

Patogenicidad de morfotipos endofíticos de *Colletotrichum* en hojas y ramas de mango (*Mangifera indica* L.) CV. azúcar, en el departamento del Magdalena, Colombia

Pathogenicity of endophytic morphotypes of *Colletotrichum* in leaves and branches of mango (*Mangifera indica* L.) CV. azúcar, in the department of Magdalena, Colombia

Álvaro José Mercado-Correa , Luz Edith Arrieta-Mesa , Andrés Felipe Quintero-Mercado  y Alberto Rafael Páez-Redondo 

Programa de Ingeniería Agronómica, Facultad de Ingeniería, Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia.

Resumen

La antracnosis, asociada al género fitopatogénico *Colletotrichum*, es una de las enfermedades más limitantes de mango en el mundo al generar daños en campo y poscosecha. El patógeno es hemibiótrofo y además puede ser endófito asintomático; asimismo, algunas especies presentan quiescencia. El papel de estos estados biológicos como fuente de inóculo es aún incierto. Se evaluó la patogenicidad de 14 aislamientos endofitos-quiescentes de *Colletotrichum* obtenidos de estudios previos y de un aislamiento extraído de un fruto sintomático de mango cv. Azúcar. Al describir morfométricamente (colonia) los aislamientos en cultivos monospóricos y compararlos por su tasa de crecimiento, densidad de inóculo, conidias y apresorios, se encontraron diferencias estadísticas para las primeras tres variables. Asimismo, se evaluó la patogenicidad de los morfotipos en hojas y ramas de mango cv. Azúcar mediante inoculaciones con atomizador en árboles de dos años en condiciones de trópico seco, se describieron síntomas y se evaluaron variables biológicas (número, diámetro y tasa de crecimiento de lesiones). En hojas, todos los morfotipos indujeron lesiones, pero solo hubo diferencias en la tasa de crecimiento; en ramas, se observaron diferencias altamente significativas entre morfotipos en el número y diámetro de lesiones, y diferencias en la tasa de crecimiento de estas, aunque hubo morfotipos que no indujeron daños. Hay alta variabilidad morfológica y biológica entre morfotipos de *Colletotrichum*, y los aislamientos endofíticos son potencialmente infectivos sobre hojas y ramas de mango cv. Azúcar.

Palabras clave: antracnosis; hongo; infección; inoculación; virulencia

Abstract

Anthraxnose, associated with the phytopathogenic genus *Colletotrichum*, is one of the most harmful mango diseases in the world, causing field and postharvest damage. The pathogen is hemibiotrophic and an asymptomatic endophyte, and some species show quiescence; the role of these biological states as a source of inoculum is still uncertain. The pathogenicity of 14 *Colletotrichum* endophyte-quiescent isolates obtained from previous studies and one isolate from symptomatic mango fruit were evaluated. Initially, the isolates were described morphometrically (colony) from monosporic cultures and compared for growth rate, inoculum density, conidia, and appressoria, finding statistical differences for growth rate, inoculum density, and conidia size. The pathogenicity of the morphotypes on mango leaves and branches was evaluated with spray inoculations on two-year-old trees under dry tropical conditions; symptoms were described, and biological variables (number, diameter, and growth rate of lesions) were evaluated. In leaves, all morphotypes induced lesions but there were differences in growth rate; in branches, highly significant differences were found between morphotypes in the number and diameter of lesions and differences in lesion growth rate; however, there were morphotypes that did not induce lesions. *Colletotrichum* morphotypes have high morphological and biological variability, and endophytic isolates are potentially infective on mango leaves and branches.

Key words: anthracnose; fungus; infection; inoculation; virulence

*Autor de correspondencia:

alvaromercadojc@unimagdalena.edu.co

Editor: Juan Cubillos

Recibido: 07 de junio de 2022

Aceptado: 25 de enero de 2023

Publicación en línea: 20 abril de 2023

Citar como: Mercado Correa, A. J., Arrieta Mesa, L. E., y Quintero Mercado, A. F. y Páez Redondo, A. R. (2023). Patogenicidad de morfotipos endofíticos de *Colletotrichum* en hojas y ramas de mango (*Mangifera indica* L.) cv. azúcar, en el departamento del Magdalena, Colombia. Intropica, 18 (1): 8-23. <https://doi.org/10.21676/23897864.4651>.



Introducción

El género *Colletotrichum* se asocia a la antracnosis en especies vegetales y es considerado el octavo fitopatógeno de mayor importancia a nivel mundial por su impacto en los cultivos, causando daños en los diferentes órganos de plantas y pudriciones en poscosecha (Kamle y Kumar, 2016; Pavitra y Singh, 2017). El patógeno se presenta particularmente en árboles frutales de regiones tropicales, subtropicales y templadas de todo el mundo (Whitelaw *et al.*, 2007). El hongo *Colletotrichum* spp., en particular, ha limitado la producción y comercialización del mango, del cual se han reportado pérdidas del 60 % en campo y en poscosecha del 20 % a 46 % (Kamle y Kumar, 2016; Pavitra y Singh, 2017). Concretamente, en mango cv. Azúcar se han informado pérdidas en fruta cercanas al 40 % (Páez, 2003). La mayoría de las infecciones se deben a estructuras que permanecen inactivas en los diferentes órganos del árbol (Sharma *et al.*, 2017).

Colletotrichum es un género que presenta un estilo de vida hemibiótrofo, es decir, su ciclo de vida comprende inicialmente una etapa biotrófica en la que se hospeda de forma asintomática en la planta, en las células de la epidermis, absorbiendo nutrientes y compuestos celulares para su crecimiento y desarrollo a partir de vesículas de infección primarias, pero sin causar muerte celular, ya que en este periodo las reacciones enzimáticas para degradar los componentes de la pared celular son muy restringidas (De Silva *et al.*, 2017). Posteriormente se da la etapa necrotrófica, donde el patógeno altera las funciones fisiológicas y los compuestos bioquímicos de la planta; además, se desarrollan hifas secundarias o infectivas que invaden y generan la muerte de las células contiguas a la inicialmente hospedada, incluyendo células subepidermales (Barimani *et al.*, 2013; De Silva *et al.*, 2019; Perfect *et al.*, 1999).

El patógeno ha desarrollado estrategias de evolución que le han permitido sobrevivir y diseminarse con éxito (Akem, 2006), lo cual lo ha llevado a constituirse como limitante de cultivos de importancia socioeconómica en el mundo (Sharma *et al.*, 2017). Asociado a estos procesos evolutivos, se plantea que especies del género *Colletotrichum* presentan dos eventos biológicos que les han facilitado establecerse en sus hospedantes con total éxito y así sobrevivir: el endofitismo y la etapa de quiescencia (De Silva *et al.*, 2017).

El endofitismo es un estilo de vida en el cual los microbios habitan en el interior de las células de la planta hospedante sin causarle daños aparentes (Hardoim *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*,

2009; Wilson, 1995), aunque también se plantea su rol en procesos infectivos (De Silva *et al.*, 2017; Photita *et al.*, 2004). Ahora bien, en condiciones tropicales, y mucho más en cultivos de mango, aún hay incertidumbres sobre especies endófitas patogénicas de *Colletotrichum*, y algunas investigaciones evidencian que la condición como endófito antecede a la infección. De esta manera, el patógeno pasa desapercibido cuando no se han dado condiciones para pasar a un estado patogénico en el hospedante (Dangond, 2018; Sánchez *et al.*, 2013). Estudios realizados en Brasil (Vieira *et al.*, 2014) y en Colombia (Páez, 2020; Quintero *et al.*, 2019) han reportado que ciertos aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* obtenidos a partir de órganos de mango tienen la capacidad de producir antracnosis, lo cual permite inferir que endófitos de *Colletotrichum* permanecen como fuente de inóculo oculta en los cultivos de esta fruta y se expresarán como patogénicos cuando las condiciones del medio sean favorables para la interacción patogénica hongo-hospedante.

Por otra parte, la quiescencia se define como el periodo de tiempo en el ciclo de vida del patógeno en el que permanece en el hospedante en aparente quietud después de la fase biotrofa, y antes de pasar a una fase necrotrófica en la que aparecen los síntomas. Esta etapa es importante en patógenos que producen enfermedades en la poscosecha de frutas y verduras, en el transporte y el almacenamiento (De Silva *et al.*, 2017; Prusky *et al.*, 2013). La quiescencia en *Colletotrichum* está regulada por compuestos antifúngicos y factores de maduración en el hospedante que hacen que el patógeno permanezca inactivo, tales como apresorios melanizados o hifas gruesas no infectivas, y se activa como infectivo en especial en etapas maduras de floración o fructificación de los órganos (Akem, 2006; Páez, 2003; Prusky y Lichter, 2007; Sangeetha y Rawal, 2008). Así, a pesar de que no todas las especies de *Colletotrichum* evidencian quiescencia (Páez, 2020), es posible que muchas infecciones pasen desapercibidas cuando, en efecto, pasan por dicho estado (Prusky *et al.*, 2013).

Con el fin de entender la interacción entre morfotipos endofíticos de *Colletotrichum* y órganos de mango, y teniendo en cuenta los pocos estudios en condiciones del trópico y en cultivares de importancia regional como el mango cv. Azúcar, se llevó a cabo la evaluación de la capacidad patogénica de 14 morfotipos endófitos-quiescentes de *Colletotrichum* obtenidos de ramas y frutos de cultivos de esa variedad, y de uno más proveniente de un fruto sintomático, sobre hojas y ramas de árboles.

Materiales y métodos

Aislamientos endofíticos-quiescentes

De los 15 aislamientos evaluados, 14 se encontraban depositados en el cepario del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad del Magdalena y habían sido obtenidos en estudios previos (Dangond, 2018; Quintero *et al.*, 2019) a partir de ramas de árboles de mango cv. Azúcar localizados en el municipio de Ciénaga, Magdalena. El aislamiento adicional provino de frutos sintomáticos de mango cv. Azúcar hallado en un cultivo de nueve años ubicado en el corregimiento de Cordobita, municipio de Ciénaga, Magdalena (finca Las Margaritas).

Para obtener el aislamiento, previo a lavado del fruto con agua corriente, se cortaron fragmentos de epidermis de 5x5 mm de tejido sano con zona de avance de la lesión dentro de la cámara de flujo laminar marca Streamline®, en condiciones de asepsia. Estos fragmentos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1 % durante un minuto; posteriormente, se lavaron con agua destilada estéril (ADE) dos veces seguidas durante un minuto cada uno y se secaron sobre papel estéril en la cámara de flujo laminar. Finalmente, se sembraron en platos de Petri que contenían medio de agar de dextrosa y papa más 200 partes por millón (ppm) de gentamicina (Genfar®) y, una vez se evidenció crecimiento micelial, se transfirieron a un nuevo plato de Petri con PDA para su purificación. Los cultivos de los aislamientos se dejaron crecer durante 10 días y se conservaron en nevera (6 °C).

Preparación del inóculo para siembra de cultivos monospóricos

En la cámara de flujo laminar marca Streamline® y bajo condiciones de asepsia, se transfirió una porción de la zona de crecimiento activo del cultivo (zona periférica) de cada aislamiento al centro de tres nuevos platos de Petri con PDA, adicionando 200 ppm de gentamicina (Genfar®). Estas muestras se dejaron crecer durante 10 días en el cuarto de incubación dentro de una nevera de poliestireno expandido, esterilizado con hipoclorito de sodio al 1 %, a 26±2 °C.

Para cada aislamiento, se obtuvieron cultivos monospóricos. Con ese fin, se seleccionó un plato de Petri con crecimiento fungoso de cada aislamiento y, en la cámara de flujo laminar marca Streamline®, se añadieron 20 mL de ADE. Luego, con la ayuda de un rastrillo plástico estéril se raspó la superficie de cada crecimiento, se homogeneizó la suspensión fungosa y se

filtró con gasas estériles. La suspensión filtrada se recogió en tubos para centrifuga tipo Falcon de 20 mL esterilizados, los cuales se centrifugaron durante cinco minutos a 3.000 rpm.

A continuación, se descartó el sobrenadante, dejando la masa de conidias en el fondo del tubo, a la que se adicionaron 5 mL de ADE. Dicha suspensión de conidias se mantuvo en agitación, y se hizo conteo de conidias en la cámara de Neubauer mediante observaciones en un microscopio Leica ICC50. Las concentraciones se ajustaron a 3x10³ conidias/mL y posteriormente, con la ayuda de una micropipeta de 10 µL, se añadieron en total 20 µL de suspensión en platos de Petri con medio PDA y 200 ppm de gentamicina (Genfar®), distribuyendo en forma de zigzag sobre la superficie del medio con la ayuda de un asa bacteriológica. Los platos de Petri con la suspensión de conidias se incubaron a 26±2 °C en total oscuridad.

Dos días después, una vez se identificaron colonias fúngicas dispersas sobre el medio, se transfirió una de ellas a la zona central de un nuevo plato de Petri con PDA y 200 ppm de gentamicina (Genfar®) previamente preparado bajo condiciones de asepsia. El procedimiento se repitió tres veces con cada uno de los aislamientos.

Caracterización morfométrica de aislamientos de *Colletotrichum*

Una vez se sembraron los cultivos monospóricos, se realizaron mediciones diarias durante 10 días para calcular el crecimiento radial de las colonias y se determinó la tasa de crecimiento de cada morfotipo, así como la descripción morfológica de las colonias (color, textura, anillos y márgenes). A partir de los cultivos de 10 días de cada morfotipo, se obtuvieron suspensiones de conidias tal como se ha descrito y se cuantificó la densidad de inóculo. Asimismo, se midieron el largo y el ancho de las conidias mediante el software Leica Application Suite, versión 3.2.0 (32-bits) 2015.

La eficiencia biológica de los morfotipos de *Colletotrichum* spp. se determinó por medio del porcentaje de conidias germinadas y de apresorios formados y germinados a partir de las suspensiones a una concentración de 5x10⁵ conidias/mL. Para ello, con una micropipeta de 10 µL, se colocaron 10 microgotas (10 µL) separadas entre sí sobre un portaobjetos estéril en el interior de un plato de Petri estéril con papel filtro humedecido en el fondo. Cada plato se selló y se incubó durante 24 horas en total oscuridad (interior de la nevera de poliestireno expandido, esterilizada con hipoclorito de sodio al 1 %), a 26±2 °C. Se

revisaron tres gotas de cada plato por aislamiento y se hicieron observaciones mediante el microscopio Leica ICC50 en tres campos de cada gota a 40X.

Para el análisis de las variables evaluadas, se utilizó un diseño de efectos fijos con tres repeticiones, exceptuando el largo y el ancho de conidias, en cuyo caso se hicieron 50 mediciones, y se realizaron un análisis ANAVA de una vía y la comparación de promedios mediante el procedimiento de diferencia honestamente significativa de Tukey a un nivel de confianza del 95 %. Debido al no cumplimiento de normalidad, homogeneidad de la varianza e independencia de errores, se usó una prueba no paramétrica (Kruskal-Wallis) para el estudio de la tasa de crecimiento micelial (mm/día), densidad de inóculo (conidias/mL) y porcentaje de apresorios germinados. Se usó el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI, versión 16.1.18 (32-bits) 2012.

Patogenicidad de los morfotipos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum*

Para la prueba de patogenicidad, en todos los tratamientos se inocularon tres hojas en estado fenológico 129 según la escala BBCH (Hernández et al., 2011) y el segundo crecimiento de una rama, en estado vegetativo por aislamiento o morfotipo, de árboles de mango cv. Azúcar de 24 meses de edad, los cuales fueron obtenidos de un vivero certificado por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y mantenidos en una casa malla en la granja de la Universidad del Magdalena.

Como inóculo, se utilizaron cultivos de 10 días en medio PDA con 200 ppm de gentamicina (Genfar®), provenientes de cultivos monospóricos. En una cámara de flujo laminar marca Streamline -y bajo condiciones de asepsia, se vertieron 20 mL de ADE a un plato de Petri con crecimiento micelial de cada uno de los aislamientos seleccionados y con la ayuda de un rastrillo plástico se removió dicho crecimiento, con el fin de que la solución quedara totalmente homogénea. Posteriormente, con la ayuda de gasas clínicas estériles se filtraron las soluciones de los aislamientos y se depositaron en tubos de ensayo de 20 mL. Los tubos preparados se centrifugaron durante cinco minutos a 3.000 rpm. Luego de este proceso, se eliminó el sobrenadante, dejando en el fondo de los tubos la masa de conidias, a la cual se añadieron 5 mL de ADE. Se hizo un ajuste de concentraciones hasta llegar a una concentración de 5×10^5 conidias/mL para cada aislamiento, con la ayuda de la cámara de Neubauer y un microscopio Leica ICC50.

Con el fin de simular el ambiente más favorable para que el patógeno interactuara con los tejidos susceptibles de la planta

y teniendo en cuenta que las inoculaciones se hicieron en árboles fisiológicamente activos, se llevó a cabo un proceso de limpieza previo en hojas y ramas. Este consistió en asperjar ADE con un frasco atomizador, lo que permitió eliminar la suciedad en la superficie de las hojas y ramas sin afectar la población epífita y endófita propia de la planta.

Las inoculaciones se realizaron con atomizadores que contenían las suspensiones de conidias, asperjando tanto el haz como el envés de las hojas seleccionadas por planta, así como las ramas, de tal forma que las hojas y ramas quedaran cubiertas en forma de rocío con la atomización. La planta correspondiente al control absoluto se inoculó con ADE. Posteriormente, las hojas y las ramas se cubrieron con bolsas plásticas transparentes estériles y se colocaron motas de algodón humedecidas para crear condiciones similares a una cámara húmeda. Dichas bolsas se sellaron con cuerdas ajustadas a las ramas, al igual que el control.

Se hizo seguimiento diario con el fin de verificar la aparición de síntomas. Para determinar la patogenicidad, se midieron: número de lesiones, diámetro de lesiones y tasa de crecimiento de lesiones en hojas y ramas. A partir de estas observaciones se obtuvieron el periodo de incubación (PI) y el periodo de latencia (PL). Por una parte, se seleccionaron tres hojas inoculadas y se cuantificó en cada una la cantidad de lesiones. Luego, de cada hoja seleccionada se eligieron a su vez tres lesiones a las que se les hizo seguimiento cada dos días durante ocho días, midiendo su tamaño en diámetro (mm) con la ayuda de un pie de rey y calculando su tasa de crecimiento (mm/día). En el caso de las ramas, cada una se dividió en tres secciones, de 5 cm cada una, en las cuales se cuantificaron las lesiones, y a tres lesiones por sección se les midió el tamaño en diámetro (mm) cada dos días durante ocho días, calculando la tasa de crecimiento (mm/día). Tras las inoculaciones, se llevaron a cabo aislamientos a partir de las lesiones típicas de antracnosis inducida en hojas y ramas, con el fin de confirmar mediante los postulados de Koch la asociación de estos síntomas con los morfotipos inoculados. El estudio se evaluó mediante un diseño de efectos fijos con tres repeticiones y, debido al no cumplimiento de normalidad, homogeneidad de la varianza e independencia de errores, las diferencias en la virulencia en hojas se analizaron mediante una prueba no paramétrica (Kruskal-Wallis) a un 95 % de confianza, mientras que en ramas las diferencias en virulencia se analizaron mediante ANAVA de una vía y se realizó comparación de medias mediante test de Tukey a un nivel de confianza del 95 %. Se usó el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI-Versión 16.1.18 (32-bits) 2012.

Resultados

Descripción de las características morfológicas y aspectos biológicos de morfotipos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum*.

Prevalcieron morfotipos que presentaron colonias de textura algodonosa y coloraciones variables entre blancuzcas a más oscuras. Los márgenes de las colonias fueron mayoritariamente enteros y, excepcionalmente, se presentaron colonias con anillos y formación de esclerocios (tabla 1, figura 1).

En cuanto a la tasa de crecimiento micelial, la prueba de Kruskal-

Wallis mostró diferencias estadísticas ($p=0,009$) a un nivel del 95 % de confianza, al igual que en las variables densidad de inóculo ($p=0,000$) y porcentaje de apresorios formados ($p=0,000$), siendo altamente significativas. El aislamiento UM 042 obtuvo la mayor tasa de crecimiento (12,4 mm/día), mientras que UM 048 registró la menor (6,8 mm/día) (tabla 2).

Para la densidad de inóculo, el aislamiento UM 044 registró la mayor concentración de conidias, con un promedio de $8,189 \times 10^7$ conidias/mL. Por su parte, UM 047 arrojó el menor valor, con 1×10^5 conidias/mL en promedio. Los valores difirieron entre todos los morfotipos (tabla 2).

Tabla 1. Características morfológicas de colonias correspondientes a los diferentes morfotipos de *Colletotrichum* asociados a mango cv. Azúcar.

Aislamiento	Origen del morfotipo	Textura	Color	Observaciones
UM 035	Rama de estrato alto	Algodonosa	Blanco grisáceo, anillos color bronce	Anillos concéntricos y crecimiento a ras del medio
UM 036	Rama de estrato medio	Algodonosa	Blanco, anillos color bronce	Margen entero hialino y anillos irregulares
UM 037	Rama de estrato alto	Algodonosa	Crema, zona central color lavanda	Margen filamentosos y presencia de un solo anillo
UM 038	Rama de estrato alto	Algodonosa	Blanco, anillos color salmón	Margen entero, presencia de esclerocios y anillos concéntricos
UM 039	Rama de estrato bajo	Algodonosa	Beige, anillos color salmón	Margen entero y anillos concéntricos
UM 040	Rama de estrato alto	Granular	Blanco, anillos color salmón y negro	Margen filamentosos y anillos concéntricos bien marcados
UM 041	Rama de estrato alto	Granular	Blanco, anillos color salmón	Margen rizado, anillos irregulares y presencia de esclerocios
UM 042	Rama de estrato alto	Algodonosa	Blanco, anillos con tono variable	Margen ondulado y anillos concéntricos
UM 043	Rama de estrato medio	Algodonosa	Blanco, anillos color salmón	Margen entero y anillos concéntricos bien definidos
UM 044	Rama de estrato alto	Algodonosa	Blanco, anillos color cobre	Margen entero y anillos concéntricos granulares
UM 045	Rama de estrato alto	Algodonosa	Blanco, anillos color salmón	Margen entero y anillos irregulares
UM 046	Rama de estrato alto	Algodonosa	Crudo, anillos color salmón	Margen entero y anillos concéntricos granulares
UM 047	Rama de estrato medio	Algodonosa	Beige, anillos color salmón	Margen entero y anillos concéntricos granulares
UM 048	Rama de estrato alto	Algodonosa	Beige, anillos color salmón	Margen entero y anillos concéntricos múltiples
UM 049	Fruto sintomático	Algodonosa	Beige, anillos oscuros	Margen entero y anillos concéntricos múltiples

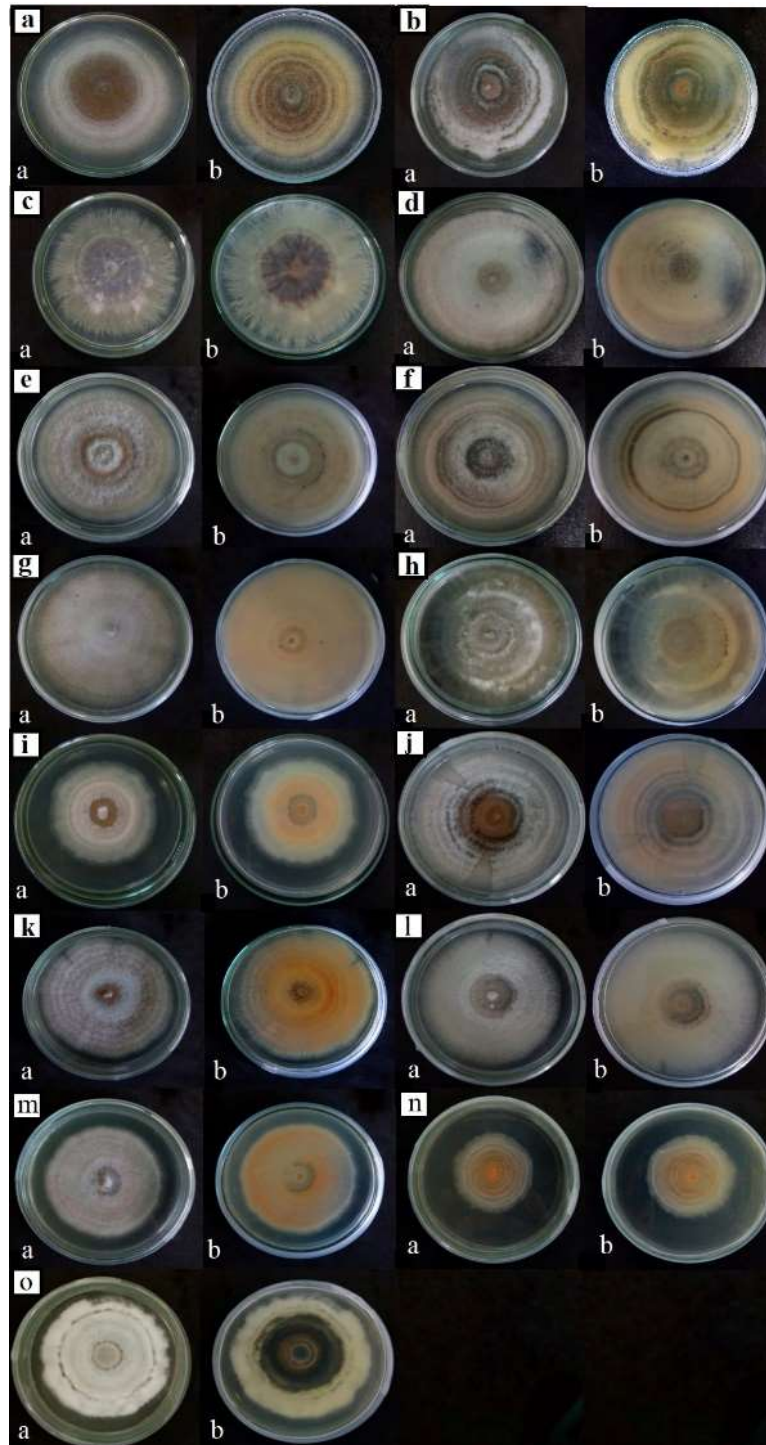


Figura 1. Morfotipos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum*, después de 10 días de crecimiento en PDA a $26\pm 2^{\circ}\text{C}$: a) anverso de la colonia; b) reverso de la colonia. Morfotipos: a) UM 035; b) UM 036; c) UM 037; d) UM 038; e) UM 039; f) UM 040; g) UM 041; h) UM 042; i) UM 043; j) UM 044; k) UM 045; l) UM 046; m) UM 047; n) UM 048; o) UM 049.

El porcentaje más alto de apresorios formados fue registrado por el morfotipo UM 042, con un 67 %. Por otro lado, UM 044 fue el único morfotipo en el que no hubo formación de apresorios y, entre los demás aislados, los valores fueron
Enero – junio de 2023

diferentes, con registros entre 4 % y 37 % (tabla 2). En el análisis de ANAVA una vía se encontró que para el largo de conidias no se encontraron diferencias estadísticas ($p=0,122$) a un nivel del 95 % de confianza. Sin embargo, se destaca

que UM 038 registró las conidias más largas con 13,08 µm en promedio, y UM 040 presentó las conidias de menor longitud con un promedio de 8,26 µm. Con respecto al ancho de las conidias, se reportan diferencias estadísticamente significativas entre los morfotipos ($p=0,033$), confirmándose con la prueba de Tukey (95 % de confianza). UM 038 mostró las conidias de mayor grosor, con un valor promedio de 5,05 µm; en contraste, UM 048 evidenció las conidias menos anchas, con 2,95 µm en promedio. En el morfotipo UM 038 se observaron las conidias de mayor tamaño (tabla 2).

Para las variables conidias sin germinar, conidias germinadas y apresorios germinados, el análisis de varianza ANAVA de una vía mostró diferencias estadísticas altamente significativas ($p=0,000$) a un nivel del 95 % de confianza, confirmándose con

la prueba de Tukey (95 % de confianza). El aislamiento UM 044 fue el de menor viabilidad en las conidias al registrar 83 % de conidias sin germinar, en tanto que a UM 047 corresponde el mayor porcentaje de conidias germinadas, con 77 % en promedio. Solo UM 044 no formó apresorios bajo las condiciones del experimento, y asimismo se destaca UM 042 por presentar 67 % de apresorios formados a partir de las conidias germinadas, mientras que los demás morfotipos registraron valores promedios entre 4 % y 37 % de apresorios formados con respecto a las conidias germinadas. Los aislamientos UM 039 y UM 045, en particular, resaltaron al registrar 25 % de apresorios germinados o en proceso de formación de una hifa de penetración; en contraste, los morfotipos UM 038, UM 041, UM 043, UM 046 y UM 049 no registraron apresorios germinados (tabla 2).

Tabla 2. Características morfológicas y eficiencia biológica de morfotipos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum*. Nota: Δ=Comparación de medias con un nivel de significancia $p<0,05$. Prueba no paramétrica Kruskal-Wallis. *=Comparación de medias con un nivel de significancia $p<0,05$. Prueba de rangos múltiples (HSD) de Tukey. DE: desviación estándar.

Morfotipo	Δ Tasa de crecimiento micelial (mm/día)	Δ Densidad de inóculo (conidias/mL)	Longitud de conidias		* Conidias germinadas (%)	Δ Apresorios formados (%)	* Apresorios germinados (%)
			*Largo (µm)	*Ancho (µm)			
UM 035	8,9	6,500x106	11,03a	4,04ab	73a	20	10ab
UM 036	8,8	6,383x106	10,22a	4,19ab	63b	18	8ab
UM 037	8,5	1,131x107	9,42a	3,74ab	59b	15	1b
UM 038	8,9	3,583x106	13,08a	5,06a	19de	4	0b
UM 039	8,1	3,000x105	11,33a	4,26ab	77a	37	25a
UM 040	7,9	1,483x106	8,26b	3,05b	52c	21	4b
UM 041	10,4	1,916x106	10,22a	4,02ab	38cd	11	0b
UM 042	12,4	2,666x105	10,28a	3,65ab	75a	67	8ab
UM 043	8,7	1,816x106	11,34a	4,73ab	43cd	22	0b
UM 044	10,4	8,189x107	10,27a	3,66ab	17e	0	0b
UM 045	9,0	2,648x107	11,04a	3,78ab	75a	25	25a
UM 046	8,1	3,65x106	10,86a	4,07ab	31d	6	0b
UM 047	7,4	1,000x105	11,45a	4,61ab	77a	13	8ab
UM 048	6,8	1,816x106	9,61a	2,95b	36cd	9	7ab
UM 049	10,1	2,666x105	10,49a	3,9ab	34cd	7	13ab
D.E.	0,19	2,33	1,64	0,8	14,1	16,1	9,8

Patogenicidad de los morfotipos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum*

Inducción de síntomas de morfotipos de *Colletotrichum* en hojas y ramas de mango cv. Azúcar

En hojas, se encontró que los 15 morfotipos evaluados causaron

lesiones. Se visualizaron daños en los bordes del limbo y en toda la lámina foliar (figura 2a). Inicialmente, se observaron puntos circulares de negros a marrones en el haz y el envés de las hojas, al igual que en las nervaduras (figura 2b). A medida que fueron creciendo las lesiones foliares, estas presentaron formas ovoides y redondas con bordes definidos y delimitadas por halo clorótico (figura 2c) hasta lesiones alargadas o elípticas (figura

2d) con zonas deprimidas, típicas de antracnosis foliar, que podían afectar las nervaduras (figura 2e). En una etapa avanzada, las lesiones presentaron centro cenizo, delimitado por bordes negros y halo clorótico muy marcados debido al avance del daño del patógeno (figura 2f y figura 2g). Finalmente, las lesiones coalescieron y formaron áreas necróticas grandes e

irregulares, similares a un añublo foliar (figura 2h). Las hojas que emergieron durante el estudio se deformaron, presentando encrespamiento en los bordes y enrollamiento hacia el haz, acompañado de necrosis de bordes y áreas irregulares desde la nervadura central hasta los bordes (figura 2i). En el control absoluto no se registraron síntomas visibles (figura 2j).

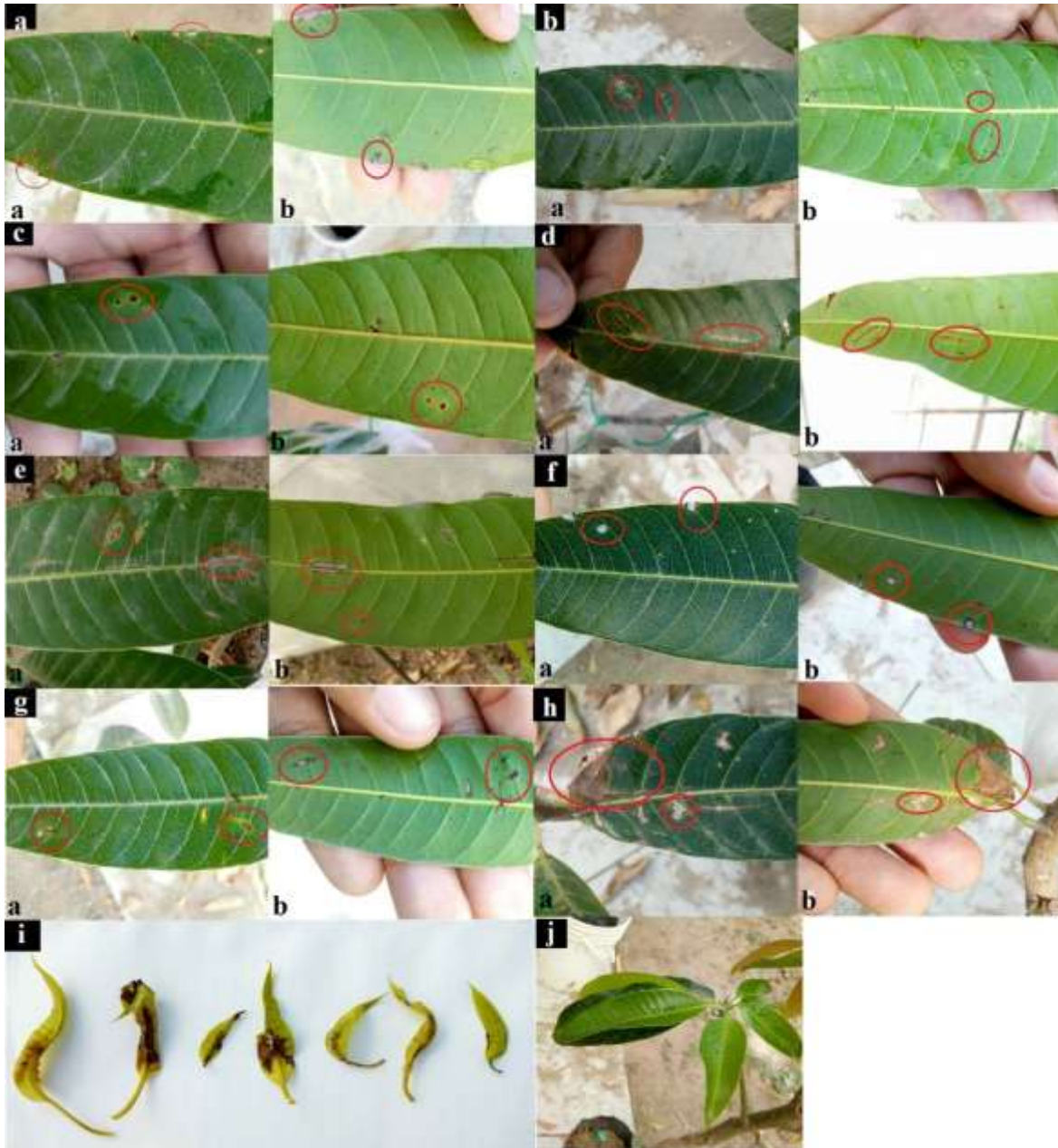


Figura 2. Lesiones inducidas por morfotipos endofíticos-quiéscientes de *Colletotrichum* en hojas, 16 días después de las inoculaciones: a) haz; b) envés. a) Lesiones en bordes del limbo y toda la lámina foliar, inducidas por UM 035; b) síntomas iniciales en forma de puntos circulares oscuros, inducidos por UM 041; c) lesiones con forma ovoide y halo clorótico, inducidas por UM 036; d) lesiones alargadas o elípticas, inducidas por UM 048; e) lesiones alargadas tipo antracnosis foliar, en ocasiones afectando las nervaduras, inducidas por UM 039; f) lesiones con centro cenizo y bordes oscuros, inducidas por UM 040; g) lesiones con centro cenizo, bordes oscuros y halo, inducidas por UM 047; h) lesiones coalescentes formando área irregular similar a un añublo, inducidas por UM 042; i) deformaciones y necrosis en hojas jóvenes inducidas por UM 049; j) control sin síntomas.

En ramas, se encontró que 10 morfotipos (67 %) indujeron síntomas de la enfermedad, mientras que los morfotipos UM 038, UM 042, UM 044, UM 046 y UM 049 no fueron patogénicos en ramas.

En los órganos afectados, se presentaron dos tipos de síntomas: (1) lesiones corchosas o suberosas, similares a roñas, de color marrón a negro, alargadas y de tamaños variables, con halos cloróticos de forma irregular (figura 3a), y (2) presencia de chancros, de color negro a marrón oscuro, de forma circular a

alargada con un halo clorótico difuso (figura 3b).

Se llevaron a cabo aislamientos a partir de las lesiones típicas de antracnosis inducida en hojas y ramas posterior a las inoculaciones. Estos mostraron las estructuras típicas del hongo, confirmando así que los síntomas reproducidos en hojas y ramas fueron producto de las inoculaciones. Adicionalmente, la no ocurrencia de síntomas en el control absoluto (inoculación con ADE) confirmó la relación de los morfotipos inoculados y la expresión de síntomas.



Figura 3. Lesiones inducidas por morfotipos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum* en ramas, 16 días después de las inoculaciones: a) roñas o costras en ramas, inducidas por UM 037; b) chancre inducido por UM 045.

Patogenicidad de morfotipos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum* en hojas y ramas

El PI en hojas y ramas fue de ocho días para todos los aislamientos patogénicos, y en condiciones ambientales de la casa de malla los órganos inoculados no mostraron signos del patógeno.

En las hojas, no se presentaron diferencias estadísticas para el número de lesiones ($p=0,104$) de acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis, a un nivel del 95 % de confianza. Sin embargo, se pudo evidenciar que el morfotipo UM 049 indujo el mayor número de lesiones, con 22 lesiones/hoja en promedio, mientras que el menor valor en este sentido se obtuvo inoculando el aislamiento UM 038, con un valor promedio de 2 lesiones/hoja (figura 4a).

En cuanto al diámetro de las lesiones expresadas, tampoco se

encontraron diferencias estadísticas ($p=0,071$) entre los morfotipos de acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis, a un nivel del 95 % de confianza. No obstante, el morfotipo UM 048 indujo las lesiones de mayor tamaño, con un valor promedio de 6,99 mm. En contraste, las hojas inoculadas con UM 043 registraron el menor tamaño de lesiones, con 2,33 mm en promedio (figura 4b).

Referente a la tasa de crecimiento diaria de las lesiones, se presentaron diferencias estadísticas ($p=0,017$) entre aislamientos de acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis, a un nivel del 95 % de confianza. Particularmente, se destacó el morfotipo UM 048 por inducir la mayor tasa de crecimiento de las lesiones, con valor promedio de 0,40 mm/día; por el contrario, UM 043 fue un aislamiento con baja virulencia, ya que la tasa de crecimiento diario de las lesiones fue de 0,06 mm/día en promedio (figura 4c).

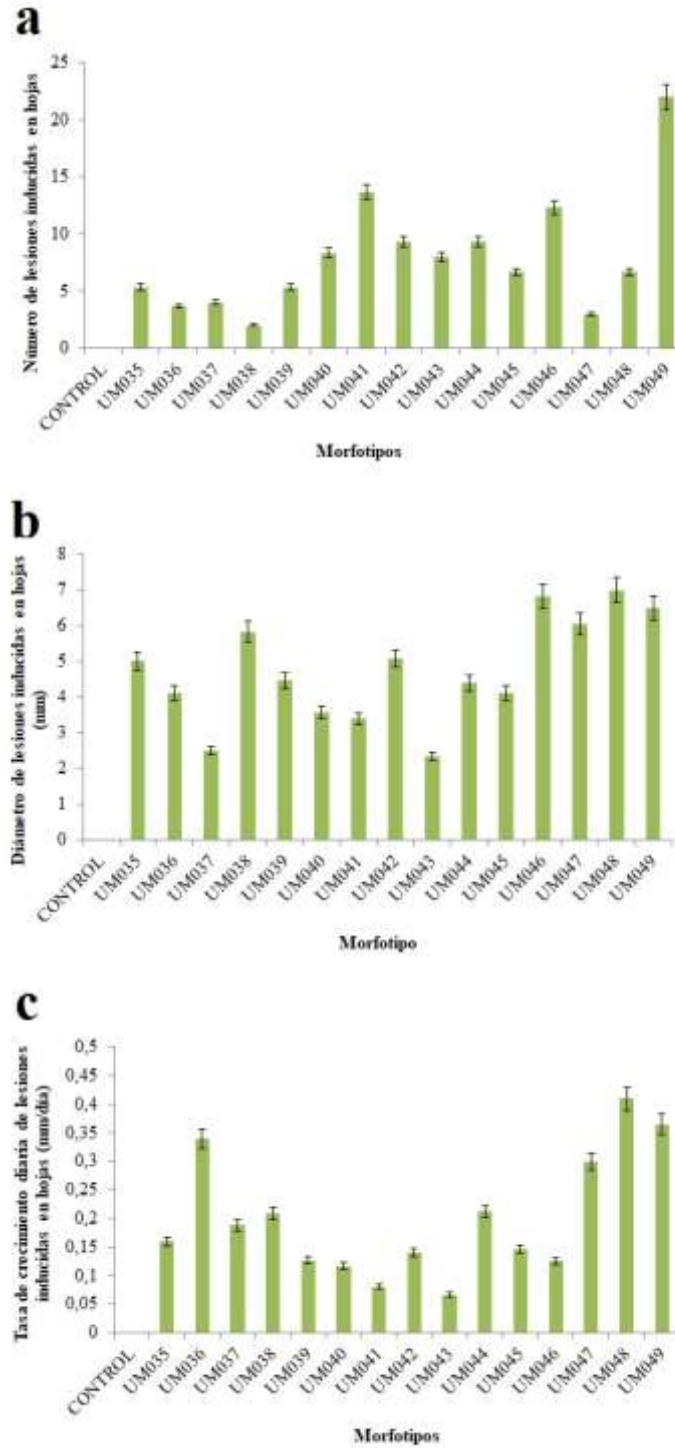


Figura 4. Virulencia de aislamientos endofíticos-quietescentes de *Colletotrichum* en hojas, 16 días después de la inoculación: a) número de lesiones en hojas; b) diámetro (mm) de lesiones en hojas; c) tasa de crecimiento (mm/día) de lesiones en hojas. Las columnas indican las comparaciones de las medianas de los morfotipos de acuerdo con el tamaño de lesiones, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis, a un nivel del 95 % de confianza.

En las ramas, la prueba de ANOVA de una vía mostró diferencias estadísticas altamente significativas ($p=0,000$), a un nivel del 95 % de confianza, para el número y tamaño de lesiones, lo cual fue confirmado con la prueba de Tukey a un nivel del 95 % de

confianza. El morfotipo UM 037 causó el mayor número de lesiones sobre los órganos inoculados, con valor promedio de 5,33 lesiones/hoja (figura 5a), e indujo las lesiones de mayor diámetro al registrar un promedio de 10 mm por lesión (figura 5b).

Para la tasa de crecimiento diaria, la prueba ANAVA de una vía

mostró diferencias estadísticas ($p=0,022$), a un nivel del 95 % de confianza, entre los aislados patogénicos, lo cual fue confirmado con la prueba de Tukey a un nivel del 95 % de confianza. De nuevo, en este caso se destacó el morfotipo UM 037 al presentar la mayor tasa de crecimiento de las lesiones, con un valor promedio de 0,45 mm/día (figura 5c).

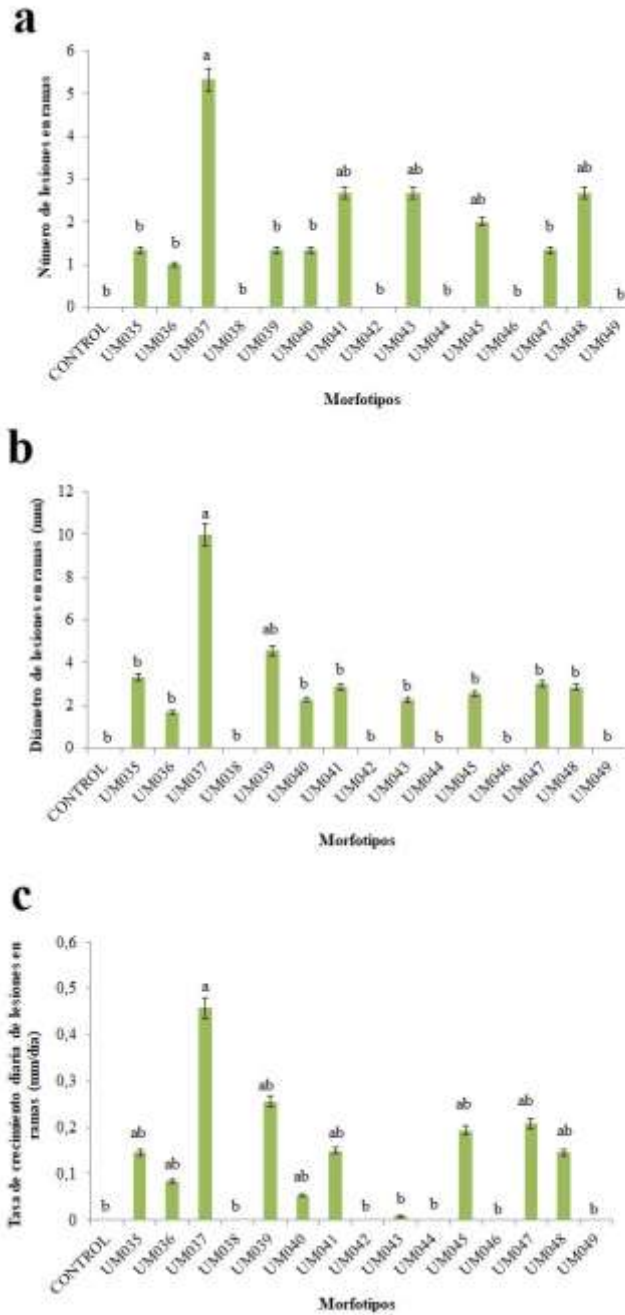


Figura 5. Virulencia de morfotipos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum* en ramas, 16 días después de la inoculación: a) número de lesiones en ramas; b) diámetro (mm) de lesiones en ramas; c) tasa de crecimiento de lesiones en ramas. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos de acuerdo con el tamaño de lesiones, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias. Las columnas con letras iguales no presentan diferencias estadísticamente significativas según la prueba HSD de Tukey ($p<0,05$).

Discusión

La mayoría de los morfotipos presentaron textura algodonosa, en línea con lo reportado para aislados obtenidos de antracnosis en mango por Gañán *et al.* (2015), Páez (2020) y Valdés *et al.* (2017), quienes adicionalmente describen colonias lanosas, harinosas y afelpadas. Se observaron pocas colonias granulares, lo cual coincide con lo reportado por Domínguez *et al.* (2014). La tasa de crecimiento fue similar entre los morfotipos caracterizados (desviación estándar [DE]=0,19), cuyos valores fueron cercanos a los obtenidos por Quintero *et al.* (2019), quienes reportan tasas medias entre 8,5-9,1 mm/día.

Los rangos de concentración de inóculo (DE=2,33) oscilaron entre 1×10^5 (UM 047) y $8,189 \times 10^7$ conidias/mL (UM 044), mostrando diferencias bien marcadas en la capacidad esporulativa entre los morfotipos evaluados. Esta situación se ha evidenciado en otras investigaciones, como son los casos reportados por Bersisa *et al.* (2018) y Majumdar y Mandal (2018), con valores de concentraciones de conidias que fluctuaron entre $17,99 \times 10^6$ y $33,30 \times 10^6$ conidias/mL y $7,5 \times 10^5$ y $1,44 \times 10^6$ conidias/mL, respectivamente.

En cuanto al tamaño de las conidias, no hubo diferencias estadísticas entre morfotipos para el largo de estas, pero sí para el ancho. Se registraron valores promedios de largo entre 8,26-13,08 μm (DE=1,64), mientras que los valores de ancho fluctuaron entre 2,95-5,06 μm (DE=0,8). Estos datos difieren de los obtenidos en otros estudios en mango para morfotipos del mismo género de hongo (Páez, 2003), donde se registraron mediciones entre 11,03-15,9 μm de largo y entre 3-7,11 μm de ancho.

Ahora bien, en estudios de patogenicidad de *Colletotrichum* en otros frutales se encontraron similitudes con lo hallado en el presente estudio. Por ejemplo, Granados y Guevara (2010) indican valores de longitud de conidias entre 8,39-8,83 μm , y Damm *et al.* (2012) dan cuenta de un rango más amplio en el tamaño de conidias, considerando la variabilidad biológica de *Colletotrichum*, con medidas de largo que varían entre 7-18 μm y de ancho entre 3-4,5 μm , cercanas a las presentadas en esta investigación. Otros trabajos de esta índole reportan valores entre 13,5-14,2 μm de largo y entre 4-4,02 μm de ancho (Rojo *et al.*, 2017), o valores promedios de 17,9 μm y 5,2 μm de largo y ancho, respectivamente (Harp *et al.*, 2008).

En cuanto a aspectos biológicos de los aislados evaluados, la germinación de las conidias fue variable entre ellos, con valores que oscilaron entre 19 % y 77 % (DE=14,1), así como la

formación (DE=16,1) y germinación de apresorios (DE= 9,8). Este comportamiento ya ha sido observado en otras investigaciones como la de Oliveira *et al.* (2005), quienes registraron valores entre 40 % y 90 % de germinación de las conidias de diferentes aislamientos de *Colletotrichum* obtenidos de olivos afectados, al igual que un menor porcentaje de apresorios formados con respecto a las conidias germinadas, tal como lo hallado en el presente estudio.

Los síntomas observados en hojas y ramas en esta investigación correspondieron a lesiones típicas ocasionadas por *Colletotrichum* en mango. Valdés *et al.* (2017) reportaron manchas marrones, regulares, que crecían hasta unirse y formar grandes áreas en hojas, y Baquero *et al.* (2013) encontraron lesiones irregulares de gran tamaño en los bordes de las hojas y daños en las nervaduras. También se han reportado lesiones inicialmente circulares, irregulares y angulares de color negro-marrón con halo clorótico que se alargan y se desprenden de la hoja, así como lesiones necróticas en los brotes jóvenes y nervaduras de árboles de mango (Akem, 2006; Scot, 2008). En ramas se describen lesiones necróticas subcirculares y angulares con bordes irregulares (Kamle *et al.*, 2013; Páez, 2003; Scot, 2008) y lesiones alargadas con tonos grises o marrón a negro (Akem, 2006), lo cual coincide con lo observado en este estudio. Los 15 morfotipos indujeron lesiones en todas las hojas inoculadas, mientras que en ramas solo 10 morfotipos, correspondientes al 67 % del total, indujeron daños. Páez (2020) encontró que en frutos inoculados con aislamientos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum* el 62 % de los aislamientos utilizados resultaron patogénicos, mientras que Quintero *et al.* (2019) y Vieira *et al.* (2014) reportaron lesiones del 100 % de los aislamientos endofíticos-quiescentes sobre frutos de mango. Si bien los órganos y los métodos de inoculación en estos casos fueron diferentes respecto a los del presente estudio, donde se inocularon por atomización o aspersión hojas y ramas de árboles en casa de malla (plantas activas metabólicamente), el porcentaje de aislamientos patogénicos fue similar a lo obtenido en órganos desprendidos y condiciones controladas en laboratorio, lo cual confirma el potencial infectivo de los aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* en órganos de mango cv. Azúcar.

Referente a la patogenicidad en hojas, los aislamientos mostraron un comportamiento similar con respecto al número y al diámetro de las lesiones inducidas. Sin embargo, se destacó el morfotipo UM 048 por presentar la mayor tasa de crecimiento de las lesiones en el tiempo. En las ramas, se observaron diferencias entre los morfotipos, y UM037 indujo los mayores

número, diámetro y tasa de crecimiento diaria de lesiones, lo que lleva a considerarlo el más virulento en ramas. Diversos autores han encontrado variabilidad en la virulencia de morfotipos del hongo, con base en el número y tamaño de lesiones en frutos inoculados (Páez *et al.*, 2020; Quintero *et al.*, 2019; Vieira *et al.*, 2014), lo cual concuerda con lo encontrado en la presente investigación.

Teniendo en cuenta que el aislado UM 037 fue el más virulento en ramas y UM 048 mostró mayor virulencia en hojas, se podría inferir una posible especificidad tisular morfotipo-órgano. Sin embargo, Vieira *et al.* (2014) encontraron, en su estudio sobre endófitos en mango, que no hubo un patrón de distribución de los aislamientos endofíticos en los órganos en que fueron aislados y, al contar con pocos aislamientos de otras especies de *Colletotrichum*, no se pudo inferir si hubo especificidad tisular.

Asimismo, se destaca el endofitismo como un medio del patógeno para permanecer no infectivo en órganos de mango sin expresar síntomas, solo hasta que se expresen condiciones cambiantes en el hospedante o el ambiente que permitan cambiar su estilo de vida y desarrollar su ciclo infectivo (Carroll, 1998; De Silva *et al.*, 2017; Hyde y Soyong, 2008; Stone *et al.*, 2000). La no inducción de síntomas en ramas por los morfotipos UM 038, UM 042, UM 044, UM 046 y UM 049 probablemente obedezca a que la cutícula y la epidermis de este órgano podrían ser mucho más gruesas que en hojas, constituyendo una barrera y limitante para el proceso de infección y colonización de los aislados en mención debido a estas estructuras preformadas (Auyong *et al.*, 2015; De Silva *et al.*, 2019). En efecto, varias investigaciones plantean el papel de estructuras en la superficie de órganos de la planta hospedante como barreras ante la infección del patógeno (Calo *et al.*, 2006; De Silva *et al.*, 2017; Serrano *et al.*, 2014).

Prihastuti *et al.* (2009) concluyeron que los aislamientos endófitos de *Colletotrichum* pueden ser patógenos oportunistas, por lo que se debe profundizar en la comprensión de las infecciones naturales. Además, la técnica de inoculación usada en el presente estudio (sin heridas) y las condiciones ambientales de trópico seco no son favorables para patógenos oportunistas, por lo cual los morfotipos que no indujeron lesiones en ramas pudieron haberse enmarcado en este estilo de vida, mientras que los patogénicos son hemibiotróficos o verdaderos necrotrofos.

Por otra parte, el PI para los morfotipos evaluados fue de ocho días en hojas y ramas no desprendidas. Los resultados coinciden

con lo observado por Vieira *et al.* (2014) para aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* inoculados sobre frutos de mango variedad Tommy Atkins, pero difieren con lo registrado por Quintero *et al.* (2019), quienes obtuvieron PI de dos días al inocular aislamientos endofíticos obtenidos de hojas y ramas en frutos de mango cv. Azúcar en condiciones controladas en laboratorio. Páez (2020), a su vez, reporta PI variable de acuerdo con el morfotipo endofítico-quiescente de *Colletotrichum* inoculado en frutos de mango cv. Azúcar en ambiente controlado en laboratorio. Estas diferencias con respecto a la variable PI dan pie a nuevas hipótesis sobre métodos de inoculación que reflejen de mejor manera el comportamiento real de aislamientos de *Colletotrichum* bajo las condiciones de campo o en el ambiente de la región.

Finalmente, la densidad de inóculo no se relacionó con la virulencia de los morfotipos inoculados en hojas y ramas, ya que los de mayor concentración de inóculo no fueron los más virulentos. Así pues, cabe suponer que una alta producción de inóculo corresponde más a una estrategia de supervivencia del patógeno o una estrategia para asegurar inóculo suficiente que le permita iniciar el proceso infectivo.

Conclusiones

Prevalcieron morfotipos con texturas algodonosas pero variables en coloración, con características biológicas variables entre ellos. Se confirmó el potencial infectivo de morfotipos endofíticos de *Colletotrichum* en hojas y ramas de mango cv. Azúcar, lo que permite constatar que este estilo de vida es una fuente de inóculo oculta en campo.

Estos resultados constituyen los primeros registros de patogenidad de endófitos de *Colletotrichum* sobre hojas y ramas de mango en el trópico seco, bajo condiciones de árboles activos.

Conflicto de intereses

Los autores declararon no tener ningún conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Álvaro José Mercado-Correa, Luz Edith Arrieta-Mesa, Andrés Felipe Quintero-Mercado y Alberto Rafael Páez-Redondo: conceptualización, escritura y edición, desarrollo del diseño metodológico, toma de datos y análisis de datos y adquisición de la financiación.

Agradecimientos

Al fondo de investigación Fonciencias de la Universidad del Magdalena por apoyar financieramente el desarrollo de la presente investigación. Al Programa de Ingeniería Agronómica de la Universidad del Magdalena por los recursos académicos y de laboratorio suministrados.

Referencias

Akem, C. (2006). Mango Anthracnose Disease: Present Status and Future Research Priorities. *Plant Pathology Journal*, 5(3), 266-273. <https://dx.doi.org/10.3923/ppj.2006.266.273>.

Auyong, A., Ford, R. y Taylor, P. (2015). The Role of Cutinase and its Impact on Pathogenicity of *Colletotrichum truncatum*. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 8(3), 1-11. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7471.1000259>.

Baquero, M., Peres, N. y Arauz, L. (2013). Presencia de *Colletotrichum acutatum* y *Colletotrichum gloeosporioides* en helecho hoja de cuero, limón criollo, papaya, carambola y mango en Costa Rica y Florida (Estados Unidos). *Agronomía Costarricense*, 37(1), 23-38. <https://doi.org/10.15517/rac.v37i1.10710>.

Barimani, M., Pethybridge, S., Vaghefi, N., Hay, F. y Taylor, P. (2013). A new anthracnose disease of pyrethrum caused by *Colletotrichum tanacetii* sp. nov. *Plant Pathology*, 62(6), 1248-1257. <https://doi.org/10.1111/ppa.12054>.

Bersisa, H., Dejene, M. y Derso, E. (2018). Isolation, Identification and Characterization of *Colletotrichum Kahawae* from Infected Green Coffee Berry in Arsi, Southeastern Etiopia. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 8(21), 41-49.

Calo, L., García, I., Gotor, C. y Romero, L. (2006). Leaf hairs influence phytopathogenic fungus infection and confer an increased resistance when expressing a *Trichoderma* α -1,3-glucanase. *Journal of Experimental Botany*, 57(14), 3911-3920. <https://doi.org/10.1093/jxb/er155>.

Carroll, G. (1998). Fungal Endophytes in Stems and Leaves: From Latent Pathogen to Mutualistic Symbiont. *Ecology*, 69(1), 2-9. <https://doi.org/10.2307/1943154>.

Damm, U., Cannon, P., Woudenberg, J. y Crous, P. (2012). The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*, 73(1), 37-113. <https://doi.org/10.3114/sim0010>.

Dangond, F. (2018). Aislamientos endofíticos de *Colletotrichum*

spp. en hojas de mango (*Mangifera indica* L.) cultivar Azúcar, en el municipio de Ciénaga (Magdalena, Colombia) [Tesis de pregrado, Universidad del Magdalena]. Repositorio de la Universidad del Magdalena. <http://repositorio.unimagdalena.edu.co/handle/123456789/3795>.

De Silva, D., Crous, P., Ades, P., Hyde, K. y Tylor, P. (2017). Life styles of *Colletotrichum* species and implications for plant biosecurity. *Fungal Biology Reviews*, 31(3), 155-168. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2017.05.00>.

De Silva, D., Groenewald, J., Crous, P., Ades, P., Nasruddin, A., Mongkolporn, O. y Taylor, P. (2019). Identification, prevalence and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing anthracnose of *Capsicum annum* in Asia. *IMA Fungus*, 10(8), 1-32. <https://doi.org/10.1186/s43008-019-0001-y>.

Domínguez, I., Mohail, S. y Pino, H. (2014). Análisis morfométrico del género *Colletotrichum* en palma aceitera. *Agricultura Andina*, 20, 80-96.

Gañán, L., Álvarez, E. y Castaño, J. (2015). Identificación genética de aislamientos de *Colletotrichum* spp. causantes de antracnosis en frutos de aguacate, banano, mango y tomate de árbol. *Revista de la Académica Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 39(152), 339-347. <https://doi.org/10.18257/raccefy.192>.

Granados, G. y Guevara, Y. (2010). Caracterización biológica y molecular de aislamientos de *Colletotrichum* spp., obtenidos de frutales de clima frío moderado con síntomas de antracnosis [Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Javeriana de Colombia]. Repositorio de la Universidad Javeriana. <https://repositorio.javeriana.edu.co/handle/10554/8474>.

Hardoim, P., Van Overbeek, L., Berg, G., Pirttilä, A., Compant, S., Campisano, A., Döring, M. y Sessitsch, A. (2015). The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293-320. <https://doi.org/10.1128/mmb.00050-14>.

Harp, T., Pernezny, K., Ivey, M., Miller, S., Kuhn, P. y Datnoff, L. (2008). The etiology of recent pepper anthracnose outbreaks in Florida. *Crop Protection*, 27(10), 1380-1384. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.05.006>.

Hernández, P., Aranguren, M., Reig, C., Fernández, D., Mesejo, C., Martínez, A., Galán, V. y Agustí, M. (2011). Phenological growth stages of mango (*Mangifera indica* L.) according to the BBCH

- scale. *Scientia Horticulturae*, 13(3), 536-540. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.07.027>.
- Hyde, K. y Soyong, K. (2008). The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity*, 33, 163-173.
- Kamle, M. y Kumar, P. (2016). *Colletotrichum gloeosporioides*. Pathogen of Anthracnose Disease in Mango (*Mangifera indica* L.). En P. Kumar, V. Gupta, A. Tiwari y M. Kamle (Eds.), *Current Trends in Plant Disease Diagnostics and Management Practices* (pp. 1-440). Springer.
- Kamle, M., Kumar, P., Gupta, V., Tiwari, A., Misra, A. y Pandey, B. (2013). Identification and phylogenetic correlation among *Colletotrichum gloeosporioides* pathogen of anthracnose for mango. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2(3), 285-287. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.04.001>.
- Majumdar, N. y Mandal, N. (2018). Effect of pH on Mycelial Growth and Sporulation of Postharvest Pathogen *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc. and *Pestalotiopsis mangiferae* (Henn.) Steyaert. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 9(1), 416-420. <https://doi.org/10.23910/ijbsm/2018.9.3.1874>
- Oliveira, R., Moral, J., Bouhmidi, K. y Trapero, A. (2005). Caracterización morfológica y cultural de aislados de *Colletotrichum* spp. causantes de la antracnosis del olivo. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 31, 531-548.
- Páez, A. (2003). Tecnologías sostenibles para el manejo de la antracnosis en papaya y mango (Boletín Técnico N.º 8). Corpoica.
- Páez, A. (2020). Biología y manejo de estados quiescentes de *Colletotrichum* spp. en mango cultivar Azúcar, en el departamento del Magdalena, Colombia [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio de la Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/82503/5056184.2020.pdf?sequence=2&isAllowed=y>.
- Pavitra, R. y Singh, R. (2017). Anthracnose of mango incited by *Colletotrichum gloeosporioides*: A Comprehensive Review. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 5(1), 48-56. <http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.2478>.
- Perfect, S., Hughes, H., O'Connell, R. y Green, J. (1999). *Colletotrichum*. A Model Genus for Studies on Pathology and Fungal-Plant Interactions. *Fungal Genetics and Biology*, 27(2-3), 186-198. <https://doi.org/10.1006/fgbi.1999.1143>.
- Photita, W., Lumyong, S., Lumyong, P., McKenzie, E. y Hyde, K. (2004). Are some endophytes of *Musa acuminata* latent pathogens? *Fungal Diversity*, 16, 131-140.
- Prihastuti, H., Cai, L., Chen, H., McKenzie, E. y Hyde, K. (2009). Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in northern Thailand. *Fungal Diversity*, 39, 89-109.
- Prusky, D. y Lichter, A. (2007). Activation of quiescent infections by postharvest pathogens during transition from the biotrophic to the necrotrophic stage. *Microbiology Letters*, 268(1), 1-8. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00603.x>.
- Prusky, D., Alkan, N., Mengiste, T. y Fluhr, R. (2013). Quiescent and Necrotrophic Lifestyle Choice During Postharvest Disease Development. *Annual Review of Phytopathology*, 51, 155-176. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102349>.
- Quintero, A., Dangond, F. y Páez, A. (2019). Aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* spp. a partir de hojas y ramas de mango (*Mangifera indica* L.) cultivar Azúcar en el municipio de Ciénaga, Magdalena, Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43(166), 65-77. <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.788>.
- Rodríguez, R., White, J., Arnold, A. y Redman, R. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2), 314-330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>.
- Rojo, I., Álvarez, B., García, R., León, J., Sañudo, A. y Allende, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichum* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3), 549-570. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1703-9>.
- Sánchez, R., Sánchez, B., Monserrat, Y., Ulloa, A., Armendáriz, B., García, M. y Macías, M. (2013). Hongos endofíticos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2), 132-146. [https://doi.org/10.1016/S1405-888X\(13\)72084-9](https://doi.org/10.1016/S1405-888X(13)72084-9).
- Sangeetha, C. y Rawal, R. (2008). Nutritional Studies of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. The Incitant of Mango Anthracnose. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(6), 717-720.
- Scot, N. (2008). *Mango anthracnose* (*Colletotrichum gloeosporioides*). *Plant Disease*, 1-7.
- Serrano, M., Coluccia, F., Torres, M., L'Haridon, F. y Métraux, J. (2014). The cuticle and plant defense to pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 5, 1-8.

<https://dx.doi.org/10.3389%2Ffpls.2014.00274>.

Sharma, G., Maymon, M. y Freeman, S. (2017). Epidemiology, pathology and identification of *Colletotrichum* including a novel species associated with avocado (*Persea americana*) Anthracnose in Israel. *Scientific Reports*, 7, 1-16. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15946-w>.

Stone, J., Bacon, C. y White, J. (2000). An overview of endophytic microbes: Endophytism defined. En C. Bacon y J. White (Eds.), *Microbial endophytes* (pp. 1-391). Elsevier.

Valdés, L., Calero, D., Carballo, M., Capote, M., González, I., Álvarez, J. y Rohde, W. (2017). Caracterización morfológica, cultural y patogénica de aislados de *Colletotrichum* sp. produciendo antracnosis en mango (*Mangifera indica* L.). *La Granja: Revista de Ciencias Naturales*, 26(2), 38-51.

Vieira, W., Michereff, S., de Morais, M., Hyde, K. y Câmara, M. (2014). Endophytic species of *Colletotrichum* associated with

mango in northeastern Brazil. *Fungal Diversity*, 67, 181-202. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0293-6>.

Whitelaw, W., Curtin, S., Huang, R., Steel, C., Blanchard, C. y Roffey, P. (2007). Phylogenetic relationships and pathogenicity of *Colletotrichum acutatum* isolates from grape in subtropical Australia. *Plant Pathology*, 56(3), 448-463. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01569.x>.

Wilson, D. (1995). Endophyte: The Evolution of a Term, and Classification of Its Use and Definition. *Oikos*, 73(2), 274-276. <https://doi.org/10.2307/3545919>.

Abdo, M.S.A. and Da Silva, C.J. (2000). Nutrient Stock in the Aquatic Macrophytes *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* in the Pantanal-Brazil. *In of the German-Brazilian Workshop on Neotropical Ecosystems. Hamburg*, 3, 8, 875-880.