I (botón floral cerrado)	
<b>S29EF:IV</b>	Departamento de Santander, municipio de Charta	IV (fruto en formación)	
<b>S36EF:II</b>	Departamento de Santander, municipio de Santa Bárbara	II (pétalo recto)	
<b>C4EF:V</b>	Departamento de Cundinamarca, municipio de San Bernardo	V (fruto inmaduro)	
<b>C8EF:I</b>	Departamento de Cundinamarca, municipio de Pandi	I (botón floral cerrado)	
<b>A38EF:IV</b>	Departamento de Antioquia, municipio de San Vicente de Ferrer	IV (fruto en formación)	
<b>A42EF:I</b>	Departamento de Antioquia, municipio La Ceja	I (botón floral cerrado)	

### Prueba de patogenicidad sobre flores y frutos de mora

La mayoría de los hongos poseen la capacidad de causar enfermedades, sin embargo, existen algunos organismos con un nivel alto o bajo de patogenicidad. Con el propósito de comprobar si los hongos aislados se encontraban en estado patogénico se realizó un ensayo bajo un diseño de bloques completos no aleatorizados (DBC) sobre los seis estados fenológicos del botón floral de la mora, el cual consistió de siete tratamientos y un testigo, cada uno con tres repeticiones, para un total de 24 unidades experimentales por cada estado fenológico, las cuales se ubicaron en una cámara húmeda y se inocularon con disco de agar de 3mm de diámetro con micelio del hongo (figura 8); cabe resaltar que tanto la desinfección y el montaje de los diferentes estados florales se realizó con base a la metodología propuesta para la detección de infecciones quiescentes del botón floral.



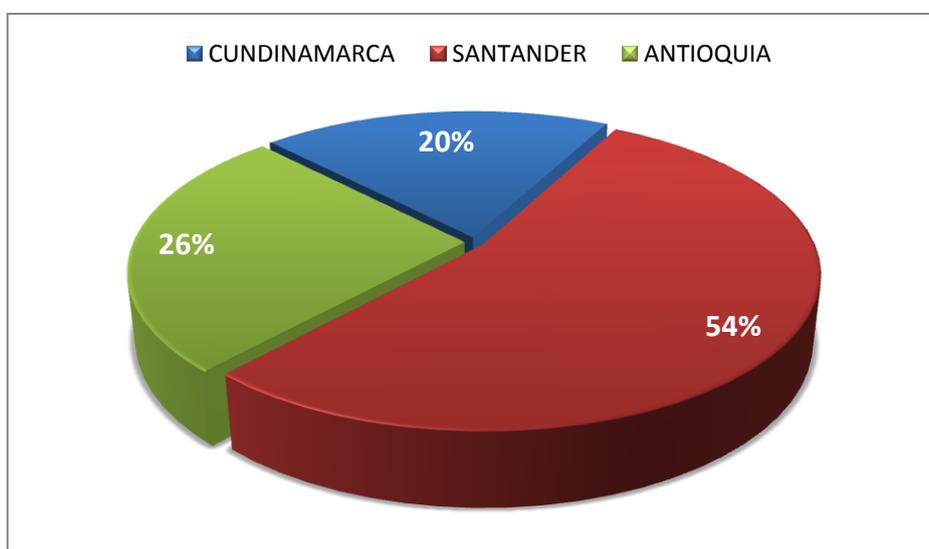
**Figura 8.** Estados fenológicos del botón floral de mora inoculados con disco de agar de los siete aislamientos seleccionados. a) E. F: I; b) E. F: II; c) E. F: III; d) E. F: IV; e) E. F: V; f) E. F: VI. (Foto: Abella, 2014)

Tanto flores como frutos inoculados se mantuvieron bajo condiciones de temperatura ambiente y se registraron dos lecturas; los primeros 4 días después de la inoculación (ddi) y la segunda 8 días después de la inoculación (ddi), con el objetivo de registrar los primeros signos del patógeno. Vale la pena señalar que a partir de las primeras lesiones se realizaron los aislamientos del microorganismo para comprobar los postulados de Koch.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSION

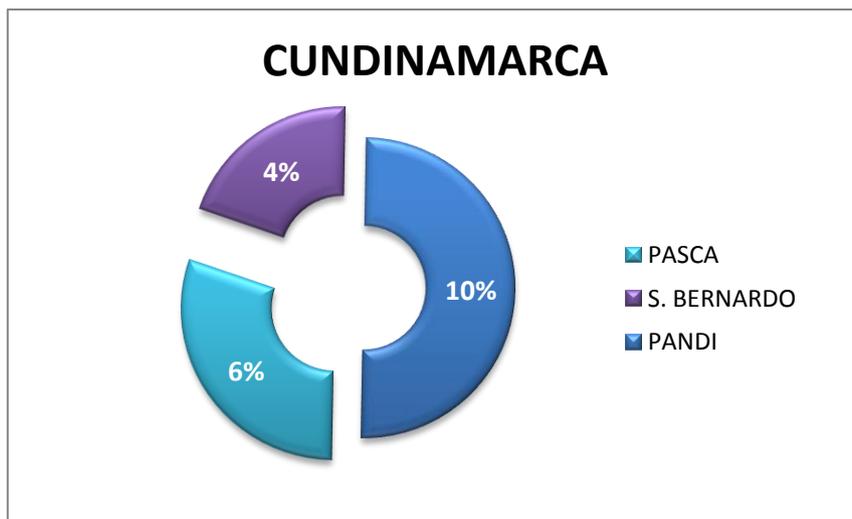
### Colecta de material vegetal

El material vegetal utilizado para el desarrollo de la investigación se obtuvo de los principales departamentos productores del cultivo de mora en el país, como son: Cundinamarca, Santander y Antioquia (Ruiz y Ureña, 2009); como se observa en la gráfica 2, del 100% de las muestras, el 20% corresponde al departamento de Cundinamarca, seguido por el 26% en Antioquia y por último, con un 54% en el departamento de Santander.



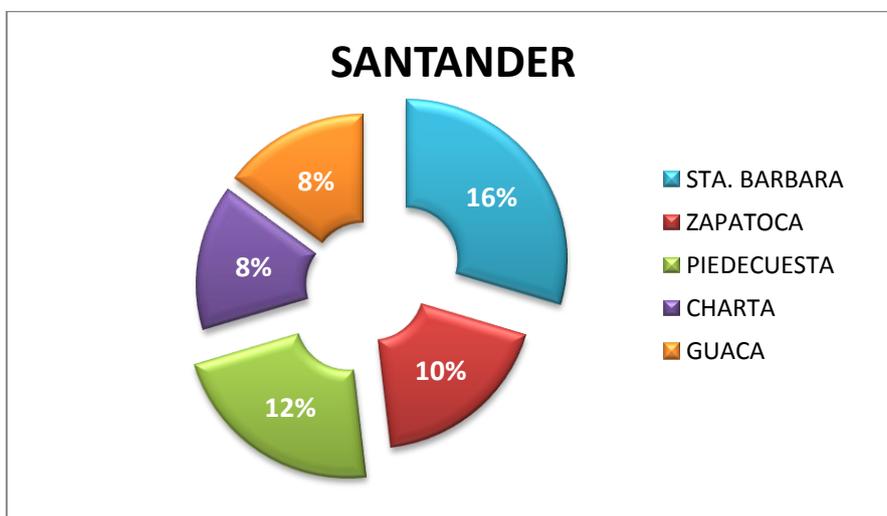
**Grafica 2.** Distribución del porcentaje de las fincas muestreadas en los departamentos de Cundinamarca, Santander y Antioquia.

En el departamento de Cundinamarca se visitaron los municipios de: San Bernardo, Pasca y Pandi, con un 4%, 6% y 10% (grafica 3) respectivamente, para un total de 20% de fincas muestreadas.



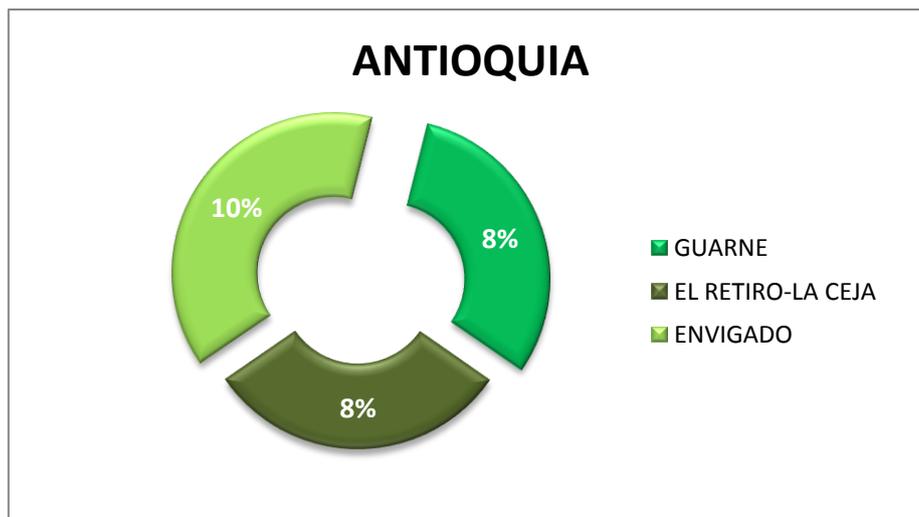
**Grafica 3.** Distribución del porcentaje de fincas muestreadas en tres municipios del departamento de Cundinamarca.

Para la zona de Santander, la colecta se realizó al 16% de las fincas en Santa Bárbara, 10% en Zapatocha, 12% en Piedecuesta, 8% en Charta y 8% en Guaca (grafica 4); para un total de 54% de fincas muestreadas.



**Grafica 4.** Distribución del porcentaje de fincas muestreadas en cinco municipios del departamento de Santander.

Y por último, en Antioquia se visitaron los municipios de Guarne, El Retiro-La Ceja y Envigado, en un 8%, 8% y 10%, respectivamente.



**Grafica 5.** Distribución del porcentaje de fincas muestreadas en tres municipios del departamento de Antioquia.

### Detección de infecciones quiescentes en flores y frutos asintomáticos de mora

De las 50 fincas visitadas se colectaron 3000 unidades aproximadamente de flores y frutos, que fueron procesadas para evaluar la presencia de infecciones quiescentes en cada uno de los seis estados fenológicos (tabla 3).

**Tabla 3.** Tiempo de incubación para los seis estados fenológicos del botón floral de mora.

ESTADO FENOLOGICO	# DE UNIDADES/ESTADO FENOLOGICO	PERIODO DE INCUBACION (días)
EF: I	10	15
EF: II	10	15
EF: III	10	15
EF: IV	10	8
EF: V	10	8
EF: VI	10	8

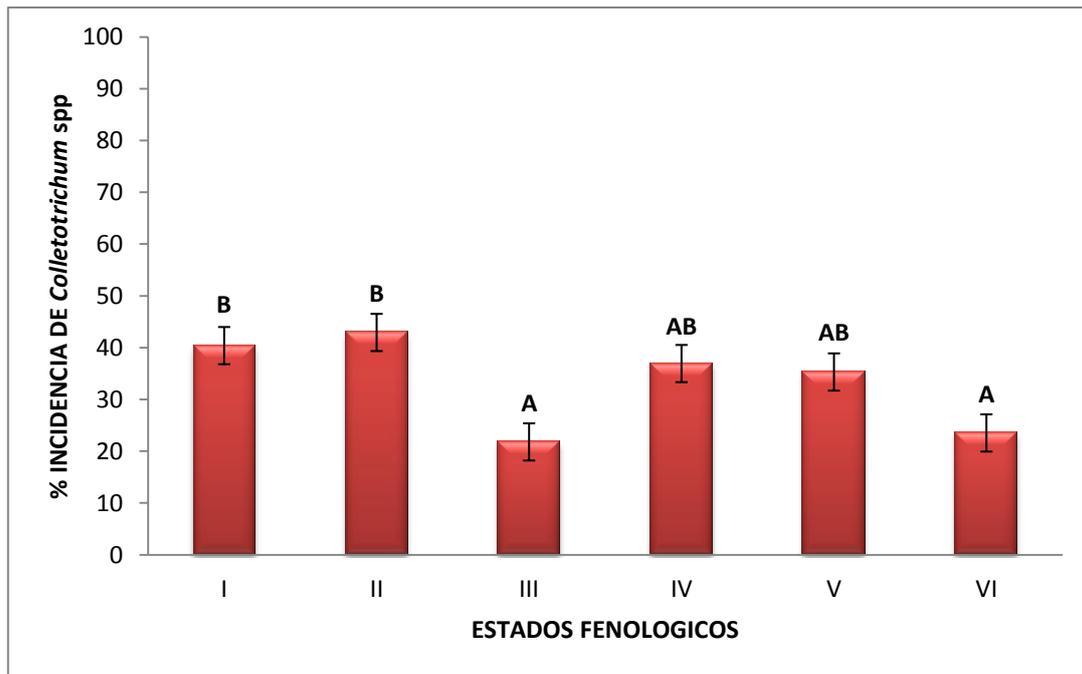
De forma visual y bajo el estereoscopio se observaron los primeros signos del patógeno con la producción de colonias de acérvulos color naranja-salmón sobre la superficie del tejido, cabe resaltar que generalmente los síntomas iniciaron en la porción basal de las espinas, peciolos y en este caso, sobre los pedúnculos florales (figura 9) como lo indican Cedeño y Palacios (1991).



**Figura 9.** Presencia de acérvulos con masas de conidios color naranja-salmón característicos de *Colletotrichum* spp sobre el pedúnculo floral de mora. (Foto: Abella, 2014)

## **INCIDENCIA DE INFECCIONES QUIESCENTES EN LOS SEIS ESTADOS FENOLOGICOS DEL BOTON FLORAL DE MORA**

De acuerdo con la metodología que se empleó en el muestreo y el registro de los datos, se realizó inicialmente una prueba de normalidad, lo cual permitió confirmar que según la distribución que presentaron los datos se rechazaba la hipótesis de normalidad de las muestras, ya que son de distribución libre. Por lo tanto, para obtener los resultados de la frecuencia de incidencia de infecciones quiescentes en los seis estados fenológicos del botón floral, fue necesario utilizar métodos estadísticos no paramétricos, en este caso, la prueba de Kruskal-Wallis (ANEXO 1).



**Grafica 6.** Porcentaje de infecciones quiescentes causada por *Colletotrichum* spp en los seis estados fenológicos del botón floral de mora.

Estadísticamente se observaron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en la incidencia de infecciones quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp., entre los seis estados fenológicos del botón floral de mora (grafica 6). Además, biológicamente se evidenció mayor presencia de la enfermedad en los primeros estados. Estos resultados confirman la presencia de infecciones quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp., en flores y frutos aparentemente sanos, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Saldarriaga (2011) indicando que la antracnosis se encuentra afectando en un 5% a frutos en pre y poscosecha.

El estado de quiescencia producida por el género *Colletotrichum* puede cambiar la estrategia de infección cuando coloniza diferentes tejidos hospederos, posiblemente se debe a que la morfología de los diferentes órganos, en este caso, las estructuras de los seis estados fenológicos presentan pequeñas modificaciones de un estado a otro obteniendo como resultado una variación en la incidencia de la enfermedad. Lo anterior, probablemente coincide con Peres *et al.*, (2005), donde describió cuatro tipos

de interacciones de infección que presenta *C. acutatum*: a) un predominante ciclo biotrófico de la enfermedad en hojas de cítricos; b) un ciclo necrotrófico de la enfermedad en fresa; c) una interacción hemibiotrófica que comprende la combinación principalmente de la fase biotrófica y ciclos necrotróficos de la enfermedad en frutas de arándanos; y d) una interacción hemibiotrófica con combinaciones de fase biotrófica y principalmente ciclos necrotróficos de la enfermedad en hojas y frutas de almendro. Lo anterior indica que diferentes tejidos de la planta en un hospedero dado pueden responder de manera diferente a los microorganismos invasores (Prusky *et al.*, 2013).

A nivel morfológico, los seis estados del botón floral exhiben diferentes estructuras en cada una de las etapas de desarrollo; como se observa en la gráfica, la preferencia del patógeno por establecer una relación quiescente se observa con mayor incidencia en los dos primeros estados donde las estructuras expuestas son: receptáculo floral y cáliz (figura 10), posiblemente se atribuye esta respuesta a que en botón floral cerrado y pétalo recto los sépalos permanecen aún verdes presentando un sustrato favorable para la presencia de un hongo como *Colletotrichum*, posiblemente a que entre más joven es el tejido, éste es más susceptible al ataque y posterior infección.



**Figura 10.** Presencia de acérvulos con masas de conidios color naranja-salmón característicos de *Colletotrichum* spp., sobre el pedúnculo y porción basal del botón floral de mora. (Foto: Abella, 2014)

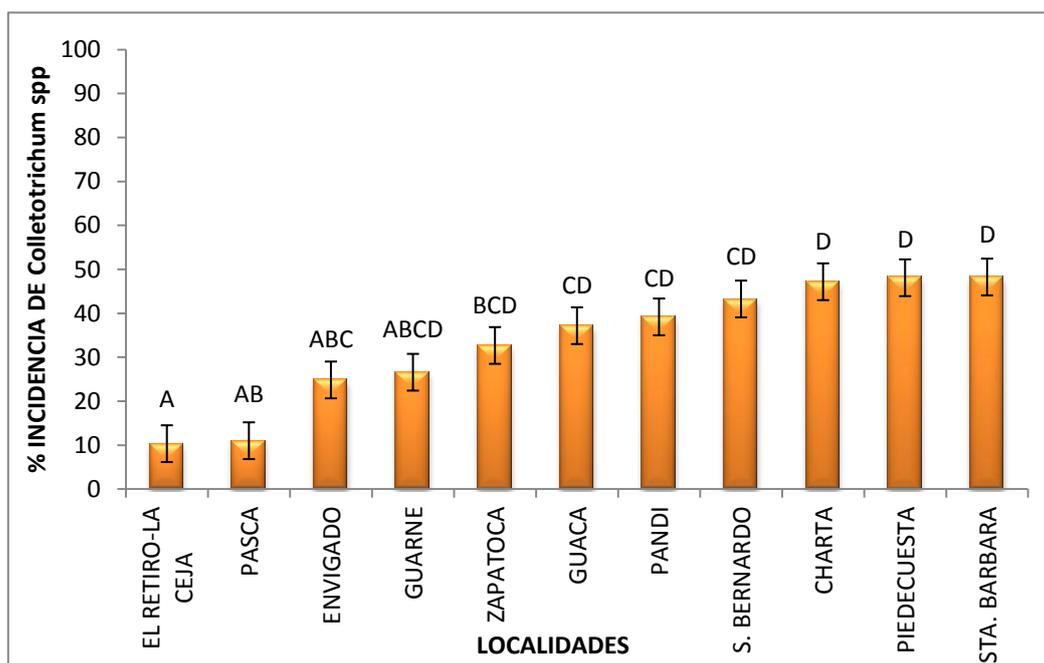
La disminución de la enfermedad en el estado III que corresponde a flor abierta, posiblemente se debe a varios factores, entre los que se destaca: la pérdida de pétalos en el momento de la recolección y en el proceso de desinfección pudo haber generado una lectura errónea acerca de la presencia de la infección, ya que según un estudio en cítricos, en estado de flor la presencia de la enfermedad se evidencia en los pétalos generando necrosamiento del tejido y coloración café rojizo (INIFAP, 2006; Ulloa, 2008); síntomas similares se presentan en las inflorescencias del cultivo de mango, ocasionando secamiento desde la punta hacia la base adquiriendo un color oscuro y posterior defoliación (Galán, 1999); con base en lo anterior, la ausencia de estas estructuras en la mayoría de las flores colectadas no permitió evidenciar la presencia de la enfermedad, ya que en las demás estructuras como el cáliz o los carpelos, no se presentaron acérvulos ni pérdida del tejido. Otro factor que pudo determinar este comportamiento se relaciona con la presencia de jasmonatos y otros metabolitos secundarios, cuyos niveles se incrementan rápidamente en respuesta a perturbaciones mecánicas, ataques de insectos, o en este caso, infecciones por patógenos, ya que se ha podido justificar su papel en la maduración del polen y de los estambres (Aguilar *et al.*, 2012).

A nivel fenológico los últimos tres estados corresponden a la formación y desarrollo del fruto, donde se observa un incremento de la presencia de la enfermedad en el estado IV, el cual va descendiendo de manera progresiva conforme avanza de estado; se podría sugerir que la fenología del fruto tiene un efecto en la incidencia de las infecciones quiescentes, siendo las frutas maduras menos susceptibles a adquirir estas infecciones. Cuatro mecanismos han sido postulados para explicar la presencia de *Colletotrichum* spp. como infección quiescente en frutos inmaduros: a) Requerimientos nutricionales del patógeno, b) Compuestos antifúngicos preformados presentes en frutos verdes que disminuyen a medida que el fruto madura por un aumento en la actividad de la enzima lipoxigenasa, cuya actividad es regulada por la presencia de flavan-3-ol, epicatequin (compuesto fenológico). Estos compuestos son el 1-

acetoxi-2-hidroxi-4-oxo-henicososa-12, 15-dieno y el 1-acetoxi-2,4-dihidroxi-n-heptadeca-16-eno., c) Presencia de fitoalexinas y compuestos preformados y d) Factores de patogenicidad que pueden ser activados solamente en frutos maduros (Prusky *et al.*, 1996).

Es importante destacar que la presencia de hongos saprofitos como *Botrytis cinérea* en frutos de mora del estado fenológico VI (Forero de la Rotta *et al.*, 2004), podría ser uno de los factores de disminución de la antracnosis en ese estado, ya que el moho gris cubrió la mayor parte del fruto dificultando la lectura. Por otro lado, se considera a *Botrytis cinerea* como una de las enfermedades más limitantes en frutos del genero *Rubus* y de otros como fresas, uvas y frambuesa a nivel mundial (Tamayo & Peláez, 2000), (CIAT, 2010).

### INCIDENCIA DE INFECCIONES QUIESCENTES EN LOS MUNICIPIOS VISITADOS



**Grafica 7.** Porcentaje de infecciones quiescentes causada por *Colletotrichum* spp en los municipios visitados.

Según la prueba de Kruskal-Wallis (ANEXO 2) se observaron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en la incidencia de infecciones quiescentes en los 11 municipios (grafica 7); siendo El Retiro-La Ceja la zona con menor presencia de

la enfermedad con un valor que no sobrepasa el 10%, a diferencia de los municipios de Charta, Piedecuesta y Sta. Bárbara que registraron los valores más altos.

A nivel de campo se evidenciaron diferentes factores que pueden influir de forma positiva o negativa con la presencia de la enfermedad en cada una de las localidades de los tres departamentos visitados; condiciones como el manejo de las fuentes de inóculo, la procedencia de la semilla o las variedades utilizadas para el establecimiento del cultivo de mora permitió evidenciar este fenómeno.

El registro más bajo corresponde a la zona de El Retiro-La Ceja del departamento de Antioquia, allí se destacan por obtener plántulas de viveros certificados, además de complementar con labores de cultivo después de las respectivas podas. A diferencia de los tres municipios que presentaron los valores más altos, los cuales pertenecen al departamento de Santander, se comprobó que en la mayoría de las fincas visitadas la procedencia del material de siembra y la forma de reproducción la realizan principalmente por medio de estaca o acodo, ya sea de la misma finca o de productores cercanos, siendo esta la forma más considerable de transmisión de plagas y enfermedades (Botero *et al.*, 2002), lo cual indica que el productor está utilizando material contaminado para la propagación. Junto con el escaso manejo de los residuos tanto de podas como de cosecha, generan un ambiente favorable para el establecimiento, propagación de la enfermedad y aumento de las fuentes de inóculo a medida que avanza el cultivo.

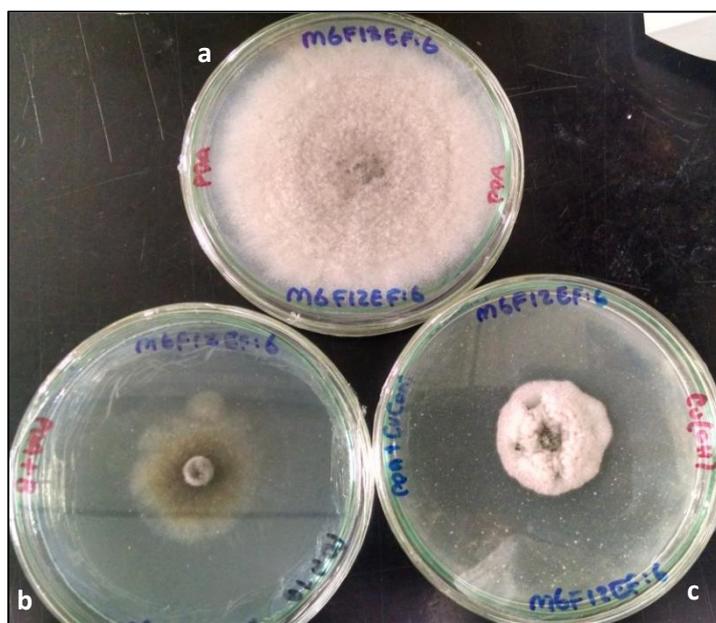
### **Identificación de especies de *Colletotrichum* spp**

De las diferentes colectas realizadas en campo se obtuvieron una serie de aislamientos a los cuales se les realizó una identificación a nivel macro y microscópico en dos tiempos diferentes: la primera se hizo después de 72 horas de incubación donde se observó un crecimiento progresivo de la colonia, y la segunda al cabo de 5 días, tiempo suficiente para observar en algunos

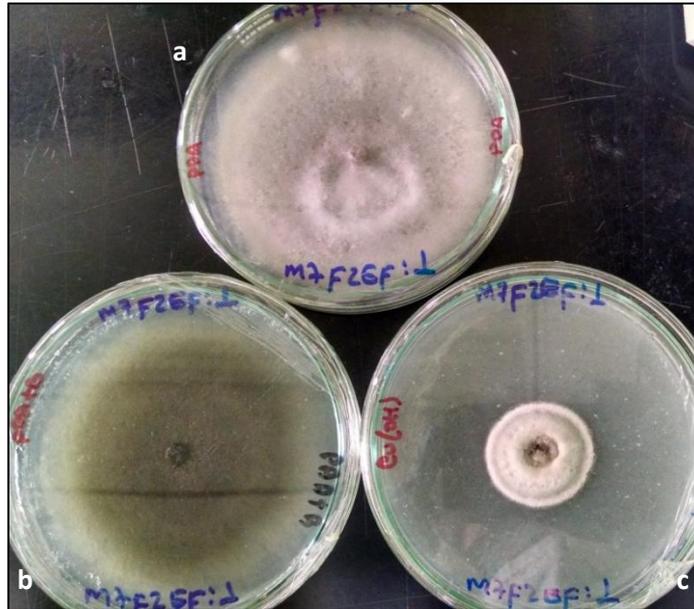
hongos la formación de masas de conidias. En total se obtuvieron 63 aislamientos dispuestos en cajas Petri con medio PDA, los cuales en su mayoría presentaron un crecimiento de forma radial con bordes definidos, sin embargo, la variabilidad en tonalidades, la presencia o ausencia de micelio y la identificación de las estructuras reproductivas del hongo permitieron diferenciar una especie de la otra.

- **Prueba con medio selectivo**

De los 63 aislamientos que se sembraron en PDA + Cu(OH)<sub>2</sub>, 13 aislamientos no crecieron en este medio debido a contaminación por bacterias; sin embargo, los 50 aislamientos restantes presentaron coloración verde oliva de los cuales 45 aislamientos evidenciaron un crecimiento lento (figura 11) y 5 crecimiento rápido (figura 12) (ANEXO 3). Cabe resaltar que según la coloración y velocidad de crecimiento de la colonia, la utilización de este medio permite clasificar entre las dos especies de *Colletotrichum* spp (Abang *et al.*, 2003).



**Figura 11.** Desarrollo de las colonias de *Colletotrichum* spp en los tres medios de cultivo: a) Crecimiento sobre PDA, b) Medio con Cu(OH)<sub>2</sub> + PDA, c) Medio con Benomyl + PDA. Se observa crecimiento lento de la colonia en el medio con Cu(OH)<sub>2</sub>. (Foto: Abella, 2014)



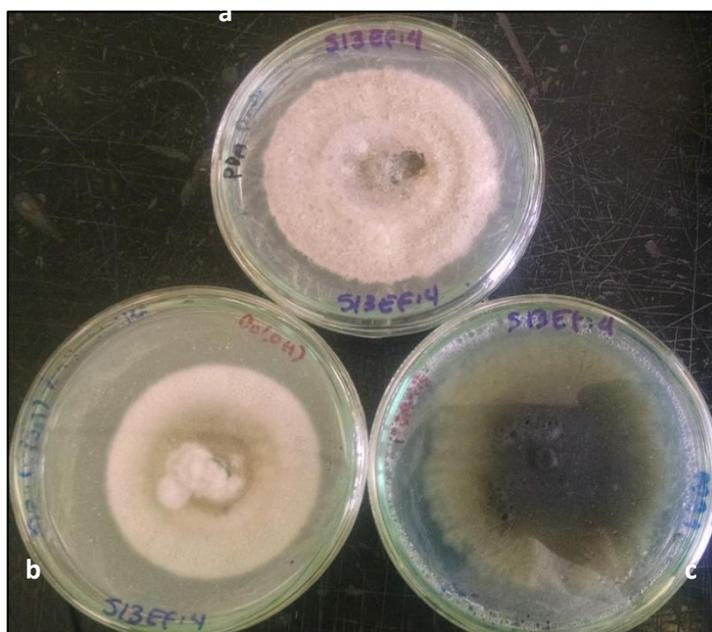
**Figura 12.** Desarrollo de las colonias de *Colletotrichum* spp en los tres medios de cultivo: a) Crecimiento sobre PDA, b) Medio con  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  + PDA, c) Medio con Benomyl + PDA. Se observa crecimiento rápido de la colonia en el medio con  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ . (Foto: Abella, 2014)

- **Sensibilidad al Benomyl**

En esta prueba que permite diferenciar especies del complejo *C. acutatum* y *C. gloeosporioides* (Freeman, et al., 1998), de los 63 aislamientos sembrados se observó tolerancia en 61 e inhibición en solo dos como se observa en las figuras 13 y 14, respectivamente (ANEXO 3), por lo tanto se considera que los 61 aislamientos obtenidos a partir de los seis estados fenológicos del botón floral de mora posiblemente pertenecen al complejo de especies de *C. acutatum* y los dos restantes a la especie *C. gloeosporioides*.

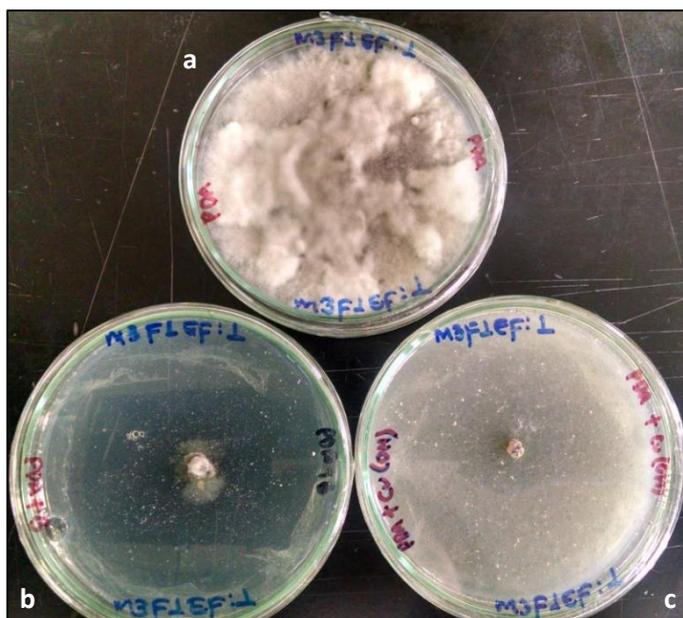
Estos resultados son similares a los encontrados por Lizarazo (2005), donde evaluaron 20 aislamientos provenientes de hojas de guanábana a una concentración de 2ul/1000 ml, donde obtuvo resistencia de todos los aislamientos a este fungicida; esto indica que a bajas concentraciones, el fungicida no tiene efecto sobre el crecimiento del patógeno. Además, algunos estudios indican que la especie *C. acutatum* es la más patógena

por la tolerancia que presenta a diferentes fungicidas (Peres *et al.*, 2002).



**Figura 13.** Desarrollo de las colonias de *Colletotrichum* spp en los tres medios de cultivo: a) Crecimiento sobre PDA, b) Medio con Benomyl + PDA y c) Medio con  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  + PDA. En el medio con benomyl se observa tolerancia por parte del hongo a este fungicida. (Foto: Abella, 2014)

En cuanto a los 2 aislamientos que presentaron sensibilidad, Parra (2008), evaluó 20 aislamientos de *Colletotrichum* obtenidos de frutos de mango (*Mangifera indica* L, variedad hilacha) y todos presentaron susceptibilidad al fungicida, por lo tanto, se consideraron pertenecientes a la especie *C. gloeosporioides*.



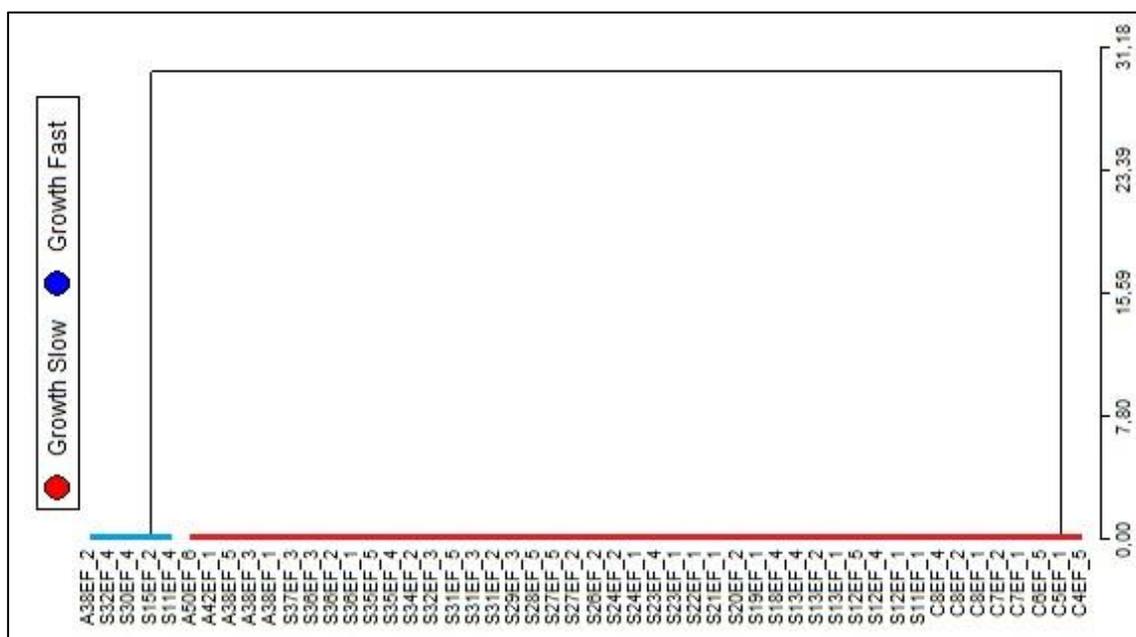
**Figura 14.** Desarrollo de las colonias de *Colletotrichum* spp en los tres medios de cultivo: a) Crecimiento sobre PDA, b) Medio con  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  + PDA, c) Medio con Benomyl + PDA. (Foto: Abella, 2014)

La identificación de las especies de *Colletotrichum* de la presente investigación coincide con un estudio realizado por Rueda *et al.*, (2012) en plantas de mora ubicadas en el departamento de Antioquia, donde lograron aislar y purificar 60 aislamientos de *Colletotrichum* (20 de tallos, 20 de espigas y 20 a partir de inflorescencias); por medio de la prueba de sensibilidad al benomyl se identificaron a la especie *C. acutatum* en 46 aislamientos y a *C. gloeosporioides* en las restantes. Cabe resaltar que estas dos especies se encontraron en la misma planta pero su distribución difiere de un órgano a otro, obteniendo como resultado a la especie *C. gloeosporioides* predominando en las lesiones de la espiga y al complejo de especies de *C. acutatum* en los tallos e inflorescencias. Sin embargo, es necesario realizar pruebas posteriores de tipo molecular para lograr la correcta identificación de cada uno de los aislamientos obtenidos.

## Análisis macro y microscópico de los aislamientos de *Colletotrichum* spp

Con respecto al análisis de los resultados que corresponden a la identificación de los aislamientos de *Colletotrichum* spp., se han utilizado diferentes métodos, entre los que se destaca, el análisis de varianza y pruebas de medias con la finalidad de agrupar los aislamientos con base en características morfológicas y culturales propuesto por Londoño, 2007; sin embargo, debido a la cantidad de características ya sean de tipo cualitativo o cuantitativo, las posibles interacciones entre estas y sus diversas escalas, los métodos multivariantes son los más indicados para orientar la búsqueda de las especies. Por lo anterior, el método que más se ha utilizado al examinar información multivariante es el Análisis de Conglomerados (Rozo, 2009).

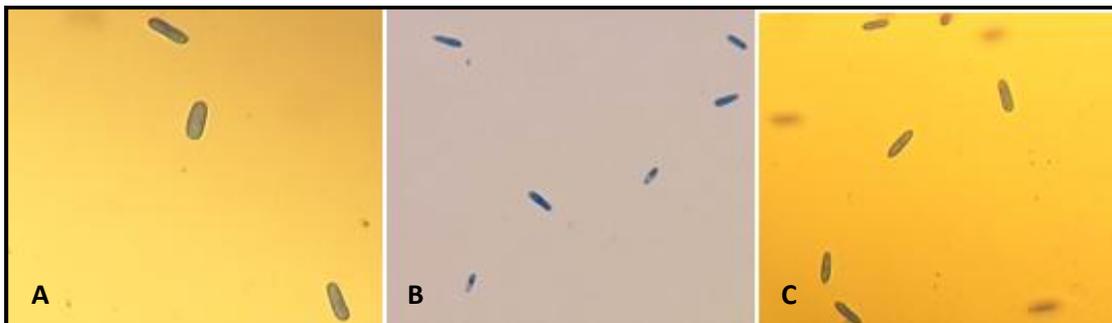
Una de las variables cualitativas que se utilizó para agrupar los diferentes aislamientos obtenidos de los seis estados fenológicos del botón floral de mora, corresponde a la velocidad de crecimiento en medio selectivo  $\text{Cu}(\text{OH})_2 + \text{PDA}$ , transcurridos 5 días después de la prueba, donde “Growth slow” corresponde a crecimiento lento de la colonia y “Growth fast” a crecimiento rápido (Abang *et al.*, 2003).



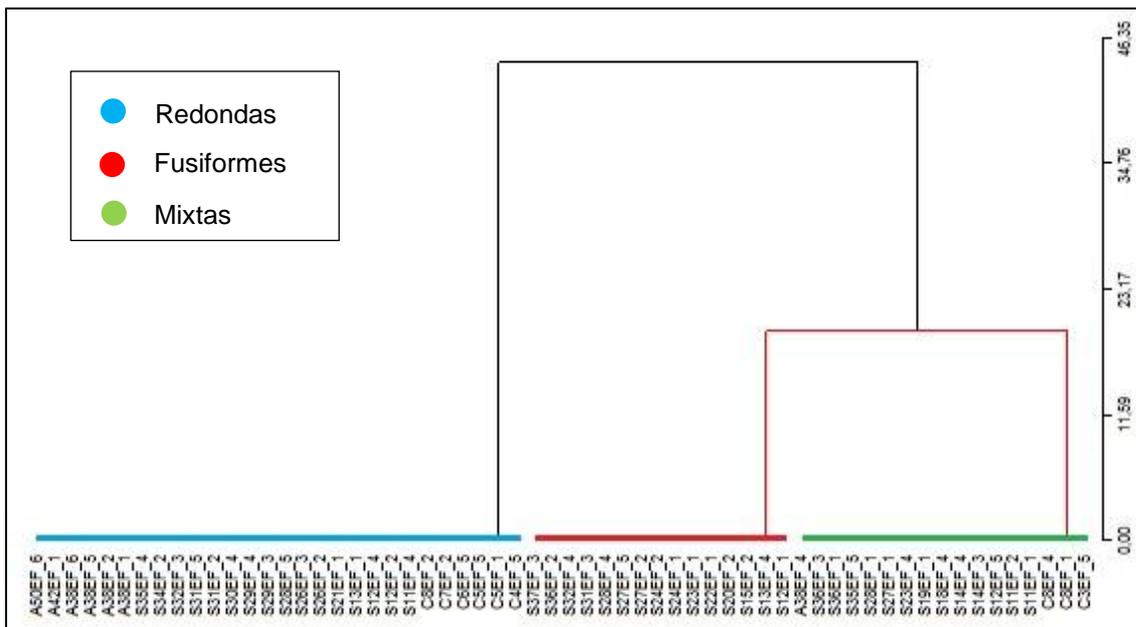
**Figura 15.** Dendrograma de la velocidad de crecimiento de los aislamientos de *Colletotrichum* spp, obtenidos de flores y frutos de mora.

En la figura 15 se observa que los diferentes aislamientos de *Colletotrichum* spp., se dividieron en dos grupos, indicando que el 91% de los aislamientos posiblemente corresponden al complejo de especies de *Colletotrichum acutatum* por su rápido crecimiento en el medio selectivo, y el restante a la especie *Colletotrichum gloeosporioides*, aunque todos poseen características morfológicas similares, cabe resaltar que según la velocidad de crecimiento de cada aislamiento, permite diferenciar una especie de la otra; sin embargo, este tipo de análisis no es un resultado final, sino un posible resultado de identificación; debido a esto, es importante complementar con pruebas biológicas o moleculares.

Además de la velocidad de crecimiento, una de las características microscópicas tradicionales que se utilizan para la identificación entre especies de *Colletotrichum* es la morfología de las conidias, clasificándose según los extremos: redondos, mixtos (conidias con un extremo redondo y otro agudo) o fusiformes (figura 16).



**Figura 16.** Morfología apical de conidias de *Colletotrichum* spp. A) Extremos redondos, B) Mixtos y C) Fusiformes.



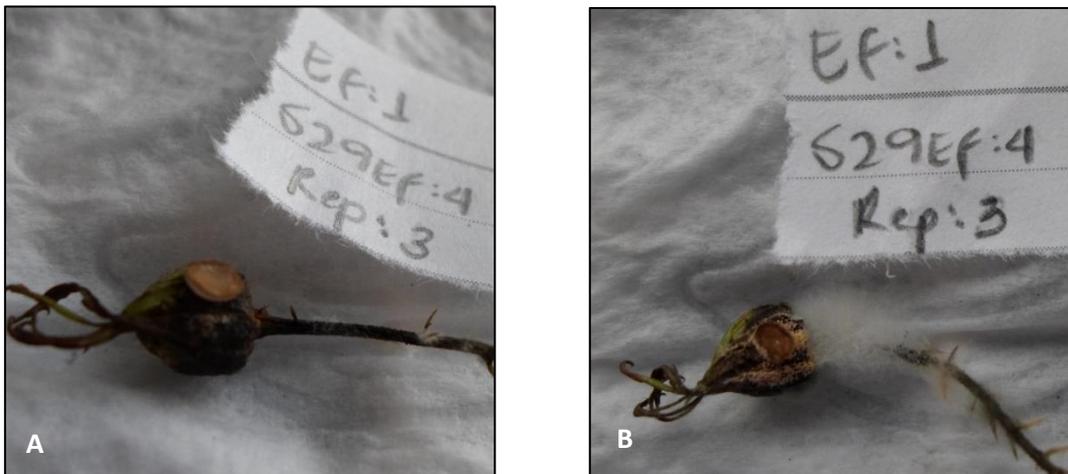
**Figura 17.** Dendrograma de la similitud de los extremos de las conidias de cada uno de los aislamientos de *Colletotrichum* spp.

Los resultados de la figura 17 con respecto a la morfología de los extremos de las conidias, distribuyen los aislamientos en tres grupos diferentes, indicando que las conidias con puntas redondas son las que prevalecen, las cuales se relacionan con *C. gloeosporioides*. Debido a que la caracterización microscópica no concuerda con los resultados de la prueba con medios selectivos, es necesario e importante corroborar la información con pruebas moleculares.

### Pruebas de patogenicidad sobre flores y frutos de mora

Del material vegetal de cada uno de los seis estados fenológicos evaluados en las pruebas de patogenicidad, el 100% mostraron los síntomas característicos de antracnosis. En los estados de botón cerrado (EF: I), pétalo recto (EF: II) y flor abierta (EF: III), los primeros síntomas se presentaron con necrosis sobre la superficie de los sépalos a los 4 días después de la inoculación (figura 18, A) y transcurridos ocho días se observaron los cuerpos fructíferos del hongo (figura 18, B); en los frutos (EF: IV, V y VI) se observó necrosis y hundimiento de las

drupas en la zona donde se ubicó el disco de agar con el crecimiento del microorganismo como se observa en la figura 19.



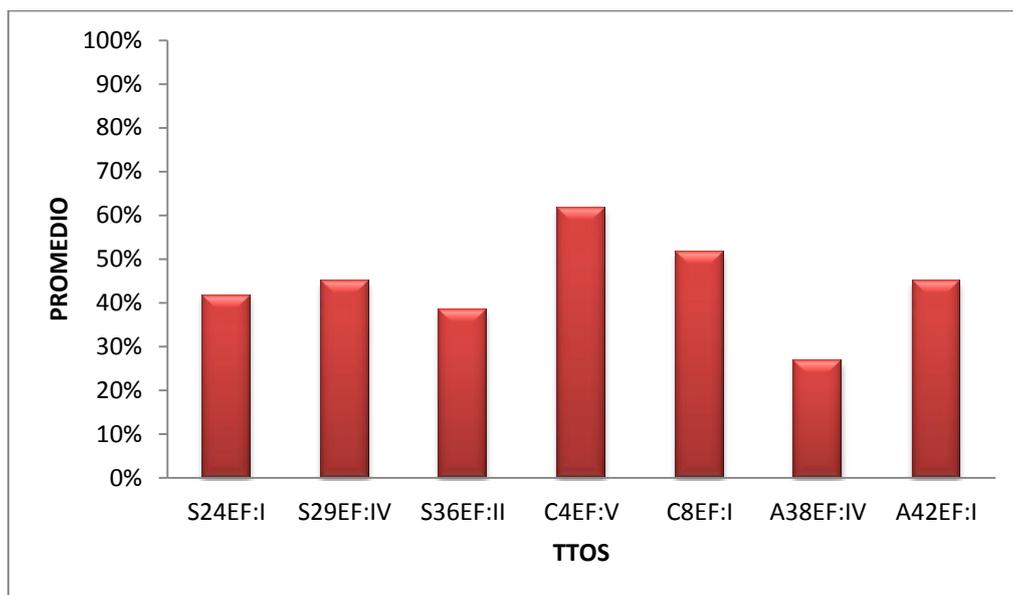
**Figura 18.** Botón floral cerrado con síntomas de antracnosis. A) Necrosis sobre la superficie del tejido y B) Presencia de masas de conidias característicos de *Colletotrichum* spp. sobre los sépalos del botón floral. (Foto: Abella, 2014)



**Figura 19.** Fruto de mora con necrosis, hundimiento y presencia de acérvulos en la zona de inoculación. (Foto: Abella, 2014)

Con respecto a la patogenicidad de cada uno de los aislamientos utilizados sobre los seis estados fenológicos del botón floral, se realizó un análisis exploratorio y descriptivo en Excel como se puede observar en la gráfica 8, se obtuvo que el aislamiento C4EF:V (departamento de Cundinamarca, estado

fenológico V), con un valor del 62% de incidencia fue el tratamiento que en las diferentes repeticiones presentó mayor colonización de acérvulos y por ende, necrosis del tejido con mayor rapidez con respecto a los demás tratamientos, lo cual demuestra su poder de patogenicidad; a diferencia del tratamiento A38EF:IV (departamento de Antioquia, estado fenológico IV) el cual registró el valor más bajo con un 27% de incidencia, siendo éste el menos patogénico. Es importante destacar que los dos aislamientos descritos posiblemente pertenecen al complejo de especies de *Colletotrichum acutatum*.



**Gráfica 8.** Porcentaje de la incidencia de los siete tratamientos utilizados en el ensayo de pruebas de patogenicidad sobre flores y frutos de mora.

## 8. CONCLUSIONES

Se identificaron infecciones quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp., en los seis estados fenológicos del botón floral de mora, lo cual indica que el manejo integrado de la enfermedad debe ser permanente a lo largo de todo el ciclo del cultivo.

El manejo de fuentes de inóculo, material de propagación y residuos de podas y cosechas, inciden de forma directa en el establecimiento y propagación de la enfermedad.

La incidencia de infecciones quiescentes fue mayor en los dos primeros estados fenológicos que corresponden a botón floral cerrado y pétalo recto, respectivamente.

El periodo de incubación para los tres primeros estados (botón floral cerrado, pétalo recto y flor abierta) fue de 15 días y para los tres últimos (fruto en formación) de ocho días, debido a la composición estructural de cada estado.

En el estado VI fruto maduro, la incidencia de *Colletotrichum* spp disminuye, lo cual se debe a que en ese estado el fruto es más susceptible al ataque por patógenos saprofitos como *Botrytis*.

Los aislamientos de *Colletotrichum* causantes de la antracnosis en el botón floral de mora presentan características morfológicas y culturales intermedias entre las dos especies, aunque con mayor aproximación al complejo de especies de *C. acutatum*.

Las pruebas tanto de sensibilidad al Benomyl y crecimiento en medio selectivo para *Colletotrichum* spp., permitieron determinar que de los 63 aislamientos obtenidos de los seis estados fenológicos, 61 posiblemente pertenecen al complejo de especies de *Colletotrichum acutatum* y los dos restantes a la especie *Colletotrichum gloeosporioides*.

Mediante pruebas de patogenicidad en los seis estados fenológicos del botón floral de mora, se pudo determinar que los aislamientos seleccionados

causaron infección y su presencia se evidenció mediante la observación de síntomas y signos sobre el tejido.

## 9. RECOMENDACIONES

Es necesario estandarizar y homogenizar el número de fincas en cada una de las zonas de muestreo para evitar confusiones y así optimizar el análisis estadístico.

Se deben realizar pruebas moleculares para lograr una correcta identificación de las especies de *Colletotrichum* obtenidas de los seis estados fenológicos del botón floral de mora.

Es importante conocer el comportamiento del pH en cada una de las estructuras evaluadas en la presente investigación, para determinar si existe alguna relación o no con la presencia de la enfermedad.

Es necesario profundizar a nivel bioquímico, para conocer la interacción que existe entre los posibles mecanismos de defensa presentes en cada uno de los seis estados fenológicos y su respectiva respuesta frente al ataque por patógenos.

Se debe realizar la presente investigación con materiales genéticos del género *Rubus* previamente identificados, para comprobar si existe algún grado de resistencia en los diferentes ecotipos o variedades utilizadas.

Es importante enfocar las diferentes alternativas de manejo a las estructuras u órganos donde se ha identificado mayor presencia de la enfermedad, como son tallos y hojas.

## 10. BIBLIOGRAFIA

Abang, M. M., Winter, S., Green, K. R., Hoffman, P., Mignouna, H. D., & Wolf, G. A. (2002). Molecular identification of *Colletotrichum gloeosporioides* causing yam anthracnose in Nigeria. *Plant Pathology* 51, 63-71.

Abang, M., Winter, S., Mignouna, H., Green, K., & Asiedu, R. (2003). Molecular taxonomic, epidemiological and population genetic approaches to understanding yam anthracnose disease. *African Journal of Biotechnology* Vol. 2 (12): 486 – 496.

Aguilar, M., Melgarejo, L. M., & Romero, M. (2012). I Fitohormonas. Laboratorio de fisiología y bioquímica vegetal. Departamento de biología. Universidad Nacional de Colombia.

Agrios, G. (2005). *Plant pathology*. 5<sup>th</sup> ed. Nueva York: Elsevier Academic Press.

Alarcón, J. J. y Chavarriaga, W. (2007). Diagnostico precoz de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) (Penz) Penz & Sacc. en tomate de árbol mediante el empleo de infecciones quiescentes. *Agronomía* 15 (1): 89-102.

Ayala, L. C., Valenzuela, C. P., & Bohórquez, Y. (2013). Variables determinantes de la madurez comercial en la mora de castilla (*Rubus glaucus* BENTH). *Scientia Agroalimentaria*. Vol. 1, 39-44

Bailey, J. A. y Jeger, M. J. (1992). *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Wallingford, UK: CAB International. 388 p.

Barrero, M. (2009). Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado. Cundinamarca – Colombia. Corpoica, 84 p.

BASF, (s.f). The Chemical Company. Caurifix WG, Cuprodul WG, Hidrocup WG. Ficha técnica.

Botero, M.J., Ríos G., Franco G., Romero, M., Pérez J.C., Morales J.E., Gallego J.L., Echeverri, D.I. (2002). Identificación y espacialización de enfermedades asociadas a los cultivos de mora (*Rubus glaucus* Benth) en el

eje cafetero. En: *Memorias IV Seminario Frutales de Clima Frío Moderado. Medellín, Colombia.*

Cedeño, L. y Palacios, E (1991). Antracnosis en mora de Castilla (*Rubus glaucus*) causada por *Glomerella cingulata* en Venezuela. Vol. 4, N° 1.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), (2010). Informe final técnico proyecto “Productores de lulo y mora competitivos mediante selección participativa de clones élite, manejo integrado del cultivo y fortalecimiento de cadenas de valor Fontagro mora lulo” Palmira, Colombia.

Contreras, C. A. (2006). Caracterización y pruebas de patogenicidad cruzada entre aislamientos de *Colletotrichum* spp., obtenidos de frutos de lulo (*Solanum quitoense* Lam), tomate de árbol (*Solanum betacea* Sendt), granadilla (*Passiflora ligularis* Juss), mango (*Mangifera indica* L) y tallos de mora (*Rubus glaucus* Benth) con síntomas de antracnosis. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias básicas, Bogotá.

Femenia, M. (2007). Caracterización química de cepas de hongos del género *Colletotrichum*: síntesis de Gloeosporiol. Diseño y síntesis de modelos de agentes fungiestáticos. Universidad de Cádiz, Puerto Real.

Forero de La Rotta, M. C. (2001). Enfermedades de la mora de castilla. Boletín de sanidad vegetal. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Bogotá, 36 p.

Forero de La Rotta, M. C., Ávila, W., & González, R. (2002). Estudio sobre Antracnosis en mora de Castilla. *Memorias del cuarto seminario nacional de frutales de clima frío moderado: IV Seminario de Frutales de Clima Frio Moderado. Medellín, Colombia, 220-228.*

Forero de La Rotta, M. C., Molina, G., & Torres, E. (2004). Incidencia de infecciones quiescentes de *Botrytis cinérea* en flores y frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). *Agronomía Colombiana*, 22 (2): 101-109.

Freeman, S., Katan, T., Shabi, E. (1998). Characterization of *Colletotrichum* species responsable for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease*. The Volcani Center, Bet Dagan, Israel.

Freire, V. H. (2012). Alternativas de mejora en el manejo poscosecha y comercialización de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) proveniente de la provincia de Tungurahua. Escuela Politécnica Nacional. Facultad de ingeniería química y agroindustria. Quito, Ecuador.

Galán, S. (1999). El cultivo del mango. Edición Mundi-Prensa, Madrid, 298 p.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) (2006). Biología y manejo integrado de antracnosis del limón mexicano en el trópico seco de México. Folleto técnico N° 2; Tecomán, Colima México.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) (2011). Manejo fitosanitario del cultivo de la mora (*Rubus glaucus* benth). Medidas para la temporada invernal.

Lizarazo, A. P. (2005). Dinámica de las fuentes de inóculo e identificación del agente causal de la antracnosis (*colletotrichum* sp) en guanábana (*annona muricata* L.). Universidad Francisco de Paula Santander. Facultad de ciencias agrarias y del ambiente. Plan de estudios de ingeniería de producción biotecnológica, San José de Cúcuta.

Martínez, A., Beltrán, O., Velastegui, G., Ayala, G., Jácome, R., Yáñez, W., & Luciano, E. (2007). Manual del cultivo de la mora de castilla. Convenio INIAP–UTA, Ambato-Ecuador, Primera Edición, 36 p.

Marulanda, M. Isaza, L. y Ramírez, A. (2007). Identificación de la especie de *Colletotrichum* responsable de la antracnosis en la mora de castilla en la región cafetera. Scientia et Technica, año XIII, No 37.

Marulanda, M. López, A. y Aguilar, S. (2007). Genetic diversity of wild and cultivated *Rubus* species in Colombia using AFLP and SSR markers. Brazilian Society of Plant, Crop Breeding and Applied Biotechnology 7: 242-252.

Menezes M. (2006). Aspectos biológicos e taxonómicos de espécies do género *Colletotrichum*. Academia Pernambucana de Ciencia Agronómica, Recife, vol. 3, p. 170 – 179.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2012). Anuario estadístico de frutas y hortalizas 2007 – 2011 y sus calendarios de siembras y cosechas, resultados evaluaciones agropecuarias municipales 2011. Bogotá.

Montoya, C. & Vargas, E. (2002). Evaluación de productos químicos para el control *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis en frutos de aguacate. *Memorias del cuarto seminario nacional de frutales de clima frío moderado: IV Seminario de Frutales de Clima Frio Moderado. Medellin, Colombia, 105-111.*

Nufarm (s.f). Tecnología para la protección prolongada. Ficha técnica.

Palomar, J. A. (2007). Evaluación de pruebas biológicas para la identificación de especies de *Colletotrichum* sp., aislados de diversos frutales. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Facultad de Ciencias de la Salud. Bogotá, 43 p.

Parra, L. (2008). Relación entre infecciones quiescentes de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) y los diferentes estados fenológicos del fruto de mango (*Mangifera indica* L) variedad hilacha. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias básicas. Bogotá.

Peres, N. A. R., Souza, N. L., Zitco, S. E. and Timmer, L. W. (2002). Activity of benomyl for control of postbloom fruit drop of citrus caused by *Colletotrichum acutatum*. *Plant Dis.* 86:620 – 624.

Peres, N. A. R., Souza, N. L., Peever, T. L., Timmer, L. W. (2004). Benomyl sensitivity of isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from citrus. *Plant Disease.* 88:125-130.

Peres, N. A., Timmer, L. W., Adaskaveg, J. E., Correll, J. C. (2005). Lifestyles of *Colletotrichum acutatum*. *Plant Dis.* 89:784–96

Prusky, D., Alkan, N., Mengiste, T., & Fluhr, R. (2013). Quiescent and necrotrophic lifestyle choice during postharvest disease development. *Rev. Phytopathol.* 155-176.

Reyes, A. (2007). Estudio de la relación fenológica reproductiva y el comportamiento de las infecciones latentes de *Colletotrichum acutatum* en tomate de árbol (*Solanum betacea*) (Cav) Sendt. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Ingeniería Agronómica. Bogotá.

Rozo, J. (2009). Caracterización morfológica, biológica y patogénica de aislamientos de *Colletotrichum* sp causantes de antracnosis en frutos de mango (*Mangifera indica* L.). Universidad Francisco de Paula Santander, San José de Cúcuta.

Rueda, K., Saldarriaga, A., Cadavid, G., Saldamando, C., Cañas, G., & Arango, I. (2012). Differential Organ Distribution, Pathogenicity and Benomyl Sensitivity of *Colletotrichum* spp. from Blackberry Plants in Northern Colombia, Journal of Phytopathology. Unidad de Biotecnología Vegetal, Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia.

Ruiz, M. & Ureña del Valle, M. (2009). Situación actual y perspectivas del mercado de la mora. ECONOMIC RESEARCH SERVICE-ERS MIDAS CROPS.

Saldarriaga, A., Castaño, J., y Arango, R. (2008). Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora. Rev. Acad. Colomb. Cienc.: Volumen XXXII, número 123.

Saldarriaga, A. (2011). La antracnosis de la mora, estado actual y perspectivas para el manejo integrado. Rionegro, Antioquia.

Santacruz, C. (2013). Caracterización morfológica, patogénica y molecular de especies de *Colletotrichum* spp., causantes de la antracnosis del fruto de ají y pimentón *Capsicum* spp en el Valle del Cauca. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, escuela de posgrados, Palmira.

Tamayo M., y Peláez, A. (2000). Caracterización de daños y pérdidas causadas por enfermedades del fruto de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) en Antioquia. *Memorias del tercer seminario nacional de frutales de clima frío moderado: III Seminario de Frutales de Clima Frio Moderado. Manizales, Colombia*, 174 - 179.

Timmer, L., Brown, G. y Zitko, S (1998). The role of *Colletotrichum* spp., in postharvest anthracnose of citrus and survival of *C. acutatum* in fruit. *Plant Disease*, Vol 82: 415-418.

Ulloa, M. (2008). Pruebas de patogenicidad cruzada entre aislamientos de *Colletotrichum* spp., obtenidos de Lima Tahití *Citrus aurantifolia*, Mango *Mangifera indica* L. y tomate de árbol *Solanum betaceum* Cav. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de ciencias biológicas. Tunja, Boyacá.

## ANEXOS

**ANEXO 1.** Incidencia de infecciones quiescentes en los seis estados fenológicos del botón floral de mora.

D:\Andrea U\Tesis - MORA\Datos Infostat\Nueva tabla datos.IDB2: 08/04/2015 - 12:10:51

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	ESTADO FENOLOGICO	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
INCIDENCIA 1		11	40,82	31,62	36,00	11,48	0,0421
INCIDENCIA 2		11	46,27	33,37	57,00		
INCIDENCIA 3		11	12,33	13,43	8,00		
INCIDENCIA 4		11	33,91	24,81	35,00		
INCIDENCIA 5		11	29,33	20,53	35,00		
INCIDENCIA 6		11	15,69	13,14	14,00		

Trat. Ranks

3	21,91	A
6	23,55	A
5	35,32	A B
4	36,95	A B
1	40,32	B
2	42,95	B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

## ANEXO 2. Incidencia de infecciones quiescentes en los municipios visitados.

D:\Andrea U\Tesis - MORA\Datos Infostat\Nueva tabla datos.IDB2: 08/04/2015 - 12:10:03

### Prueba de Kruskal Wallis

Variable	LOCALIDAD	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
INCIDENCIA CHARTA		6	47,67	26,72	42,50	31,33	0,0005
INCIDENCIA EL RETIRO Y LA CEJA		6	2,33	3,01	1,00		
INCIDENCIA ENVIGADO		6	13,00	5,48	13,00		
INCIDENCIA GUACA		6	33,67	20,89	35,00		
INCIDENCIA GUARNE		6	16,67	14,77	11,00		
INCIDENCIA PANDI		6	35,33	20,19	34,00		
INCIDENCIA PASCA		6	2,75	3,24	1,65		
INCIDENCIA PIEDECUESTA		6	50,55	30,19	54,00		
INCIDENCIA S. BERNARDO		6	40,00	20,98	40,00		
INCIDENCIA STA. BARBARA		6	50,67	20,68	50,00		
INCIDENCIA ZAPATOCA		6	34,33	38,19	26,00		

Trat.	Ranks
EL RETIRO Y LA CEJA	10,33 A
PASCA	11,00 A B
ENVIGADO	24,83 A B C
GUARNE	26,58 A B C D
ZAPATOCA	32,67 B C D
GUACA	37,17 C D
PANDI	39,17 C D
S. BERNARDO	43,25 C D
CHARTA	47,17 D
PIEDECUESTA	48,08 D
STA. BARBARA	48,25 D

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**ANEXO 3.** Pruebas con medios selectivos a los 63 aislamientos de *Colletotrichum* spp

# AISLAMIENTO	BENOMIL + PDA	PDA	Cu(OH) <sub>2</sub> + PDA	VELOCIDAD CRECIMIENTO	
C3EF_5	2,5	7,6		No crecio	
C4EF_5	3,2	7	3,4	Lento	
C5EF_1	2,7	6,8	3	Lento	
C5EF_5	3	7,4		No crecio	
C6EF_5	1,3	5,8	2,5	Lento	
C7EF_1	2,9	8,9	3,9	Lento	
C7EF_2	2,6	7,6	4,4	Lento	
C8EF_1	2,2	8,2	3,9	Lento	
C8EF_2	1,5	7	3	Lento	
C8EF_4	2,5	7,4	3,7	Lento	
S11EF_1	1,1	5,8	1	Lento	
S11EF_2	1,5	8		No crecio	
S11EF_4	2,9	6,5	4,4	Rapido	
S12EF_1	2,5	8,3	4	Lento	
S12EF_2	1,3	6,5		No crecio	
S12EF_4	1	5,7	2,1	Lento	
S12EF_5	1,5	7,4	3,3	Lento	
S13EF_1	2,1	8,3	3,1	Lento	
S13EF_2	2,3	7	3,5	Lento	
S13EF_4	2	6,2	2,8	Lento	
S14EF_3	2,9	7,2		No crecio	
S14EF_4	1,5	8,8		No crecio	
S15EF_2	2,9	7,2	5	Rapido	
S18EF_4	2	8,7	3,4	Lento	
S19EF_1	3,9	8,6	5,1	Lento	
S20EF_2	2,9	8,9	3	Lento	
S21EF_1	3,2	9	3	Lento	
S22EF_1	3,3	7,5	2,3	Lento	
S23EF_1	3	8,1	5,7	Lento	
S23EF_4	No crecio	6,2	2,7	Lento	SUSCEPTIBLE
S24EF_1	2,2	7,7	4	Lento	
S24EF_2	2	8,9	3,6	Lento	
S26EF_2	2,3	8,5	1,6	Lento	
S26EF_3	1,3	8,8		No crecio	
S27EF_1	2,5	8,1		No crecio	
S27EF_2	3	8,1	4,5	Lento	
S27EF_5	3,3	6,5	6,6	Lento	
S28EF_1	3	8,4		No crecio	
S28EF_4	1	8,4		No crecio	
S28EF_5	3	7	2,8	Lento	
S29EF_3	2,8	8,4	3,9	Lento	
S29EF_4	3	7,4		No crecio	
S30EF_4	3,5	6,8	3	Rapido	
S31EF_2	3,2	8,1	5,9	Lento	
S31EF_3	3,7	7,3	4	Lento	
S31EF_5	3,5	7	3	Lento	
S32EF_3	2	6,7	3,1	Lento	
S32EF_4	3,8	8,9	6,7	Rapido	
S34EF_2	3,2	8,9	3,3	Lento	
S35EF_4	1,7	8,2	2,8	Lento	
S35EF_5	3,2	8,3	3	Lento	
S36EF_1	3,1	8,7	3,6	Lento	
S36EF_2	3,3	8,8	4	Lento	
S36EF_3	2,7	7,4	3,5	Lento	
S37EF_3	2,1	8,7	3,1	Lento	
A38EF_1	No crecio	7,8	2,7	Lento	SUSCEPTIBLE
A38EF_2	1,7	4,5	3	Rapido	
A38EF_3	3	4,7	1,3	Lento	
A38EF_4	2	5,4		No crecio	
A38EF_5	1,8	5,8	1,9	Lento	
A38EF_6	1,9	7,6		No crecio	
A42EF_1	3	7,9	3,5	Lento	
A50EF_6	2,3	8	4,9	Lento	

**ANEXO 4.** Base de datos con el registro de incidencia y coordenadas geográficas de las 50 fincas productoras de mora visitadas en los departamentos de Cundinamarca, Antioquia y Santander.

BASE DE DATOS DE INCIDENCIA DE COLLETOTRICHUM EN FLORES Y FRUTOS DE MORA														
	Departamento	Municipio	Vereda	Nombre Fincas	Propietario	Altitud	Coordenadas		Estados Fenológicos					
# Fincas							N	W	I	II	III	IV	V	VI
1	Cundinamarca	Pasca	Guchipas	El Bosque	Cesar Quintero	2301	04° 19.98.0``	0.70° 18.92.4``	0%	0%	10%	0%	0%	0%
2	Cundinamarca	Pasca	San Joaquin	El mirador	Jose Ramires	2315	04° 20.01.4``	0.74° 19.13.4``	0%	0%	0%	0%	0%	20%
3	Cundinamarca	Pasca	San Joaquin	Alto Monserrate	Lucy Cortes	2332	04° 20.01.6``	0.74° 19.13.4``	0%	0%	0%	0%	20%	0%
4	Cundinamarca	San Bernardo	Pirinos Bajo		Isirio Molina		04° 07.55.2``	0.74° 25.99.3``	10%	10%	30%	70%	90%	40%
5	Cundinamarca	San Bernardo	Santa Rita		Isidro Cortes	2257	04° 07.028"	0.74° 26.288"	10%	40%	0%	0%	10%	0%
6	Cundinamarca	Granda	Santa Lucia	Parcela 15B	Luz Marina Ochoa	2498	04° 31.94.3``	0.74° 20.67.4``	50%	30%	0%	70%	10%	0%
7	Cundinamarca	Pandi	Buenos Aires bajo	Villa Daneji	Maria Pedraza	1978	04° 08.75.3``	0.74° 26.11.4``	70%	60%	10%	40%		
8	Cundinamarca	Pandi	Buenos Aires	San Juanito	Reynel Castiblanco	2105	04° 07.47.7``	0.74° 26.34.1``	50%	70%	0%	80%	80%	
9	Cundinamarca	Pandi	Buenos Aires alto	San Juanito # 2	Edison Castiblanco	2100	04° 07.49.0``	0.74° 26.36.3``	0%	0%	0%		0%	60%
10	Cundinamarca	Pandi	Buenos Aires bajo		Germán Berna I	1969	04° 08.78.0``	0.74° 25.92.2``	10%	0%	0%	20%		
11	Santander	Sta. Barbara	La Ceba	Bella Vista	Eugenio Carvajal	1889	06° 56.59.8``	0.72° 58.29.0``	80%	10%	20%	90%	10%	80%
12	Santander	Sta. Barbara	La Ceba	Campo Hermoso		1994	07° 56.28.2``	0.72° 58.01.7``	10%	10%	60%	30%		

13	Santander	Sta. Barbara	La Ceiba	La Ceiba	Hector Jimenez	2122	06° 56.22.1``	0.72° 57.92.2``	100%	100%		100%	10%	
14	Santander	Sta. Barbara	Chingara	El Mirto	Jose Quintero	1955	06° 56.15.8``	0.72° 58.63.0``	100%	70%	50%	100%	30%	10%
15	Santander	Sta. Barbara	Chingara	El Mirto 2	Jose Vicente Quintero	1953	06° 56.22.2``	0.72.58.59.8``	100%	100%	60%	100%	0%	0%
16	Santander	Zapatocha	Bella vista	La Mesta	Antonio Jimenez	2180	06° 49.77.6``	0.73° 19.91.9``	40%	10%	0%	0%	0%	0%
17	Santander	Zapatocha	Bella vista	Buenos Aires	Gerardo Mendez	2063	06° 49.48.4``	0.73° 19.94.6``	100%	100%	0%	90%		
18	Santander	Zapatocha	San Javier	Ebenazer	Luis Figueroa	2073	06° 49.32.1``	0.73° 20.08.3``	90%	90%	0%	60%		
19	Santander	Zapatocha	San Javier	Buenos Aires	Leonardo Quintero	2181	06° 49.38.5``	0.73° 20.61.4``	80%	90%	10%	70%		
20	Santander	Zapatocha	San Javier	San Antonio	Leonardo Quintero	2178	06° 49.37.5``	0.73° 20.28.8``	80%	90%	0%	30%		
21	Santander	Piedecuesta	Sevilla	El Pomarros	Nixon Reyes	2002	07° 01.08.7``	0.72° 59.54.8``	100%	100%	20%	30%		
22	Santander	Piedecuesta	Sevilla	Lauriel	Lusbing Pabon	1943	07° 00.96.5``	0.72° 59.71.6``	80%	100%	20%	100%		
23	Santander	Piedecuesta	El Polo	La Esperanza	Alfredo Velandia	2010	06° 59.55.4``	0.72° 59.84.7``	90%	90%	0%	70%	80%	20%
24	Santander	Piedecuesta	Planadas	La Palma	Gustavo Correa	2136	06° 59.01.7``	0.72° 59.56.2``	100%	100%	0%	100%	20%	
25	Santander	Piedecuesta	Planadas	El Palmar	Otoniel Sandoval	2176	06° 59.65.9``	0.72° 59.26.3``	100%	60%	0%	60%	30%	30%
26	Santander	Piedecuesta	Miraflores		Glady's Garnica	2193	06° 58.41.9``	0.72° 59.78.6``	20%	40%	10%	30%		
27	Santander	Charta	Centro La Rincónada	La Laguna	Clemente Duarte	2180	07° 17.606``	0.72° 58.215``	60%	100%	10%	100%	60%	10%
28	Santander	Charta	Centro La Rincónada	El Taburto	Herminda Hernandez	2283	07° 01.752``	0.72° 58.024``	100%	100%		80%	70%	40%

29	Santander	Charta	Trincheros	Alto El Juncal	Jorge Solano	2345	07° 17.779``	0.72° 57.661``	100%	100%	70%	20%	20%	0%
30	Santander	Charta	Trincheros	El Morró	Nestor Portillo	2345	07° 17.644``	0.72° 57.782``	30%	40%		20%	30%	0%
31	Santander	Guacá	La Rincónada de Quebradas	Los Saucés	Otoniel Cabrera	2467	06° 53.497``	0.72° 52.978``	20%	50%	40%	0%	10%	0%
32	Santander	Guacá	Quebradas	La Primavera	Oscar Jaimes	2170	06° 52.158``	0.72° 53.69``	60%	60%	30%	80%	90%	0%
33	Santander	Guacá	Quebradas	El Roble	Martin Rivera	2460	06° 51.7``	0.72° 53.582``	40%	70%		80%	20%	0%
34	Santander	Guacá	Quebradas	Napoles	Juan Hernandez	2210	06° 52.085``	0.72° 53.571``	0%	50%	0%	50%	40%	
35	Santander	Santa Barbara	La Cebara	La Ceiba	Evilio Camargo	2042	06° 57.025``	0.72° 58.32``	10%	30%	10%	20%	80%	
36	Santander	Santa Barbara	La Cebara	Mirabel	Marcos Martinez	2056	06° 56.559``	0.72° 58.107``	50%	50%	10%	10%	30%	
37	Santander	Santa Barbara	La Cebara		Humberto Echarria				20%	40%	10%	70%	0%	
38	Antioquia	San Vicente	Porvenir	Tesoro	Gloria Roman	2328	06° 18.70.7``	0.75° 18.43.3``	10%	10%		0%	10%	10%
39	Antioquia	El Retiro	La Ampolla	La Rochela	Orlando Bedoya	2296	06° 00.235``	0.75° 28.883``	0%	0%	0%	0%	0%	0%
40	Antioquia	El Retiro	Pantalia	La Zulia	Leonardo Bedoya	2333	05° 59.22.0``	0.75° 29.48.2``	0%	0%	0%	0%	0%	0%
41	Antioquia	El Retiro	Pantalia		Leonel Florez	2263	05° 59.02.3``	0.75° 59.02.2``	0%	0%	0%	20%	30%	
42	Antioquia	La Ceja	San Jose		Jesus Tobon	2252	05° 57.91.2``	0.75° 29.05.8``	10%	0%	0%	0%	0%	0%
43	Antioquia	Envigado	Pantano	La Manuela	Reinaldo Patiño	2559	06° 10.20.7``	0.75° 28.97.0``	40%	40%	10%	0%	0%	0%
44	Antioquia	Envigado	Pantano	Reposo	Jose Rios	2568	06° 10.92.9``	0.75° 29.43.9``	20%	50%	30%	60%	20%	60%
45	Antioquia	Envigado	Pantano	La Cumbré	Maria Gallego	2564	06° 10.41.5``	0.75° 29.32.2``	0%	0%	0%	0%	0%	0%

46	Antioquia	Envigado	Pantano	Los Arrayanes	Pedro Gallego	2577	06° 10.37.1''	0.75° 29.28.2''	30%	10%	0%	0%	10%	0%
47	Antioquia	Envigado	Pantano	Alto Bonito	Anibal Gallego	2577	06° 10.37.1''	0.75° 29.28.2''	0%	0%	0%	0%	0%	10%
48	Antioquia	Guarne	Guapante		Rodolfo Florez	2440	06° 17.45.0''	0.75° 24.06.8''	0%	30%	0%	0%	20%	0%
49	Antioquia	Guarne	Guapante		Jorge Herrera	2394	06° 17.57.4''	0.75° 24.25.0''	20%	20%	10%	20%	20%	0%
50	Antioquia	Granda	Tierra viva		Alegria Salda rriaga	2051	06° 08.211''	0.75° 10.663''	0%	0%	0%	0%	0%	40%