



**Patogenicidad de aislamientos endofíticos e
inducidos de estados quiescentes de
Colletotrichum spp., sobre órganos de
mango cv. Azúcar**

**Álvaro José Mercado Correa
Luz Edith Arrieta Mesa**

Universidad Magdalena

Facultad de Ingeniería
Programa de Ingeniería Agronómica
Santa Marta, Colombia

2021



Patogenicidad de aislamientos endofíticos e inducidos de estados quiescentes de *Colletotrichum* spp., sobre órganos de mango c Azúcar

Álvaro José Mercado Correa
Luz Edith Arrieta Mesa

Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de:
Ingeniero Agrónomo

Director (a):

I.A., M.Sc, PhD (c). Alberto Rafael Páez Redondo

Codirector (a):

I.A., M.Sc. Andrés Felipe Quintero Mercado

Línea de Investigación:

Ambiente y Sostenibilidad

Grupo de Investigación:

Fitotecnia del Trópico

Universidad del Magdalena

Facultad de Ingeniería

Programa de Ingeniería Agronómica

Santa Marta, Colombia

2021

Nota de aceptación:

Aprobado por el Consejo de Programa en cumplimiento de los requisitos exigidos por la Universidad del Magdalena para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

Jurado

Jurado

Santa Marta, ____ de ____ del _____

Nada tiene tanto poder para ampliar la mente como la capacidad de investigar de forma sistemática y real todo lo que es susceptible de observación en la vida. Dedicado a todos aquellos que dan parte de sus vidas a la investigación y la ciencia y encontrando en ellas un mundo de infinitas posibilidades.

Contenido

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, le doy Gracias a Dios por haberme permitido culminar este proyecto de investigación y por darme la oportunidad de vivir esta experiencia, también le agradezco mucho por brindarme toda la sabiduría, paciencia y fuerzas necesarias para afrontar los retos presentados durante el desarrollo del presente trabajo y poder culminar esta meta. A la Universidad del Magdalena y el Programa de Ingeniería Agronómica agradezco el haberme brindado toda la formación académica a través de sus excelentes docentes, también por facilitar la infraestructura y equipos usados para la ejecución del proyecto. A Fonciencias por su apoyo financiero a través la convocatoria para apoyar el desarrollo de trabajos de grado en programas de pregrado 2019-I mediante Vicerrectoría de Investigación.

Gracias al director de tesis el ingeniero Alberto Rafael Páez Redondo por aportar toda su experiencia, su sabiduría y acompañamiento permanente en cada etapa de este proyecto para su perfeccionamiento y estar siempre para resolver mis inquietudes. Al codirector el ingeniero Andrés Felipe Quintero Mercado por su apoyo constante en el laboratorio.

A mis padres Álvaro Mercado y Emiladis Correa agradezco el brindarme su apoyo durante toda mi formación académica y siempre motivarme a lograr mis objetivos, así como a mi hermana y amigos cercanos por apoyarme. Agradecimientos a Marcela Ortiz Pertuz, quien desde los inicios de este proyecto me brindó su total apoyo, supo escuchar siempre mis quejas, decisiones y momentos de alegría durante el desarrollo del proyecto y estuvo disponible para discutir mis dudas.

Álvaro José Mercado Correa

La vida es hermosa, y una de las principales características de esta hermosura es que la podemos compartir y disfrutar con quienes amamos, podemos ayudar y guiar a muchas personas si ellas lo permiten, pero también podemos ser ayudados y guiados durante cada procesos que afrontamos; por esto, mediante este agradecimiento de tesis, quiero exaltar la labor de todos, aquellos que estuvieron presentes durante toda o la mayor parte de la realización y desarrollo de esta investigación gracias a aquellos que con respeto y decencia realizaron aportes a esta.

El desarrollo de esta no lo puedo catalogar como algo fácil, pero lo que sí puedo hacer, es afirmar que durante todo este tiempo pude disfrutar de cada momento y proceso.

Quiero agradecer en primer lugar a Dios por permitirme vivir esta experiencia, a las instituciones que han hecho posible la realización del trabajo presentado y por la ayuda económica brindada por la convocatoria Fonciencias, a la Vicerrectoría de Investigación. Agradezco la Universidad Del Magdalena, al programa que pertenezco y a su director María Emma Morales.

Muy especial mente a mis tutores de tesis, el ingeniero Alberto Páez Redondo y Andrés Felipe Quintero, por la acertada orientación, el soporte y discusión critica que me permitió un buen aprovechamiento en el trabajo realizado, por su estable ayuda y paciencia desde mis primeros pasos por el laboratorio y sus aportes. He podido contar con ellos que han sabido transmitirme su conocimiento y su experiencia en este estudio de investigación.

Especial mención merecen las personas cuya colaboración ha sido importante en el desarrollo de este trabajo, Edwin Ordoñez por su experiencia y ayuda en diferentes ensayos, a mi familia por su apoyo emocional durante este proceso.

Y mi más sincero agradecimiento a José Flórez quien tuve el privilegio de conocer en esta última instancia y a quien considero una persona sensible, pendiente de los aspectos más humanos, entusiasta y optimista y quien me brindó su invaluable apoyo y confianza durante una etapa importante en mi vida y desarrollo profesional.

Luz Edith Arrieta Mesa

Resumen

La Antracnosis, asociada a especies de *Colletotrichum*, es una de las enfermedades más limitantes en cultivos de mango (*Mangifera indica* L.) en el departamento del Magdalena, Colombia, generando pérdidas en campo entre 25 y 50% y aún en postcosecha. El patógeno presenta un estilo de vida hemibiotrófico y se caracteriza por presentar dos estados biológicos (endófito – quiescente); sin embargo, aún hay incertidumbres acerca de la diversidad y rol patogénico de aislamientos endófitos o en estados quiescentes del mismo, como fuente de inóculo oculto, especialmente en el trópico seco. El presente estudio tuvo como propósito caracterizar morfométricamente y evaluar la capacidad patogénica de 15 aislamientos de *Colletotrichum*, 14 endófitos/quiescentes obtenidos de estudios previos y uno más proveniente de frutos sintomáticos de mango cv. Azúcar. A partir de los diferentes protocolos de obtención y purificación de los aislamientos, se obtuvieron cultivos monospóricos, y se realizó descripción morfométrica de los aislamientos. Para la evaluación patogénica se prepararon soluciones madres a partir de los cultivos monospóricos obtenidos y se realizaron inoculaciones mediante suspensiones conidiales con la ayuda de un atomizador en hojas y ramas de árboles de mango cv. Azúcar, en condiciones de árboles activos; se hizo descripción de síntomas en hojas y ramas, y se evaluaron variables biológicas en ambos objetivos de estudio. Los resultados mostraron diferencias en la tasa de crecimiento, concentración de inóculo y tamaño de las conidias de los morfotipos caracterizados; en la evaluación patogénica se encontró que en hojas todos los morfotipos indujeron síntomas; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas. En ramas se encontraron diferencias altamente significativas en cuanto al número y tamaño de lesiones, y diferencias significativas en la tasa crecimiento diaria de lesiones inducidas; no obstante, hubo morfotipos que no indujeron síntomas. Se concluye que en mango cv. Azúcar hay alta variabilidad morfológica y biológica entre morfotipos de *Colletotrichum* y los aislamientos endofíticos son potencialmente infectivos sobre hojas y ramas, en hojas todos los morfotipos tuvieron un comportamiento similar, mientras que el

morfotipo UM 037 fue el más virulento en ramas. Estos resultados constituyen los primeros estudios de patogenicidad de endófitos de *Colletotrichum* spp. sobre hojas y ramas de mango cv. Azúcar en el trópico seco.

Palabras clave: *Colletotrichum* spp., endófito, quiescente, patogenicidad. mango cv. Azúcar.

ABSTRACT

Anthraxnose, associated with *Colletotrichum* species, is one of the most limiting diseases in mango crops (*Mangifera indica* L.) in Magdalena, Colombia, generating losses in the field between 25 and 50% and even in postharvest. The pathogen has a hemibiotrophic lifestyle and is characterized by presenting two biological states (endophyte - quiescent); however, there are still uncertainties about the diversity and pathogenic role of endophytic isolates or in quiescent states of the same, as a source of hidden inoculum, especially in the dry tropics. The present study aimed to characterize morphometrically and evaluate the pathogenic capacity of 15 isolates of *Colletotrichum*, 14 endophytes / quiescent obtained from previous studies and one more from symptomatic fruits of mango cv. Azúcar. From the different protocols for obtaining and purifying the isolates, monosporic cultures were obtained, and morphometric description of the isolates was made. For the pathogenic evaluation, stock solutions were prepared from the monosporic cultures obtained and inoculations were carried out by means of conidial suspensions with the help of an atomizer in leaves and branches of mango trees, cv. Azúcar, under active tree conditions; Symptoms were described in leaves and branches, and biological variables were evaluated in both study objectives. The results showed differences in the growth rate, inoculum concentration and size of the conidia of the characterized morphotypes; in the pathogenic evaluation it was found that in leaves all the morphotypes induced symptoms; however, no significant differences were found. In branches, highly significant differences were found in terms of the number and size of lesions, and significant differences in the daily growth rate of induced lesions; however, there were morphotypes that did not induce symptoms. It is concluded that in mango cv. Azúcar there is high morphological and biological variability between *Colletotrichum* morphotypes and endophytic isolates are potentially infective on leaves and branches, in leaves all morphotypes had a similar behavior, while the UM 037 morphotype was the most virulent in branches. These results constitute the first endophytes

pathogenicity studies of *Colletotrichum* spp. on mango leaves and branches grow Azúcar in the dry tropics.

Keywords: *Colletotrichum* spp., Endophyte, quiescent, pathogenicity, mango cv. Azucar.

Contenido

	Pág.
Capítulo 1. Caracterización biológica y morfométrica de aislamientos endofíticos y quiescentes de <i>Colletotrichum</i> spp., obtenidos a partir hojas, ramas, inflorescencias y frutos de mango cv. Azúcar	4
1.1 Resumen	4
1.2 Introducción	5
1.3 Materiales y métodos	7
1.4 Resultados.....	10
1.4.1 Descripción de cepas o morfotipos endofíticos-quiescentes de <i>Colletotrichum</i> spp.	10
1.4.2 Descripción de características morfométrica y aspectos biológicos de cada cepa o morfotipo de <i>Colletotrichum</i> spp.....	11
1.4.3 Comparación entre morfotipos o cepas de <i>Colletotrichum</i> spp.....	27
1.5 Discusión	40
1.6 Conclusiones	42
1.7 Recomendaciones.....	42
 Capítulo 2. Evaluación de la capacidad patogénica de aislamientos endofíticos y quiescentes de <i>Colletotrichum</i> spp., sobre diferentes órganos de mango cv. Azúcar.	 44
2.1 Resumen	44
2.2 Introducción	45
2.3 Materiales y métodos	48
2.3.1 Preparación del inóculo	48
2.3.2 Inoculaciones de <i>Colletotrichum</i> spp., en hojas y ramas de mango cv. Azúcar.....	49
2.3.3 Variables evaluadas y seguimiento.....	51
2.3.4 Análisis estadístico	52
2.4 Resultados.....	53
2.4.1 Descripción de síntomas de <i>Colletotrichum</i> spp., en hojas inoculadas	53
2.4.2 Descripción de síntomas de <i>Colletotrichum</i> spp., en ramas inoculadas.....	60
2.4.3 Registro de las mediciones de variables evaluadas.....	63
2.4.4 Patogenicidad de morfotipos de <i>Colletotrichum</i> spp., en hojas de mango cv. Azúcar.....	67
2.4.5 Patogenicidad de morfotipos de <i>Colletotrichum</i> spp., en ramas de mango cv. Azúcar	70
2.4 Discusión	73
2.5 Conclusiones	77
2.6 Recomendaciones.....	78

3. Conclusiones generales	79
3.1 Conclusiones	79
4. Bibliografía	81
A. Anexo: Variabilidad de Tasa de Crecimiento Micelial	88
B. Anexo: Variabilidad de Conidias/ml.	90
C. Anexo: Variabilidad de Ancho de Conidias (μm)	92
D. Anexo : Variabilidad de Largo de Conidias (μm)	94
E. Anexo: Variabilidad de Porcentaje de Conidias sin Germinar	97
F. Anexo: Variabilidad de Porcentaje de Conidias Germinadas	99
G. Anexo: Variabilidad de Porcentaje de Apresorios Formados	101
H. Anexo: Variabilidad de Porcentaje de Apresorios Germinados	104
I. Anexo: Análisis estadístico no paramétrico en hojas	106
J. Anexo: Análisis paramétrico en ramas	108

Lista de figuras

Figura 1-1. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 035 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	12
Figura 1-2. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 036 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	13
Figura 1-3. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 037 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	14
Figura 1-4. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 038 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	15
Figura 1-5. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 039 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	16
Figura 1-6. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 040 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	17
Figura 1-7. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 041 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	18
Figura 1-8. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 042 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	19
Figura 1-9. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 043 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	20
Figura 1-10. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 044 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	21
Figura 1-11. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 045 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	22
Figura 1-12. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 046 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	23
Figura 1-13. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 047 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	24
Figura 1-14. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 048 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	25
Figura 1-15. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 049 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	26
Figura 1-16. Conidias y apresorios de <i>Colletotrichum</i> spp. Objetivo 40X. A. Conidias. B. Conidia germinada. C. Apresorio formado. D. Tamaño de conidias. Imagen: Mercado, 2019.	30
Figura 1-17. Tasa de crecimiento micelial por morfotipo de <i>Colletotrichum</i> spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según la tasa de crecimiento, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.....	31
Figura 1-18. Densidad del inóculo por morfotipo de <i>Colletotrichum</i> spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según la densidad del inóculo (conidias/mL), mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad	

de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal- Wallis a un nivel de 95% de confianza.....	32
Figura 1-19. Ancho de conidias por morfotipo (μm) de <i>Colletotrichum</i> spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el ancho de las conidias (μm), mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.....	33
Figura 1-20. Largo de las conidias (μm) de <i>Colletotrichum</i> spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el largo de las conidias (μm), mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.....	34
Figura 1-21. Porcentaje de conidias sin germinar de <i>Colletotrichum</i> spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el porcentaje (%) de conidias sin germinar, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.....	35
Figura 1-22. Porcentaje de conidias germinadas de <i>Colletotrichum</i> spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el porcentaje (%) de conidias germinadas, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.....	37
Figura 1-23. Porcentaje de apresorios formados de <i>Colletotrichum</i> spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el porcentaje (%) de apresorios formados, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.....	38
Figura 1-24. Porcentaje de apresorios germinados de <i>Colletotrichum</i> spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el porcentaje (%) de apresorios germinados, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal -Wallis a un nivel de 95% de confianza.....	39
Figura 2-1. Inoculaciones sobre hojas y ramas de aislamientos de <i>Colletotrichum</i> spp., con atomizador. Imagen: Mercado, 2019.....	50
Figura 2-2. Hojas y ramas cubiertas con bolsas plásticas y selladas con cuerdas, después de ser inoculadas con aislamientos de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	51
Figura 2-3. Lesiones en hojas maduras inducidas por el morfotipo UM 035 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	55
Figura 2-4. Síntomas iniciales en forma de puntos circulares oscuros, ocasionados por el morfotipo UM 041 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.	56
Figura 2-5. Lesiones con forma ovoide y halo clorótico, inducidas por el morfotipo UM 036 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.	56
Figura 2-6. Lesiones alargadas o elípticas inducidas por el morfotipo UM 048.....	57

Figura 2-7. Lesiones alargadas tipo Antracnosis foliar, en ocasiones afectando las nervaduras, inducidas por el morfotipo UM 039 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.	57
Figura 2-8. Lesiones con centro cenizo y bordes oscuros, inducidas por el morfotipo UM 040 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	58
Figura 2-9. Lesiones con centro cenizo, bordes oscuros y halo, inducidas por el morfotipo UM 047 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.	58
Figura 2-10. Lesiones coalescentes formando área irregular similar a un añublo, inducido por el morfotipo UM 042 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.	59
Figura 2-11. Deformaciones y necrosis en hojas jóvenes, inducidas por el morfotipo UM 049 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	59
Figura 2-12. Planta control, inoculada con agua destilada estéril, sin síntomas de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	60
Figura 2-13. Roñas o costras en ramas, inducidas por el morfotipo UM 037 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	62
Figura 2-14. Chancro inducido por el morfotipo UM 045 de <i>Colletotrichum</i> spp. Imagen: Mercado, 2019.....	62
Figura 2-15. Número de lesiones inducidas por morfotipo de <i>Colletotrichum</i> spp., en hojas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación. Las columnas indican las comparaciones de las medianas de los morfotipos de acuerdo al número de lesiones, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medianas de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis, a un nivel del 95% de confianza.	68
Figura 2-16. Tamaño de lesiones inducidas por morfotipo de <i>Colletotrichum</i> spp., en hojas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación. Las columnas indican las comparaciones de las medianas de los morfotipos de acuerdo al tamaño de lesiones mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medianas de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis, a un nivel del 95% de confianza.	69
Figura 2-17. Tasa de crecimiento diaria de lesiones inducidas por morfotipo de <i>Colletotrichum</i> spp., en hojas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación. Las columnas indican las comparaciones de las medianas de los morfotipos de acuerdo al la tasa de crecimiento diaria de las lesiones, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medianas de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis, a un nivel del 95% de confianza.	70
Figura 2-18. Número de lesiones inducidas por morfotipo de <i>Colletotrichum</i> spp., en ramas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos de acuerdo al número 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 ($p < 0,05$).	71
Figura 2-19. Tamaño de lesiones inducidas por morfotipo de <i>Colletotrichum</i> spp., en ramas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación Las columnas indican	

las comparaciones de las medias de los morfotipos de acuerdo al 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 ($p < 0,05$).72

Figura 2-20. Tasa de crecimiento diaria de lesiones inducidas por morfotipo de *Colletotrichum* spp., en ramas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos de acuerdo a la tasa de crecimiento diaria de las 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 ($p < 0,05$).73

Lista de tablas

Tabla 1-1. Descripción de estrato, crecimiento y tipo de aislamiento de <i>Colletotrichum</i> spp.....	10
Tabla 1-2. Características biológicas y morfométricas de 15 morfotipos de <i>Colletotrichum</i> aislados de diferentes órganos de mango cv. Azúcar.....	27
Tabla 1-3. Eficiencia biológica de morfotipos de <i>Colletotrichum</i> aislados de diferentes órganos de mango cv. Azúcar.....	29
Tabla 2-1. Descripción de síntomas inducidos por morfotipos de <i>Colletotrichum</i> spp., en hojas de mango cv. Azúcar.....	54
Tabla 2-2. Descripción de síntomas inducidos por morfotipos de <i>Colletotrichum</i> spp., en ramas de mango cv. Azúcar.....	61
Tabla 2-3. Promedios de número de lesiones inducidas por morfotipo de <i>Colletotrichum</i> spp. en hojas y ramas de mango cv. Azúcar.....	63
Tabla 2-4. Promedios de tamaño de lesiones inducidas por morfotipo de <i>Colletotrichum</i> spp., en hojas y ramas de mango cv. Azúcar.....	65
Tabla 2-5. Promedios de tasa de crecimiento diaria de lesiones inducidas por morfotipo de <i>Colletotrichum</i> spp., en hojas y ramas de mango cv. Azúcar.....	66

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
ADE	Agua destilada estéril
ANAVA	Análisis de varianza
Cv	Cultivar
<i>et al</i>	Y otros (citas bibliográficas)
°C	Grados Celsius
GI	Grados de libertad (estadística)
HSD	Honestly Significant Difference
mL	Mililitro
mm	milímetro
PDA	Potato Dextrose Agar
PI	Periodo de incubación
PL	Periodo de latencia
Ppm	Partes por millón
Rpm	Revoluciones por minuto
Spp	Especies
µL	Microlitro
µm	Micrómetro
±	Intervalo de valores

Introducción

En Colombia, el departamento del Magdalena, junto con el departamento del Tolima, son las regiones de mayor producción de mango con un total aproximado de 100.000 toneladas anuales en cada departamento (DANE, 2015). Los principales destinos hacia donde se exporta este fruto desde el país son Canadá (39%), las Antillas Holand (24%) y algunos otros países europeos como Francia, Países Bajos y Rusia (Romero *et al.*, 2015).

La producción y comercialización de mango es afectada por el hongo *Colletotrichum* spp., causando la enfermedad conocida como Antracnosis; algunos estudios citados por Quintero *et al.*, (2019) indican que las pérdidas en campo y en postcosecha son del 20% y 46% (Kamle y Kumar, 2016; Pavitra y Singh, 2017). Se han reportado pérdidas cercanas al 40% en frutos de la variedad Azúcar (Páez, 2003), atribuido principalmente a la presencia de fuentes conidiales que se encuentran inactivas en hojas, ramas y frutas (Sharma *et al.*, 2017).

El género *Colletotrichum* es un patógeno Ascomycete causante de Antracnosis, enfermedad que se presenta particularmente en las frutas de árboles en regiones agrícolas tropicales, subtropicales y templadas en todo el mundo (Whitelaw *et al.*, 2007). Es un género confuso en términos taxonómicos, esto se debe a la forma en que su estado sexual determina justamente la variabilidad de su género. Al respecto, investigaciones como las de Rojo *et al.*, (2017) mencionan cómo en 2012 la Subcomisión Internacional de Taxonomía de *Colletotrichum* (ISTC, por sus siglas en inglés) definieron que, por su estado asexual, debía prevalecer este término privilegiándolo por encima del de *Glomerella*. Esta es la forma como ha sido aplicado más ampliamente en la ciencia. Pero, más allá de eso, los análisis filogenéticos han identificado una variedad de especies dentro de este género, incluyendo nueve clados principales según identifican Rojo *et al.*, (2017) sobre el trabajo de otros autores: *acuatum* (Damm *et al.*, 2012), *boninense* (Damm *et al.*, 2012),

destructivum (Damm *et al.*, 2014), *gloeosporioides* (Weir *et al.*, 2012), *orbiculare* (Damm *et al.*, 2013), *graminicola*, *dematium*, *spaethianum* y *truncatum* (Cannon *et al.*, 2012).

Colletotrichum es un género que incluye una gran cantidad de especies, más de 100 (Landeró *et al.*, 2016), caracterizadas por presentar un tipo de vida hemibiótrofo, es decir, que en su ciclo de vida exhibe, inicialmente, una etapa biotrófica temprana en la que el hongo se hospeda de forma asintomática y el patógeno empieza a desarrollarse dentro del tejido vegetal. El hongo absorbe nutrientes y compuestos celulares del hospedante para lograr su crecimiento y desarrollo a partir de la formación de vesículas de infección primarias durante el proceso de infección de las células epidérmicas; sin embargo, no causa la muerte celular debido a que las reacciones enzimáticas para la degradación de los componentes de la pared celular se presentan muy restringidas durante esta etapa (De Silva *et al.*, 2017).

En la etapa posterior a la fase biotrófica se presenta el periodo necrotrófico en el cual el patógeno logra adaptarse al entorno fisiológico y bioquímico del hospedante; es ahí cuando se presenta el desarrollo de las hifas de infección secundaria, que invaden y generan la muerte de las células contiguas (Perfect *et al.*, 1999; Barimani *et al.*, 2013; De Silva *et al.*, 2017). Este patógeno ha desarrollado estrategias de evolución que le han permitido sobrevivir y diseminarse con total éxito; lo anterior le ha permitido constituirse como limitante de cultivos de importancia socioeconómica en el mundo, de tal manera que se encuentra entre los diez principales patógenos fúngicos que afectan las plantas y ocasionan grandes pérdidas en los cultivos a nivel mundial (Sharma *et al.*, 2017).

De acuerdo con estudios realizados, el patógeno requiere de condiciones climáticas que sean cálidas y húmedas para infectar al huésped. Sin embargo, se ha evidenciado que la expresión de la enfermedad puede ocurrir en momentos que no necesariamente coinciden con la madurez fisiológica del fruto y con tiempos climáticos favorables debido a la patogenicidad que ésta pueda presentar (Kumar, 2014).

En cuanto a la quiescencia del *Colletotrichum* spp., que es el momento preinfectivo de las células vegetales, algunos estudios indican que los factores nutricionales adecuados y otras condiciones que resulten favorables pueden beneficiar los estados quiescentes del

hongo particularmente en las etapas de floración o de fructificación del cultivo de mango (Akem, 2006; Páez, 2003; Prusky & Lichter, 2007; Sangeetha & Rawal, 2008). Por su parte, la etapa endofítica del *Colletotrichum* spp., cuyo rol ecológico aún es incierto (Dangon, 2018), particularmente en condiciones tropicales como en aquellas donde el cultivo de mango tiene lugar (Sánchez *et al.*, 2013), puede desarrollarse en etapas previas a la infección pasando desapercibido cuando no ha logrado alcanzar un estado patogénico en su hospedante (Dangon, 2018).

En este estudio se presenta una caracterización morfométrica de 15 aislamientos endófitos-quiescentes de *Colletotrichum* spp. y su patogenicidad en hojas y ramas de árboles de mango cultivar Azúcar. Los morfotipos fueron aislados de diferentes órganos y estratos de árboles de este tipo de mango en el municipio de Ciénaga, y depositados en el cepario del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad del Magdalena.

Capítulo 1. Caracterización biológica y morfométrica de aislamientos endofíticos y quiescentes de *Colletotrichum* spp., obtenidos a partir hojas, ramas, inflorescencias y frutos de mango cv. Azúcar

1.1 Resumen

La Antracnosis es una de las enfermedades más limitantes de los cultivos de mango (*Mangifera indica* L.) en el departamento del Magdalena, Colombia, generando pérdidas en campo y postcosecha. El agente causal corresponde a especies de *Colletotrichum* spp., patógeno hemibiótrofo; sin embargo, aún hay incertidumbre acerca de la diversidad y rol patogénico de aislamientos endófitos o en estados quiescentes del mismo. El presente estudio tuvo como propósito realizar una descripción morfométrica de 15 cepas de *Colletotrichum*, 14 endófitas obtenidas de estudios previos y una más aislada de frutos sintomáticos de mango cv. Azúcar de la finca Las Margaritas, en el municipio de Ciénaga del departamento del Magdalena. A partir de diferentes protocolos de obtención y purificación de los aislamientos así como siembra de cultivos monospóricos, se realizó descripción morfométrica y evaluación de variables biológicas, encontrando diferencias en la tasa de crecimiento, concentración de inóculo y tamaño de las conidias entre las cepas evaluadas. Se concluye que en mango cv. Azúcar hay alta variabilidad morfológica y biológica entre aislamientos de *Colletotrichum*.

Palabras clave: Morfotipo, *Colletotrichum* spp., Mango cv. Azúcar, endófito, quiescencia.

1.2 Introducción

Colletotrichum spp. incluye más de 100 especies, y se asocia a la enfermedad conocida como “Antracnosis”. Investigaciones como las de Damm *et al.*, (2012) y Zakaria (2020) han logrado establecer que *Colletotrichum* spp. se ha identificado con frecuencia como un agente patógeno que afecta los frutos, las hojas y los tallos, comprendiendo cultivos en diferentes tipos, tanto frutales como vegetales e industriales. Otras investigaciones indican que entre los hospedantes principales se destacan mango, maracuyá, melocotón, aguacate, tomate de árbol, palma de aceite (Domínguez *et al.*, 2014; Gañán *et al.*, 2015; Guamán, 2018; Quintero *et al.*, 2019; Trinidad *et al.*, 2017).

Colletotrichum spp., es considerado el octavo fitopatógeno más importante por su impacto en los cultivos, causando daños en diversos órganos de plantas y pudriciones en postcosecha (Kamle & Kumar, 2016; Pavitra & Singh, 2017). Damm *et al.*, (2012) identifican que este fitopatógeno ha podido detectarse en diferentes latitudes a lo largo del mundo, principalmente distribuida en las regiones tropicales y subtropicales; desde Australia y Zimbawe hasta Países Bajos y Brasil. En el caso colombiano, particularmente en el departamento del Magdalena, las pérdidas en cosecha causadas por el *Colletotrichum* spp. oscilan entre el 40% y el 50%, sin contar las afectaciones en la postcosecha (Páez *et al.*, 2003); estos datos son comparables a los registrados para mango en otras latitudes del mundo, donde se registran pérdidas en campo y postcosecha de 20% y 46%, respectivamente (Dinh *et al.*, 2003; Kamle & Kumar, 2016; Pavitra & Singh, 2017).

Colletotrichum spp., puede mantenerse como endófito, que se define como el microorganismo que habita en el interior de las células de una planta hospedante estableciendo una relación simbiótica sin causar ningún tipo de daño aparente (Hyde & Soyong, 2008; Silva *et al.*, 2020). Algunos estudios han identificado aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* spp. en cultivos como el mango, dejando en evidencia su capacidad para producir infecciones o daños (Quintero *et al.*, 2019; Vieira *et al.*, 2014).

El proceso infectivo puede iniciar a partir de estructuras que permanecen quiescentes en la epidermis de los órganos reproductivos y vegetativos de los árboles hospedantes. La quiescencia se entiende como el período en el que el patógeno logra permanecer en quietud en el huésped previo al desarrollo de la fase activa de la infección, es decir, aquella en la que el hongo invade las células y aparecen los síntomas, especialmente durante los procesos de almacenamiento y comercialización, afectando la calidad de los frutos (Zakaria, 2020; Valdés *et al.*, 2017; Prusky *et al.*, 2013). El estado quiescente se activa bajo condiciones específicas que le son favorables y factores nutricionales adecuados, especialmente en las etapas de fructificación de los cultivos (Prusky & Litcher, 2007).

Las especies pertenecientes al complejo o clado *C. gloeosporioides* son de rápido crecimiento en medios de cultivo, caracterizada por producir conidios con extremos redondeados (Velázquez *et al.*, 2018), entre ellas, en mango en Colombia se reportan *C. asianum*, *C. fructicola* y *C. musae* aislados de frutos sintomáticos (Gañán *et al.*, 2015). Especies pertenecientes al clado *C. acutatum*, son de crecimiento más lento en medios de cultivo, y pueden presentar conidias con bordes redondeados o ahusados (Velázquez *et al.*, 2018); dentro de ellas, en mango en Colombia se registra a *C. tamarilloi* a partir de frutos colectados en plazas de mercado con síntomas (Gañán *et al.*, 2015). No obstante, se ha establecido que para determinar de manera efectiva la identidad de una especie de *Colletotrichum* debe soportarse en técnicas moleculares y análisis filogenético, complementado con descriptores morfológicos y bioquímicos (Rojo *et al.*, 2017).

Colletotrichum es un género confuso en términos taxonómicos, esto se debe a la forma en que su estado sexual determina justamente la variabilidad de su género. Al respecto, investigaciones como las de Rojo *et al.*, (2017) mencionan cómo en 2012 la Subcomisión Internacional de Taxonomía de *Colletotrichum* (ISTC, por sus siglas en inglés) definieron que debía prevalecer la denominación del estado asexual del hongo por encima del de *Glomerella*; esta es la forma como ha sido aplicado más ampliamente en la ciencia. Pero, más allá de eso, los análisis filogenéticos han identificado ya una variedad de especies dentro de este género dentro de los que hay 9 clados principales según identifican Rojo *et al.*, (2017) sobre el trabajo de otros autores: *acutatum* (Damm *et al.*, 2012), *boninense* (Damm *et al.*, 2012), *destructivum* (Damm *et al.*, 2014), *gloeosporioides* (Weir *et al.*, 2012),

orbiculare (Damm *et al.*, 2013), *graminicola*, *dematium*, *spaethianum* y *truncatum* (Cannon *et al.*, 2012).

Para entender la variabilidad de morfoespecies quiescentes y endofíticas de *Colletotrichum* asociadas a mango cv. Azúcar en el departamento del Magdalena, se evaluaron los rasgos biológicos y morfométricos de los 15 morfotipos de cepas, tales como tasa de crecimiento micelial (mm/día), concentración de conidias/ml. y ancho y largo de conidias (μm), así como su eficiencia biológica, expresada en el porcentaje de conidias formadas, porcentaje de conidias germinadas, porcentaje de apresorios formados y porcentaje de apresorios germinados. Se desarrolló un análisis estadístico no paramétrico (Prueba H de Kruskal-Wallis) para el estudio de la tasa de crecimiento micelial (mm/día), concentración de conidias/ml. y porcentaje de apresorios formados, al no cumplir estos con el principio de normalidad en la distribución de los datos. Por el contrario, para el estudio del ancho y largo de conidias (μm), el porcentaje de conidias sin germinar, el porcentaje de conidias formadas y el porcentaje de apresorios germinados se realizó un análisis estadístico paramétrico (Análisis de varianza ANAVA de una vía) y prueba post-hoc Tukey para subconjuntos homogéneos, en un nivel de confianza del 95%, a partir del uso del Software Estadístico SPSS 23. La investigación se desarrolló partiendo de hipótesis que existe variabilidad morfométrica y de eficiencia biológica en las 15 morfoespecies analizadas.

1.3 Materiales y métodos

Para la caracterización morfométrica se realizó un estudio de tipo descriptivo. Se obtuvieron 14 aislamientos endofíticos y/o quiescentes de estudios previos conservados en el centro de colecciones del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad del Magdalena; el otro aislamiento fue obtenido de frutos de árboles de mango cv. Azúcar en la finca Las Margaritas ubicada en Latitud 10°59'22.6"N Longitud 74°12'06.1"W corregimiento de Cordobita del municipio de Ciénaga en el departamento del Magdalena, que presentaron síntomas de la enfermedad.

Para el aislamiento se realizó lavado de frutos con agua corriente; posteriormente, en la cámara de flujo laminar, se cortaron fragmentos de epidermis que contenía tejido sano y

zona de avance de la lesión, de 5 x 5 mm, y se hizo desinfección con hipoclorito de sodio al 1% por un min, y se lavaron con agua destilada estéril dos veces seguidas durante un min cada vez; los fragmentos se dejaron secar, y se sembraron en platos Petri que contenían medio papa-dextrosa-agar (PDA) adicionando 200 ppm de gentamicina (Genfar®); una vez se comprobó el crecimiento del hongo, se hizo transferencia a nuevo medio de cultivo, y el cultivo se conservó en nevera (6°C) para los estudios posteriores.

En una cámara de flujo laminar, y condiciones de asepsia, se preparó medio de papa-dextrosa-agar (PDA) adicionando 200 ppm de gentamicina (Genfar®). De los cultivos conservados, se realizó transferencia de la zona de crecimiento activo del cultivo (zona periférica) a los nuevos platos Petri con medio PDA; la porción de cultivo se depositó en la zona central de los platos Petri con medio de cultivo; se dejaron crecer por 10 días en cuarto de incubación dentro de una nevera de poliestireno expandido esterilizado con hipoclorito de sodio al 1% (26±2 °C); se hicieron verificaciones diarias para monitorear sus cambios y eventuales contaminantes.

Se seleccionó el aislamiento de mejor crecimiento para la obtención de los cultivos monospóricos para cada morfotipo. Para ello, se recogió el crecimiento micelial completo del plato Petri, adicionando 20 mL de agua destilada estéril; la suspensión fungosa se homogenizó y se filtró, recogiendo la suspensión filtrada en tubos de ensayo estériles de 20 ml. Se realizó centrifugación durante 5 minutos a 3000 rpm, descartando el sobrenadante; se adicionó nuevamente el volumen de agua destilada estéril, se agitó y se hicieron conteos de conidias en la cámara de Neubauer y observaciones en un microscopio Leica ICC50. Se ajustó la concentración a 3×10^3 conidias/mL; siguiendo la metodología de Páez (2020) y Quintero *et al.*, (2019). Se tomaron 20 µL de suspensión y se depositaron en un plato Petri con medio PDA y se esparció sobre la superficie del medio en forma de zig-zag; se llevó a incubación a una temperatura a 26±2°C.

Dos días después, una vez se identificaron colonias del hongo, de una de ellas se hizo una nueva transferencia a la zona central de un plato Petri con medio PDA; el procedimiento se repitió tres veces (tres platos Petri nuevos) con cada una de las cepas o morfotipos. A los 10 días, se realizó una descripción morfológica de cada colonia, específicamente color,

textura y márgenes. Se midió el crecimiento radial de la colonia cada dos días, y se determinó la tasa de crecimiento micelial de cada morfotipo.

De un plato Petri con cultivo de 10 días, se obtuvo suspensión de conidias, tal como se describió anteriormente, y se realizó la cuantificación de la concentración de conidias (densidad de inóculo), se describieron y midió el largo y ancho de las conidias.

A partir de la misma suspensión de conidias, se realizó diluciones hasta obtener una concentración de 5×10^5 conidias/mL. Siguiendo la metodología de Páez (2020) y Quintero *et al.*, (2019). Sobre una lámina portaobjetos colocada en el interior de un plato Petri estéril y con papel filtro humedecido en el fondo, se colocaron 8 a 10 microgotas (10 μ L); se incubaron por 24 horas en total oscuridad (interior de nevera de poliestireno expandido, esterilizada con hipoclorito de sodio al 1%) a 26 ± 2 °C; se montaron tres platos con portaobjetos por morfotipo, y para cada morfotipo y Plato se realizaron observaciones en tres campos de observación (40X), y se calculó el porcentaje de germinación de conidias y formación de apresorios.

Para el análisis de las variables morfométricas las unidades experimentales (platos Petri) se montaron en un diseño de efectos fijos. Para cada unidad se hicieron tres repeticiones (cada plato fue una repetición), exceptuando el largo y ancho de conidias donde se hicieron 50 observaciones por cepa. Para las otras variables se hizo medición en tres campos de observación. Producto del no cumplimiento de los principios de normalidad en la distribución de los datos se aplicó, como se mencionó anteriormente, un análisis estadístico no paramétrico (Prueba H de Kruskal-Wallis) para el estudio de la tasa de crecimiento micelial (mm/día), concentración de conidias/mL y el porcentaje de apresorios formados.

1.4 Resultados

1.4.1 Descripción de cepas o morfotipos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum* spp.

De los 15 aislamientos o morfotipos, 14 fueron obtenidos de ramas de árboles de mango cv. azúcar asintomáticas, a partir de distintos crecimientos de las ramas y procedimientos de desinfección y uno más fue obtenido a partir de fruto sintomático, tal como se describe en la tabla 1-1.

Tabla 1-1. Descripción de estrato, crecimiento y tipo de aislamiento de *Colletotrichum* spp.

Denominación	Descripción de origen
UM 035	Estrato alto. Aislado por desinfección convencional. Aislado por desinfección con cloro gasificado.
UM 036	Estrato bajo. Rama del segundo crecimiento. Aislado por desinfección con cloro gasificado.
UM 037	Estrato alto. Rama del tercer crecimiento. Aislado por desinfección convencional.
UM 038	Estrato alto. Rama del segundo crecimiento. Aislado por desinfección con Hipoclorito de sodio al 4%.
UM 039	Estrato bajo. Rama del tercer crecimiento. Aislado por desinfección con Hipoclorito de sodio al 4%.
UM 040	Estrato alto, Rama del tercer crecimiento. Aislado por desinfección convencional.
UM 041	Estrato alto. Rama del tercer crecimiento. Aislado por desinfección convencional.
UM 042	Estrato alto. Rama del tercer crecimiento. Aislado por desinfección convencional.
UM 043	Estrato medio. Rama del segundo crecimiento. Aislamiento por desinfección con Hipoclorito 4%.
UM 044	Estrato alto. Rama del primer crecimiento. Aislado por desinfección convencional.

Tabla 1-1: (Continuación)

Denominación	Descripción de origen
UM 045	Estrato alto. Rama del segundo crecimiento. Aislado por desinfección convencional.
UM 046	Estrato alto. Rama del primer crecimiento. Aislado por desinfección convencional.
UM 047	Estrato medio. Rama del segundo crecimiento. Aislado por desinfección con cloro gasificado.
UM 048	Estrato alto. Rama del primer crecimiento. Aislado por desinfección convencional.
UM 049	Cepa aislada de fruto sintomático, mediante inducción de signos en cámara húmeda.

1.4.2 Descripción de características morfométrica y aspectos biológicos de cada cepa o morfotipo de *Colletotrichum* spp.

A continuación, se describen las características morfométricas y aspectos biológicos de cada cepa o morfotipo.

- **Aislamiento UM 035**

Presentó una textura algodonosa con anillos circulares desde el centro del medio y un crecimiento micelial blanco a ras del medio (Figura 1-1).

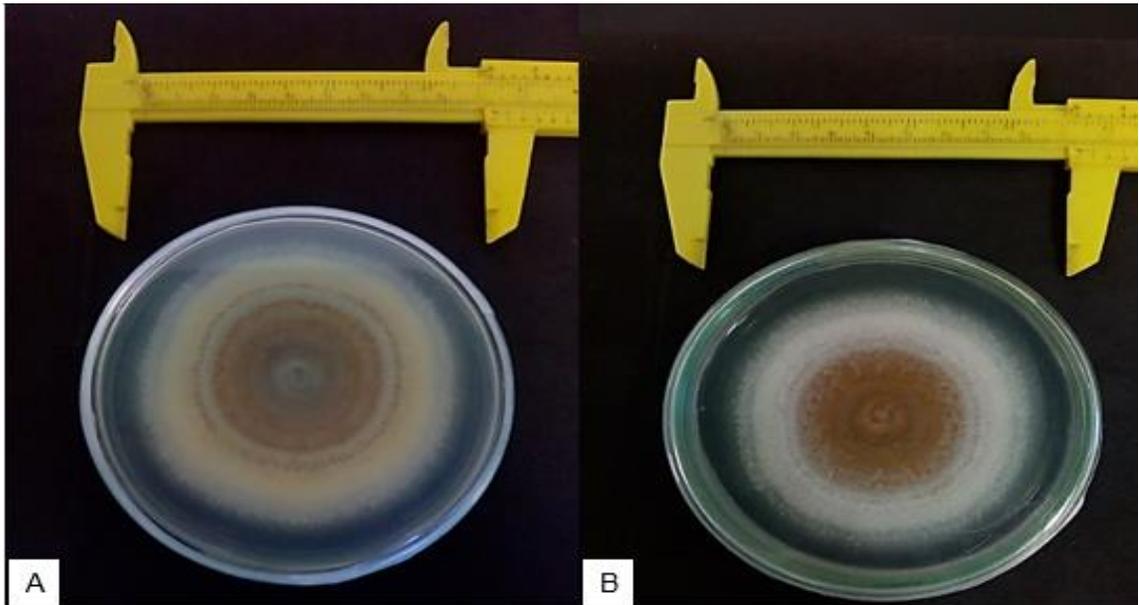


Figura 1-1. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 035 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

Respecto a la morfometría en cultivo proveniente de monospórico se observó una tasa de crecimiento micelial promedio de 8.9 mm/día. La densidad del promedio del inóculo fue de $6,5 \times 10^6$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 11,03 μm , mientras que el ancho promedio fue de 4,04 μm . Presentó 27% de conidias sin germinar, 43% de conidias germinadas, evidenciado con un 20% de formación de apresorios, y 10% de los apresorios formados mostraron germinación.

- **Aislamiento UM 036**

Presentó una textura algodonosa con anillos irregulares y un crecimiento micelial blanco y margen entero hialino (Figura 1-2).

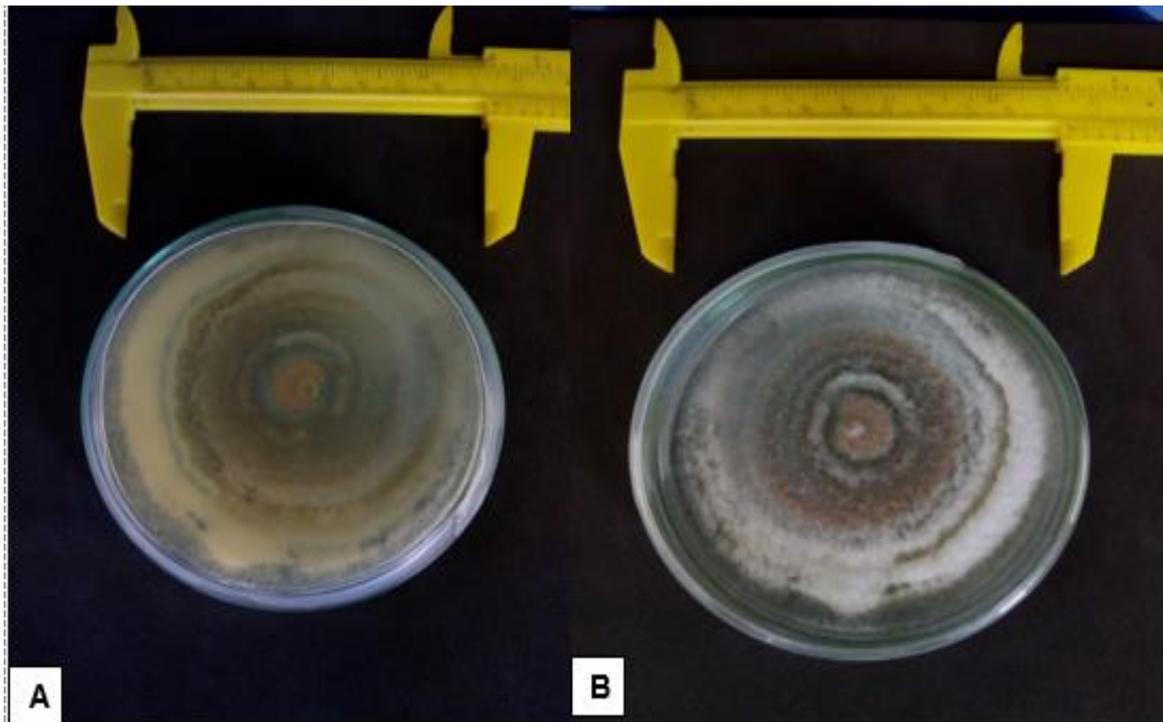


Figura 1-2. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 036 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

El aislamiento presentó una tasa de crecimiento micelial promedio de 8.8 mm/día. La densidad promedio de inóculo fue de $6,383 \times 10^6$ conidias /mL. El largo promedio de las conidias fue de 10,22 μm mientras que el ancho promedio fue de 4,19 μm . En cuanto a la eficiencia biológica, presentó 37% de las conidias sin germinar, 37% de conidias germinadas evidenciado con la formación de 18% de apresorios y la germinación de del 8% de apresorios.

▪ **Aislamiento UM 037**

Presentó una textura algodonosa en la zona concéntrica media, un único anillo concéntrico, micelio algodonoso, zona de avance y margen filamentoso (Figura 1-3).

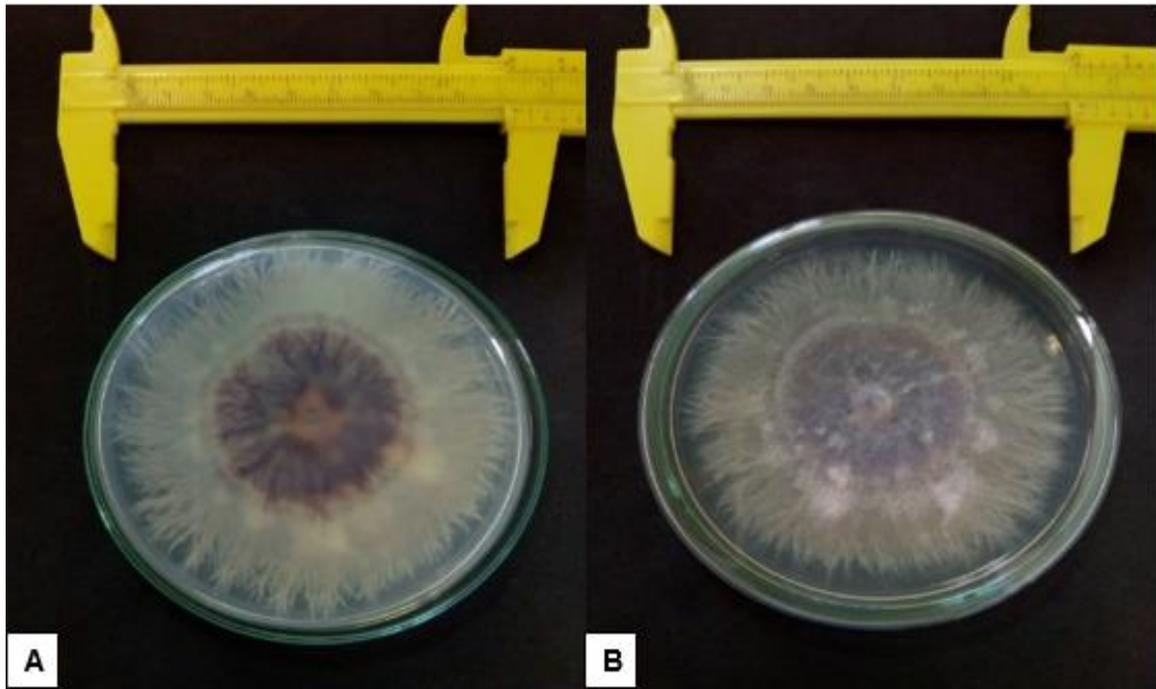


Figura 1-3. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 037 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

El aislamiento UM 037 presentó una tasa de crecimiento micelial promedio de 8.5 mm/día. La densidad promedio del inóculo fue de $1,131 \times 10^7$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 9,42 μm y el ancho promedio fue de 3,74 μm . Presentó un 41% de conidias sin germinar, 43% de germinación de las conidias con formación de 15% de apresorios y la germinación del 1% de apresorios.

▪ **Aislamiento UM 038**

Presentó una textura algodonosa con anillos concéntricos. Se observó presencia de esclerocios en zona de avance, con un tono bisque. Los márgenes fueron enteros (Figura 1-4).

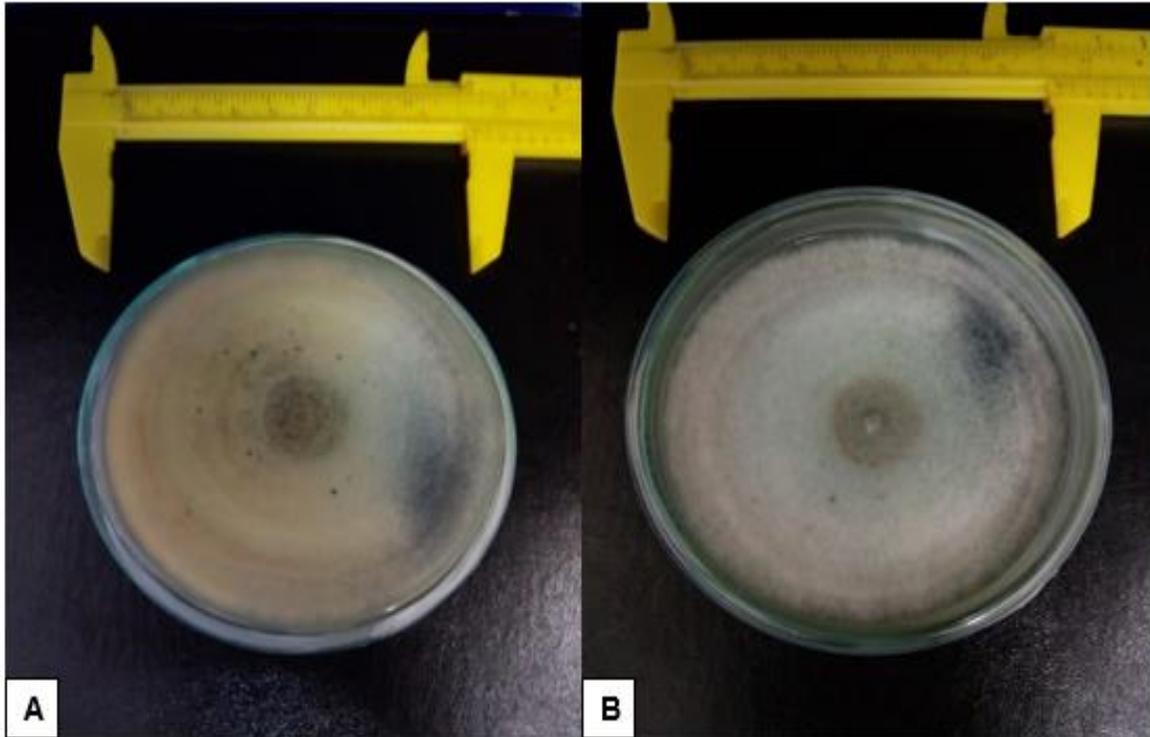


Figura 1-4. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 038 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

La tasa de crecimiento micelial promedio fue de 8.9 mm/día. La densidad promedio del inóculo fue de $3,583 \times 10^6$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 13,08 μm y el ancho promedio fue de 5,06 μm . Presentó un 81% de conidias sin germinar, 15% de germinación de conidias, con la formación de 4% de apresorios, pero ningún porcentaje de germinación de apresorios.

▪ Aislamiento UM 039

Se observó un crecimiento con textura algodonosa, anillos concéntricos, zona de avance y margen micelial (Figura 1-5).

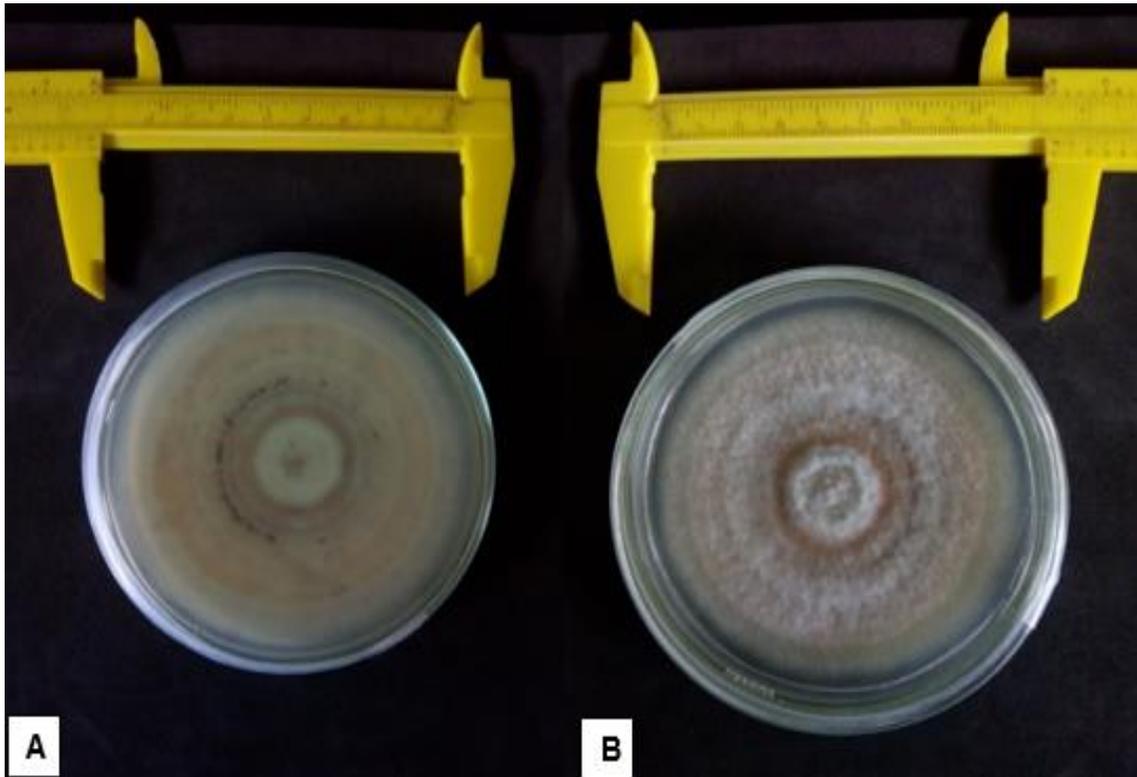


Figura 1-5. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 039 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

Se observó una tasa de crecimiento micelial promedio de 8.1 mm/día. La densidad promedio del inóculo fue de 3×10^5 conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 11,33 μm , mientras que el ancho promedio fue de 4,26 μm . Presentó un 23% de conidias sin germinar, 15% de germinación de conidias, evidenciado con la formación de 37% de apresorios, y la germinación del 25% de apresorios.

▪ **Aislamiento UM 040**

Presentó una textura granular, micelio en el centro, anillos concéntricos bien marcados, con una zona de avance entera y márgenes filamentosos (Figura 1-6).

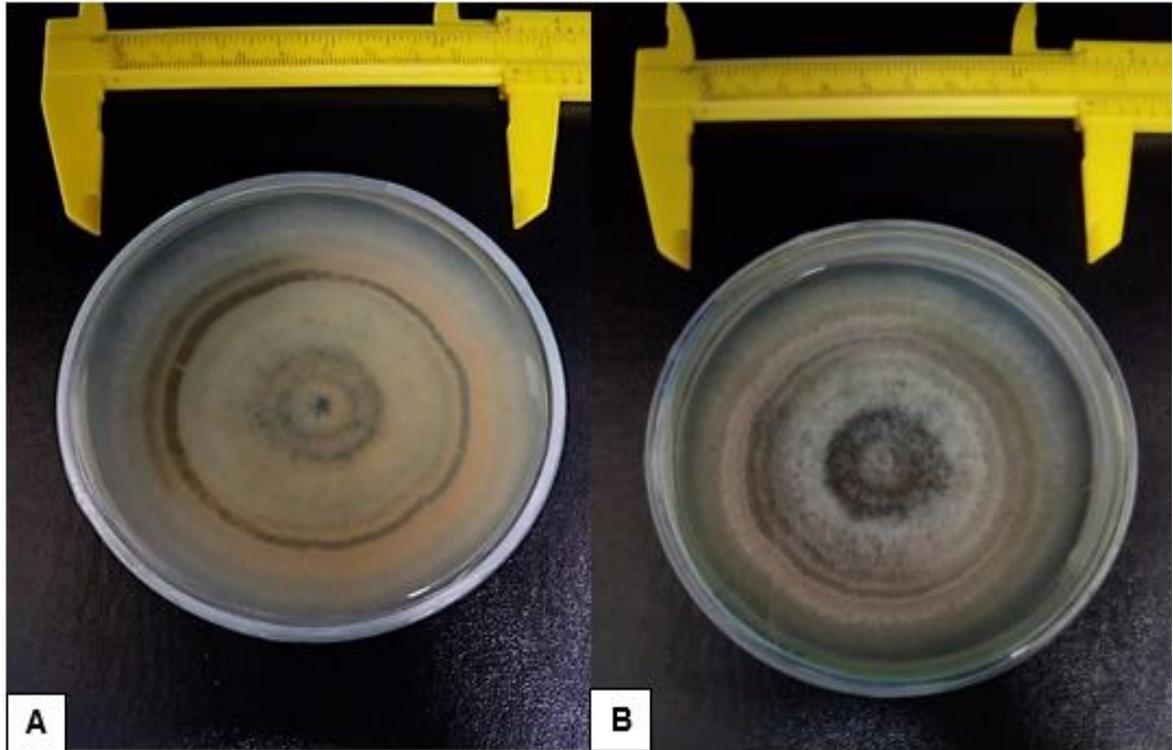


Figura 1-6. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 040 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

Respecto a su morfometría, este aislamiento mostró una tasa de crecimiento micelial promedio de 7.9 mm/día. La densidad promedio del inóculo fue de $1,483 \times 10^6$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 8,26 μm y el ancho promedio fue de 3,05 μm . Presentó un 48% de conidias sin germinar, 28% de germinación de conidias, evidenciando la formación de apresorios en un 21%, y 4% en la germinación de apresorios.

▪ Aislamiento UM 041

Presentó textura granular, anillo concéntrico de tonalidad cobre definida y micelio color ámbar, zona de avance entera hialina y margen rizado (Figura 1-7).

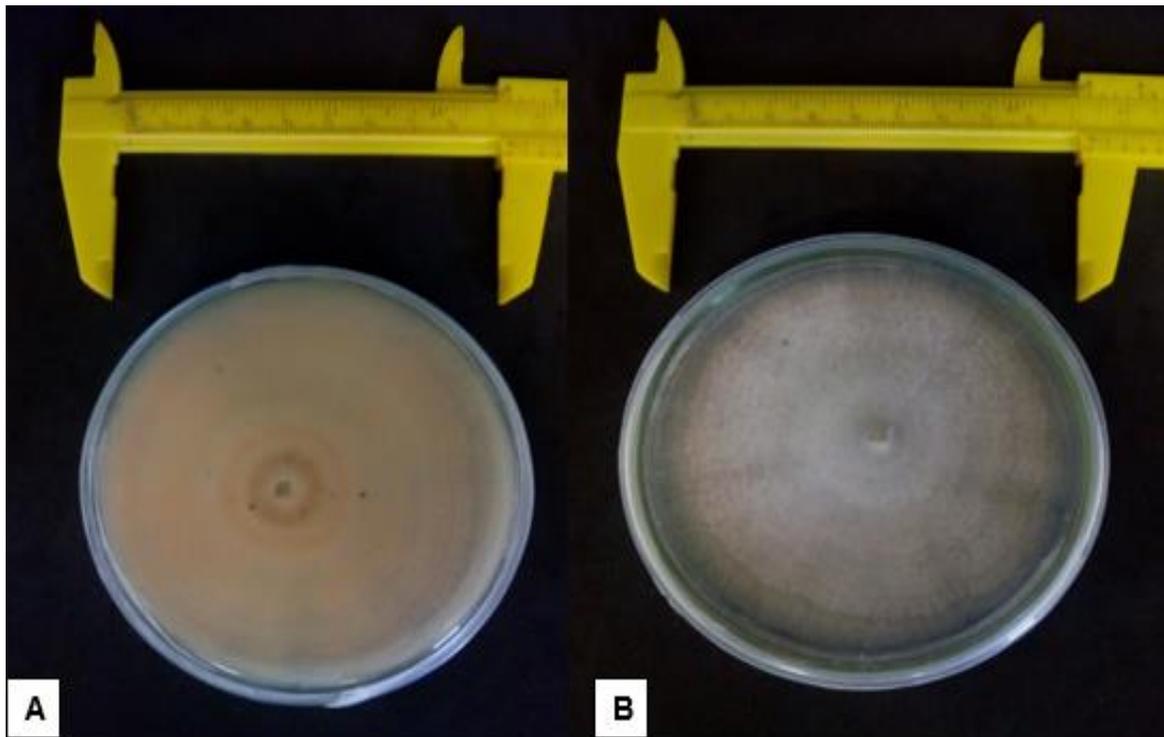


Figura 1-7. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 041 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

Se observó una tasa de crecimiento micelial promedio de 10.4 mm/día. La densidad promedio del inóculo fue de $1,916 \times 10^6$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 10,22 μm y el ancho promedio fue de 4,02 μm . Presentó un 63% de conidias sin germinar, 27% de germinación de conidias, evidenciado con la formación de apresorios en un 11%, pero no presentó porcentaje de germinación de apresorios.

▪ **Aislamiento UM 042**

Presentó una textura algodonosa, con formaciones de anillos concéntricos variables de tonalidad, con zona de avance y margen ondulado (Figura 1-8).

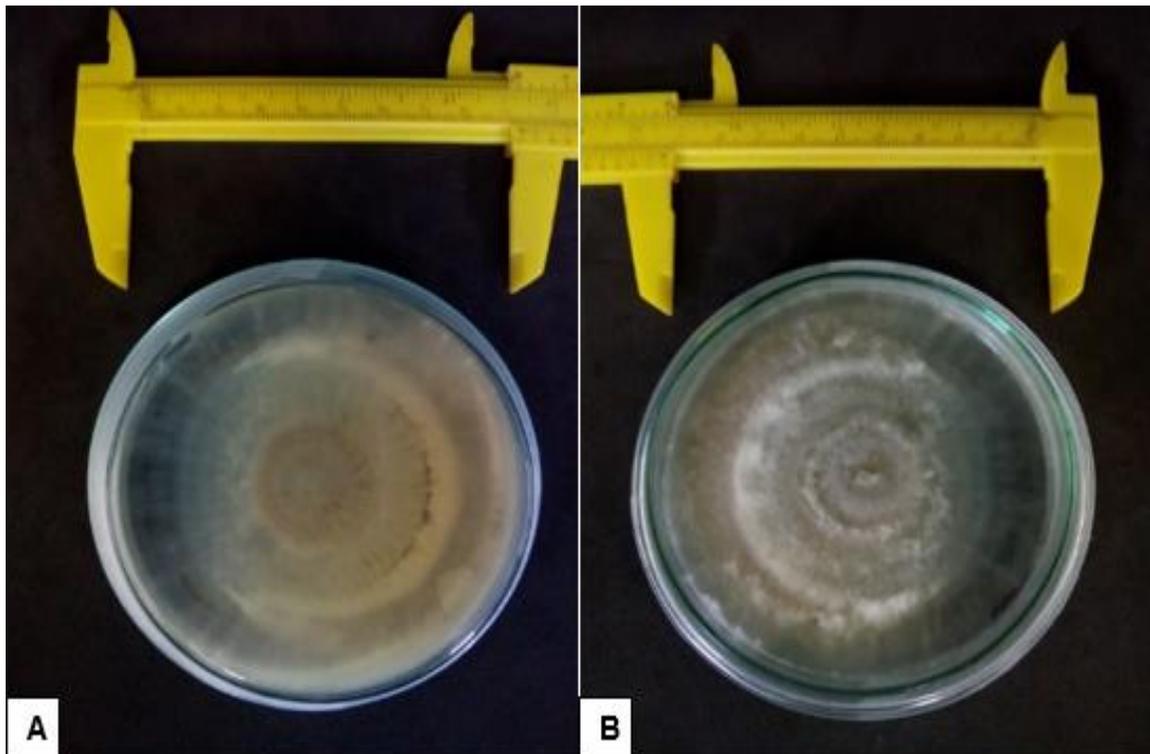


Figura 1-8. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 042 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

El aislamiento UM 042 mostró una tasa de crecimiento promedio de 12.4 mm/día. La densidad promedio del inóculo fue de $2,666 \times 10^5$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 10,28 μm y el ancho promedio fue de 3,65 μm . Presentó un 25% de conidias sin germinar, 0% de conidias germinadas, 67% de apresorios formados y 8% de apresorios germinados.

▪ **Aislamiento UM 043**

Presentó una textura algodonosa, con anillos concéntricos muy bien definidos, micelio color blanco y margen entero (Figura 1-9).

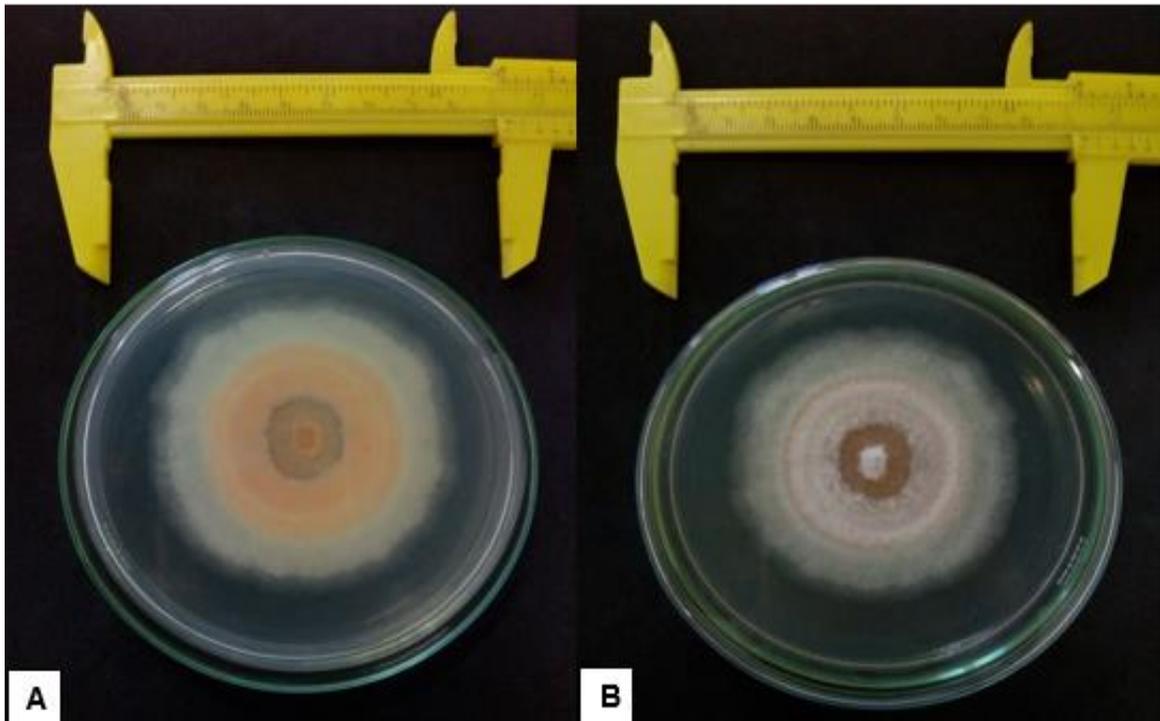


Figura 1-9. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 043 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

En el aislamiento UM 043 se observó una tasa de crecimiento micelial promedio de 8.7 mm/día. La densidad promedio del inóculo presentó una concentración $1,816 \times 10^6$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 11,34 μm y el ancho promedio fue de 4,73 μm . Presentó un 59% de conidias sin germinar, 21% de germinación de las conidias, evidenciado con la formación de apresorios en un 22%, pero no presentó ningún porcentaje de apresorios germinados.

▪ Aislamiento UM 044

Presentó una textura algodonosa, con anillos concéntricos granulares (Figura 1-10).

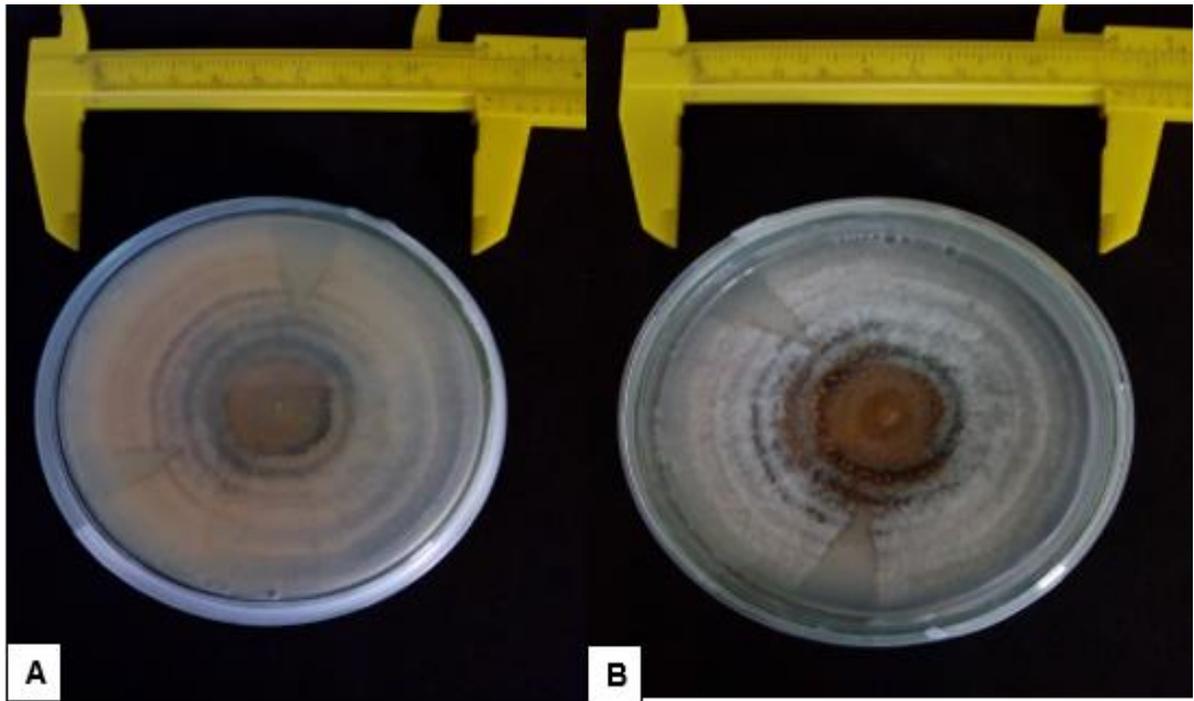


Figura 1-10. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 044 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

La morfometría del aislamiento UM 044 presentó una tasa de crecimiento micelial promedio de 10.4 mm/día. La densidad promedio del inóculo fue de $8,189 \times 10^7$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 10,27 μm y el ancho promedio fue de 3,66 μm . Presentó un 83% de conidias sin germinar, 17% de conidias germinadas, pero no presentó ningún porcentaje de formación ni germinación de apresorios.

▪ **Aislamiento UM 045**

Presentó una textura algodonosa granular significativa en los anillos concéntricos centrales, con un anillo concéntrico bien marcado, micelio aéreo color blanco y margen entero (Figura 1-11).

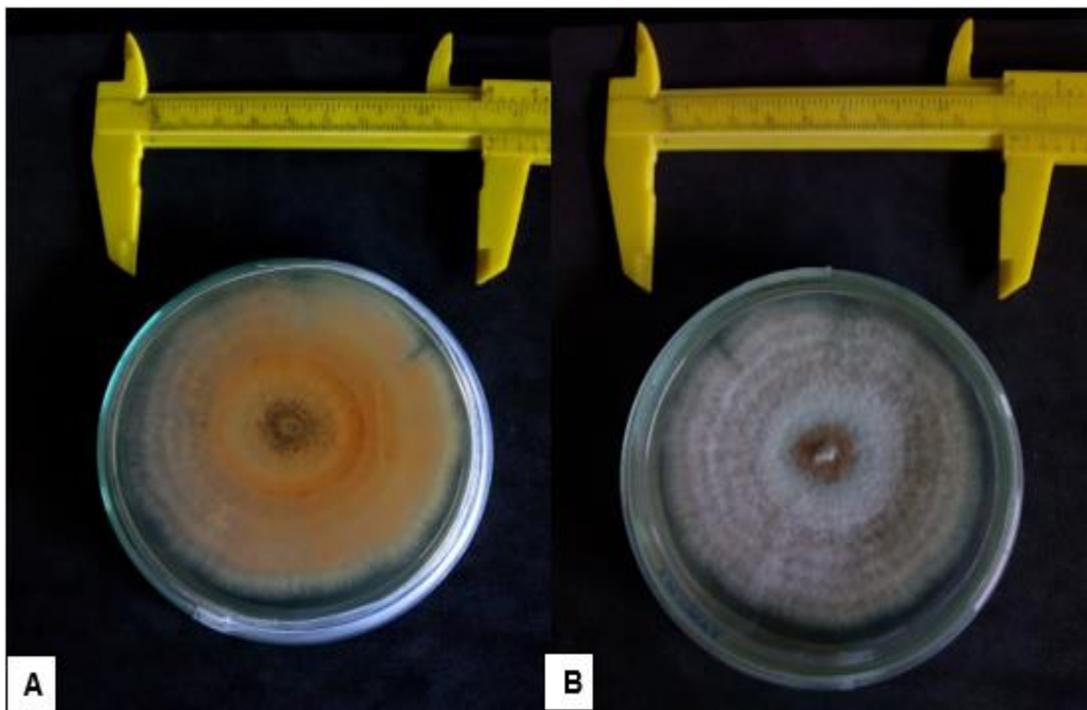


Figura 1-11. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 045 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

La morfometría del aislamiento UM 045 mostró una tasa de crecimiento micelial promedio de 9.0 mm/día. La densidad promedio del inóculo fue de $2,648 \times 10^7$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 11,04 μm y el ancho promedio fue de 3,78 μm . Presentó un 25% de conidias sin germinar, un 25% de germinación en las conidias, 25% fueron apresorios formados y 25% fueron apresorios germinados.

▪ Aislamiento UM 046

Presentó una textura algodonosa muy consistente, anillos concéntricos, zona de avance y micelio color crudo, con margen entero (Figura 1-12).

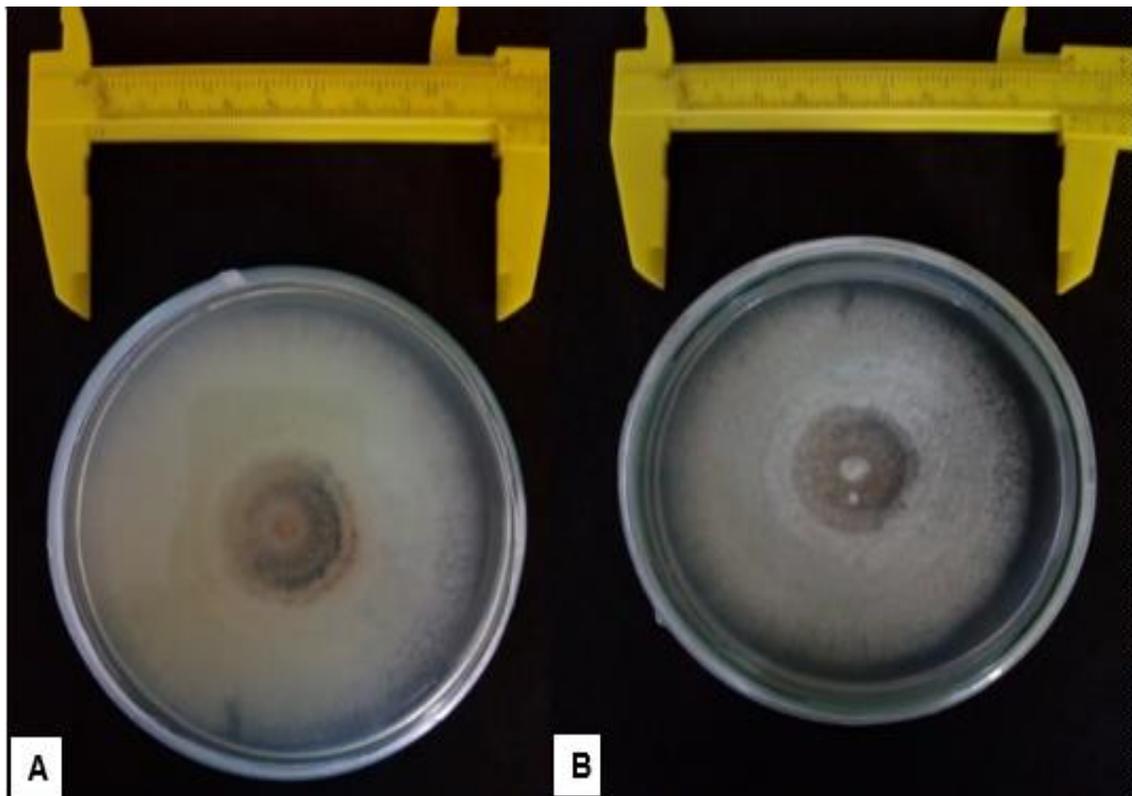


Figura 1-12. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 046 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

En la morfometría del aislamiento UM 046 se observó una tasa de crecimiento micelial promedio de 8.1 mm/día. La concentración promedio de conidias o densidad del inóculo fue de $3,65 \times 10^6$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias alcanzó 10,86 μm , mientras que el ancho fue de 4,07 μm . Presentó un 69% de conidias sin germinar, 26% de

germinación de las conidias, 6% de formación de apresorios, pero de estos ninguno presentó germinación.

▪ Aislamiento UM 047

Presentó una textura algodonosa, anillos concéntricos y granulares, micelio color beis y margen entero (Figura 1-13).

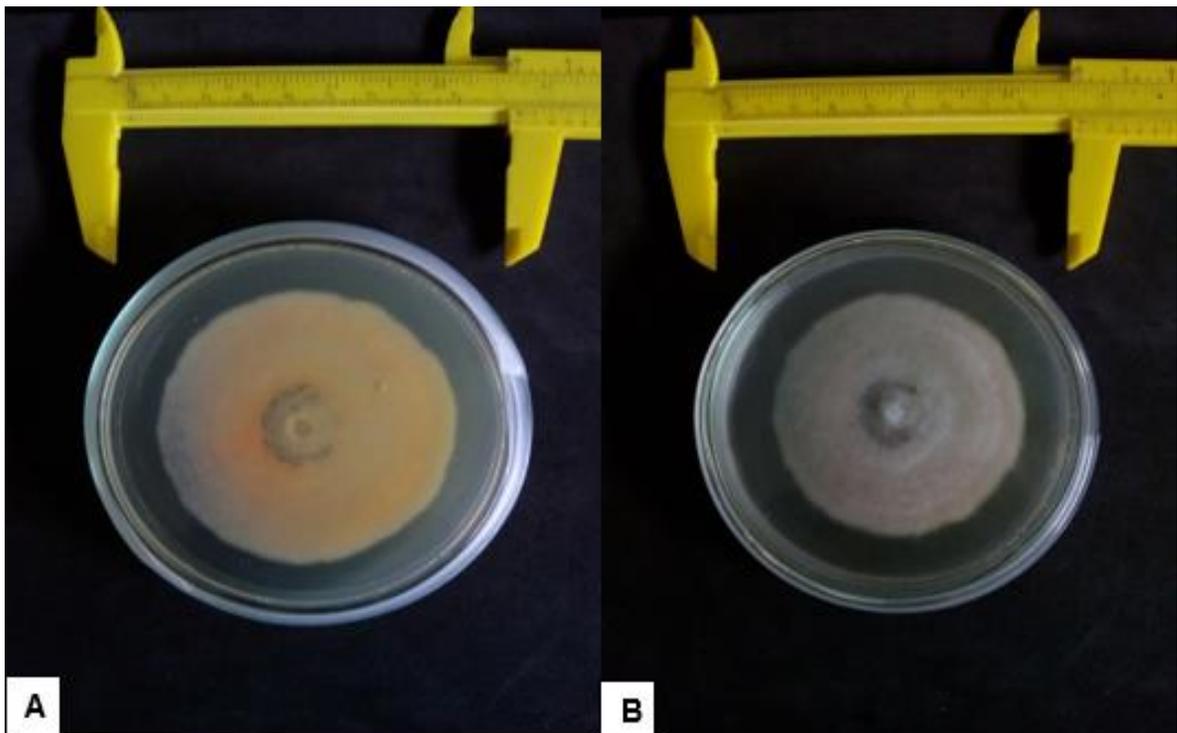


Figura 1-13. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 047 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

El aislamiento UM 047 mostró una tasa de crecimiento micelial promedio de 7.4 mm/día. La densidad promedio del inóculo fue de $1,0 \times 10^5$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 11,45 μm y el ancho promedio de las conidias fue de 4,61 μm . Presentó un

23% de conidias sin germinar, 56% de germinación de las conidias, 13% de formación de apresorios, y 8% de germinación de apresorios.

▪ Aislamiento UM 048

Presentó una textura algodonosa en el avance, anillos concreticos múltiples, zona de avance y micelio color beis y margen entero (Figura 1-14).

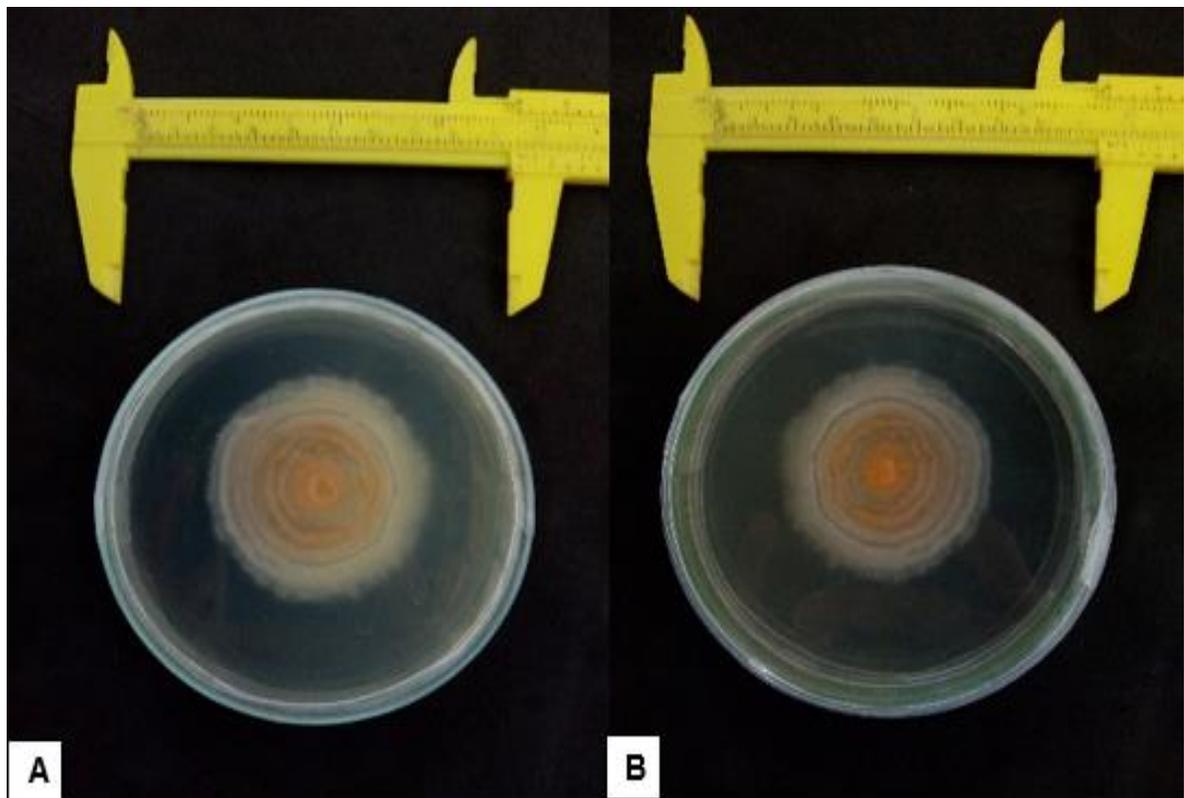


Figura 1-14. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 048 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

La morfometría para el aislamiento UM 048 permitió observar una tasa de crecimiento micelial promedio de 6.8 mm/día. La densidad promedio del inóculo fue de $1,816 \times 10^6$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 9,61 μm y el ancho promedio fue de

2,95 μm . Presentó un 64% de conidias sin germinar, 20% de germinación de las conidias, evidenciado con la formación de 9% de apresorios y 7% de apresorios germinados.

▪ Aislamiento UM 049

Presentó una textura algodonosa significativa en el avance anverso, anillos concreticos múltiples, zona de avance y micelio color beis y margen entero. (Figura 1-15).

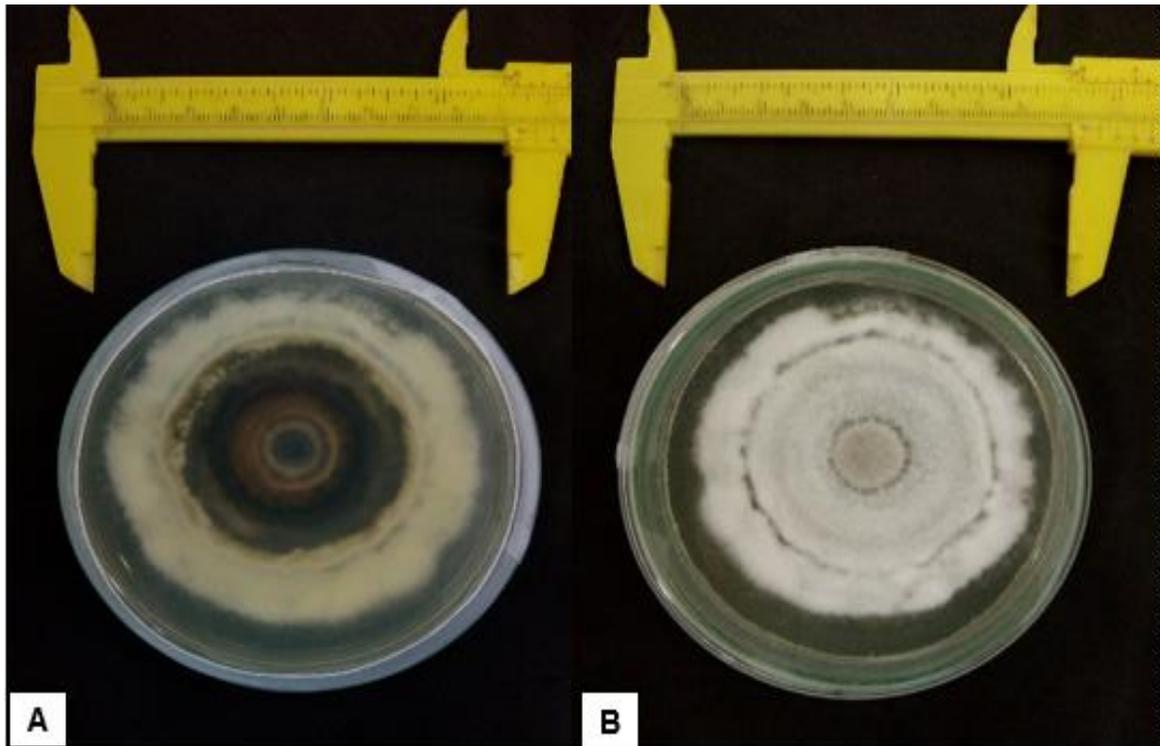


Figura 1-15. Reverso (A) y anverso (B) del morfotipo UM 049 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

El aislamiento UM 049 muestra una tasa de crecimiento micelial promedio de 10.1 mm/día. La concentración de conidias fue $2,666 \times 10^5$ conidias/mL. El largo promedio de las conidias fue de 10,49 μm , mientras que el ancho fue de 3,90 μm . Presentó un 66% de

conidias sin germinar, un 14% de germinación de las conidias, 7% de formación de apresorios, y 13% de apresorios germinados.

1.4.3 Comparación entre morfotipos o cepas de *Colletotrichum* spp.

De los principales hallazgos, se presenta, a continuación, la comparación de datos de cada uno de los 15 aislamientos en torno a sus características morfológicas y biológicas (Tabla 1-2); en cada caso se hicieron tres repeticiones, por lo que el valor que indica la tabla para cada cepa es el promedio de estas.

Tabla 1-2. Características biológicas y morfométricas de 15 morfotipos de *Colletotrichum* aislados de diferentes órganos de mango cv. Azúcar.

Cepa	Tasa de Crecimiento micelial promedio (mm/día)	Densidad del Inóculo promedio (Conidias/ml.)	Longitud promedio Conidias (µm)	
			Largo	Ancho
UM 035	8.9	6,500 x 10 ⁶	11,03	4,04
UM 036	8.8	6,383 x 10 ⁶	10,22	4,19
UM 037	8.5	1,131 x 10 ⁷	9,42	3,74
UM 038	8.9	3,583 x 10 ⁶	13,08	5,06
UM 039	8.1	3,000 x 10 ⁵	11,33	4,26
UM 040	7.9	1,483 x 10 ⁶	8,26	3,05
UM 041	10.4	1,916 x 10 ⁶	10,22	4,02
UM 042	12.4	2,666 x 10 ⁵	10,28	3,65
UM 043	8.7	1,816 x 10 ⁶	11,34	4,73
UM 044	10.4	8,189 x 10 ⁷	10,27	3,66
UM 045	9.0	2,648 x 10 ⁷	11,04	3,78
UM 046	8.1	3,65 x 10 ⁶	10,86	4,07

UM 047	7.4	1,000 x 10 ⁵	11,45	4,61
UM 048	6.8	1,816 x 10 ⁶	9,61	2,95
UM 049	10.1	2,666 x 10 ⁵	10,49	3,90

Nota: Los valores de cada cepa representan el promedio para las 3 repeticiones estudiadas. En total, se analizaron los datos de 45 casos.

Se encontró que la mayor tasa de crecimiento micelial fue para UM 042 con un promedio de 12.4 mm/día, mientras que el aislamiento con menor tasa de crecimiento micelial fue el UM 048 con un promedio de 6.8 mm/día. En cuanto a la densidad del inóculo se presentó una mayor concentración de conidias/mL en el aislamiento UM 044 con un promedio de $8,189 \times 10^7$, mientras que la menor concentración se presentó en el aislamiento UM 047 con una concentración promedio de 1×10^5 conidias/mL. El aislamiento UM 038 el que mayor largo de las conidias presentó con un a valor promedio de 13,08 μm , mientras que el menor que el aislamiento UM 040 es el que menor largo de conidias presentó con un valor promedio de 8,26 μm . En cuanto al ancho es el aislamiento UM 038 el de mayor valor promedio con 5,06 μm de ancho y el aislamiento UM 048 fue el de menor valor promedio con 2,95 μm (Tabla 1-2).

En relación con la eficiencia biológica (Tabla 1-3 y Figura 1-16), se presentaron diferencias entre morfotipos. En cuanto a la formación de conidias resulta particular el caso del aislamiento UM 045 con una cantidad de conidias formadas evidentemente superior al resto de aislamiento, esta alcanzó un total de 696 conidias, mientras que el aislamiento UM 044 fue el que presento menor concentración de conidias con un total de 18. El aislamiento que mayor porcentaje de conidias sin germinar presentó fue el UM 044 con un 83%, mientras que los aislamientos que menor porcentaje de conidias sin germinar presentaron son el UM 039 y el UM 047 cada uno con un 23%. El aislamiento de mayor porcentaje de germinación de conidias es el UM 047 con un 56% y el que menor valor registro sobre este aspecto es el UM 042 con un porcentaje de 0. En el aislamiento que mayor porcentaje de apresorios se formaron fue en el aislamiento UM 042 con un 67%, mientras que el aislamiento UM 044 fue el de menor valor con un porcentaje de 0. Los aislamientos que mayor porcentaje de apresorios germinados tuvieron son los aislamientos

UM 039 y UM 045 cada uno con un 25%. Fue evidente, que no todos los apresorios mostraron inicio de germinación que diera lugar a la formación de la clavija de penetración; la eficiencia biológica dependió de cada morfotipo, en este caso los aislamientos UM 038, UM 041, UM 043, UM 044 y UM 046 no dieron lugar a germinación de apresorios.

Tabla 1-3. Eficiencia biológica de morfotipos de *Colletotrichum* aislados de diferentes órganos de mango cv. Azúcar.

Cepa	Concentración total conidias	% Conidias sin Germinar	% Conidias Germinadas	% Apresorios Formados	% Apresorios Germinados
	Suma	Media	Media	Media	Media
UM 035	45	27	43	20	10
UM 036	22	37	37	18	8
UM 037	88	41	43	15	1
UM 038	103	81	15	4	0
UM 039	60	23	15	37	25
UM 040	44	48	28	21	4
UM 041	59	63	27	11	0
UM 042	24	25	0	67	8
UM 043	118	59	21	22	0
UM 044	18	83	17	0	0
UM 045	696	25	25	25	25
UM 046	54	69	26	6	0
UM 047	61	23	56	13	8
UM 048	196	64	20	9	7
UM 049	74	66	14	7	13

Nota: Los valores de cada cepa representan el promedio para las 3 repeticiones estudiadas. En total, se analizaron los datos de 45 casos.

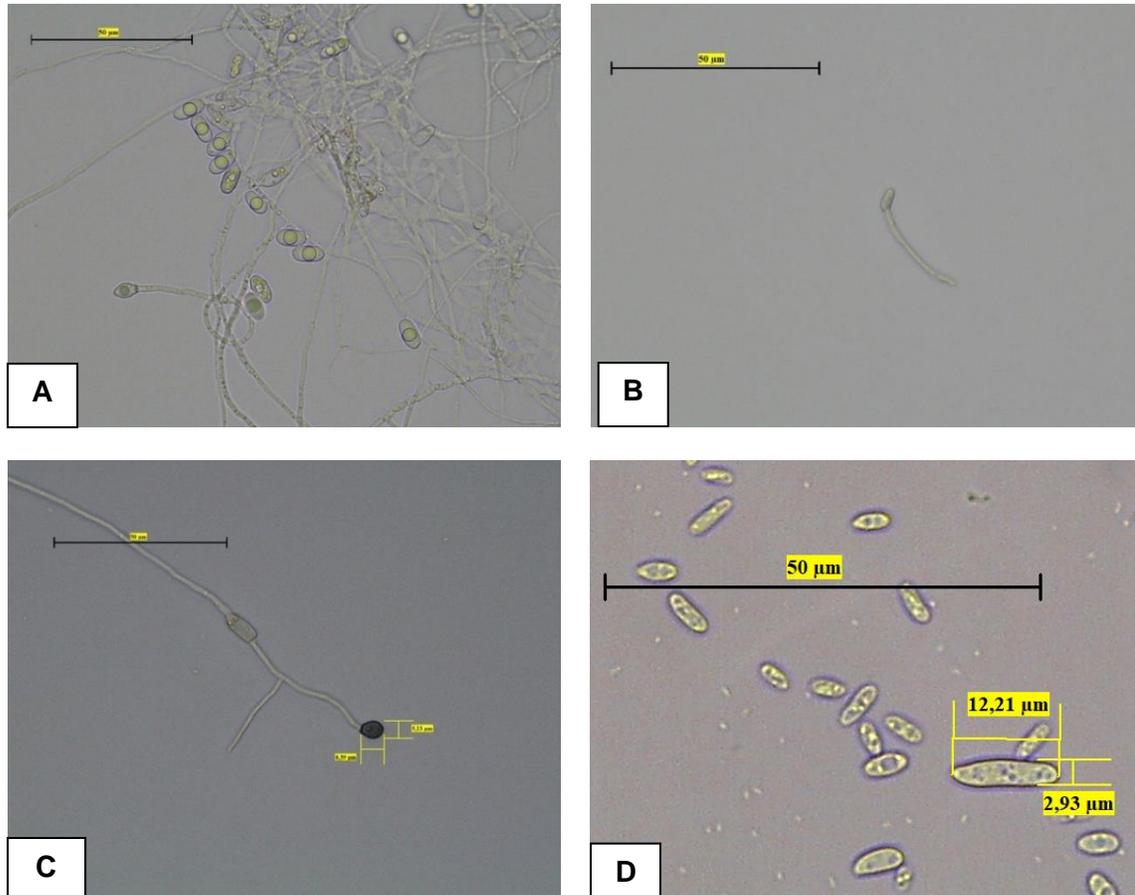


Figura 1-16. Conidias y apresorios de *Colletotrichum* spp. Objetivo 40X. **A.** Conidias. **B.** Conidia germinada. **C.** Apresorio formado. **D.** Tamaño de conidias. Imagen: Mercado, 2019.

Dentro del estudio comparado de los rasgos biológicos y morfométricos, primero se analizó la tasa de crecimiento micelial. La prueba de Kruskal-Wallis mostró la existencia de diferencias significativas en la distribución de la tasa de crecimiento micelial para los 15 morfotipos analizados, obteniendo un nivel de significancia bilateral de 0,010 ($P < 0,05$), a un nivel del 95% de confianza. Al realizar el análisis de las medias, queda en evidencia que el aislamiento UM 042 es el que presenta un mayor promedio en cuanto a la tasa de crecimiento con un rango intercuartílico entre 12,3 mm/día y 12,5 mm/día y una media de 12,4 mm/día, mientras que el aislamiento UM 048 presentó el menor promedio de tasa de

crecimiento con un rango intercuartílico entre 6,7 mm/día y 7,0 mm/día con una media de 6,8 mm/día. Por su parte, en el aislamiento UM 041 se refleja particularmente un valor atípico extremo en el primer y segundo cuartiles respecto de los otros aislamientos (Figura 1-17).

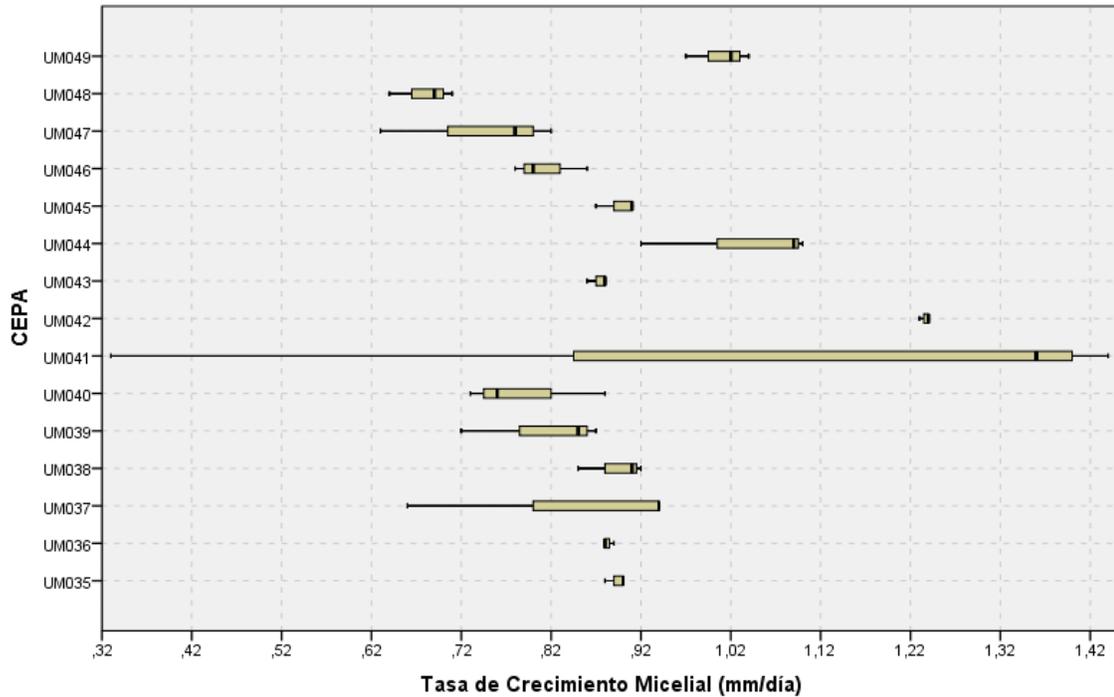


Figura 1-17. Tasa de crecimiento micelial por morfotipo de *Colletotrichum* spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según la tasa de crecimiento, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.

Para el caso de la densidad del inóculo (conidias/mL) la prueba de Kruskal-Wallis mostro la presencia de diferencias estadísticamente significativas en la distribución de Conidias/mL. para los diferentes morfotipos de cepa, con un nivel de significancia bilateral de 0,000 ($P < 0,05$), a un nivel de 95% de confianza. Al realizar el análisis de las medias se evidencia que el morfotipo UM 044 presentó el mayor promedio con un rango intercuartílico entre $8,0 \times 10^7$ conidias/mL y $8,5 \times 10^7$ conidias/mL y una media de $8,1 \times 10^7$ conidias/mL. En cambio, el morfotipo con el menor promedio es el UM 047 con una media inferior de

1,0 x 10⁵ conidias/mL. En este caso el morfotipo UM 045 representa el valor atípico más extremo en el primer y segundo cuartil respecto de la media con una diferencia aproximada de 4 x 10³ conidias/mL (Figura 1-18).

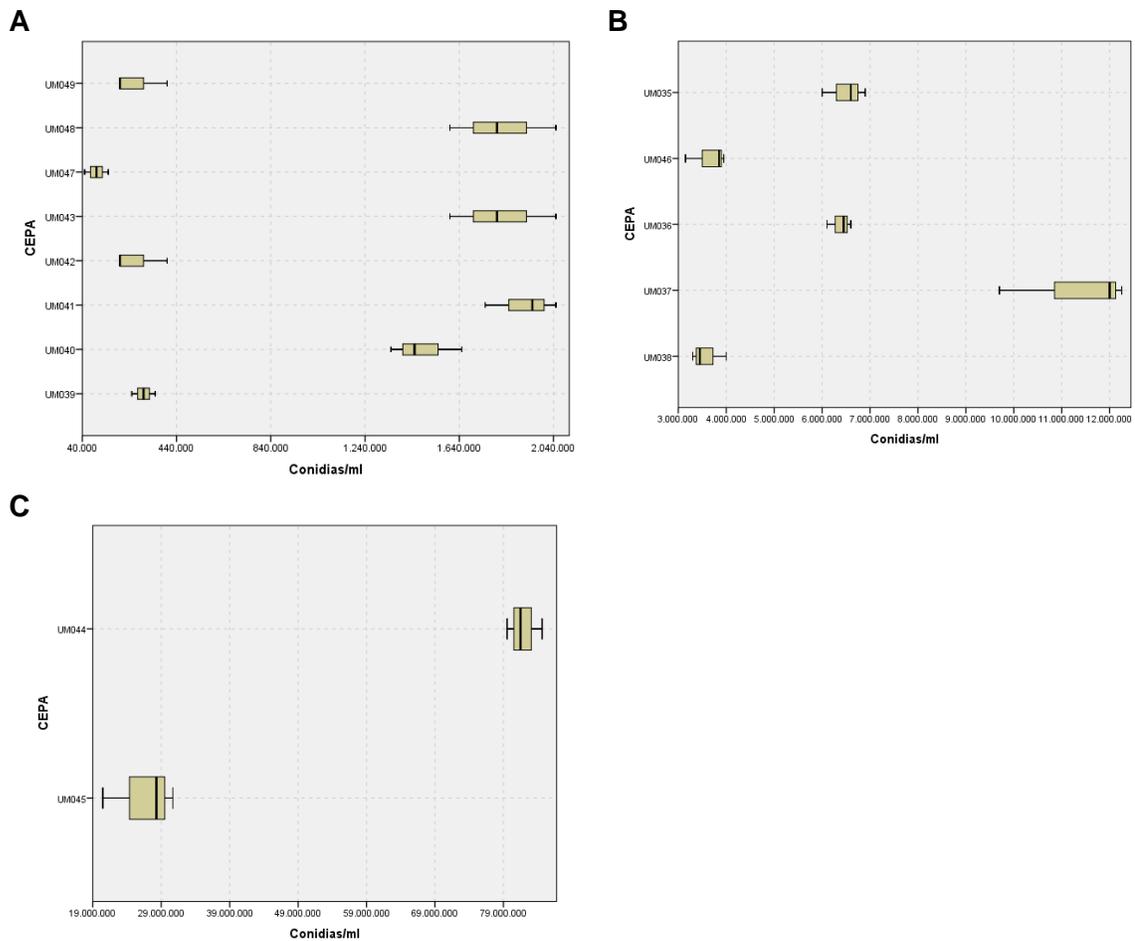


Figura 1-18. Densidad del inóculo por morfotipo de *Colletotrichum* spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según la densidad del inóculo (conidias/mL), mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal- Wallis a un nivel de 95% de confianza.

En cuanto al comportamiento del ancho de las conidias (μm), el análisis de varianza (ANOVA) de una vía puso en evidencia diferencias significativas entre los 15 morfotipos estudiados, obteniendo un nivel de significancia bilateral de 0,0332 ($P < 0,05$), a un 95% de

confianza. En el proceso de análisis puede identificarse que el morfotipo UM 038 presentó el mayor promedio de ancho con un rango intercuartílico entre 4,80 μm y 5,40 μm , y una media de 5,06 μm , mientras que el morfotipo UM 048 presentó el menor promedio de ancho con un rango intercuartílico entre 2,90 μm y 3,00 μm , y una media de 2,95 μm . Respecto de esta medida en la mayoría de los morfotipos pueden evidenciarse valores atípicos altos y bajos en relación con la media; es el morfotipo UM 043 el que presenta un comportamiento de menor rango de variabilidad en sus valores (Figura 1-19).

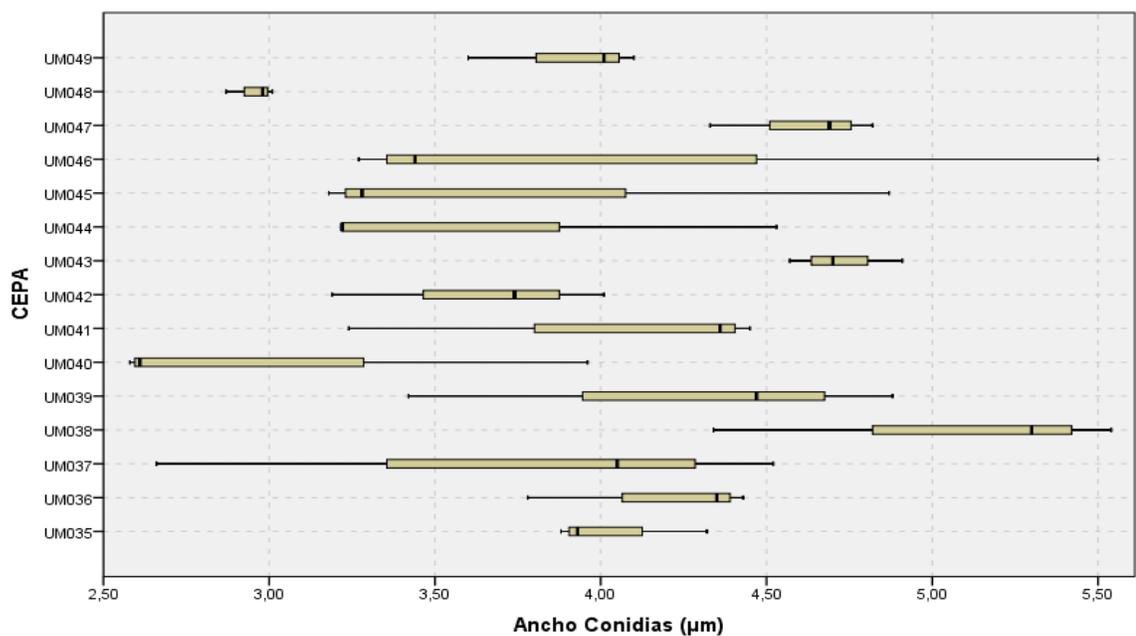


Figura 1-19. Ancho de conidias por morfotipo (μm) de *Colletotrichum* spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el ancho de las conidias (μm), mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.

En la prueba de Tukey se observó la existencia de dos subgrupos con valores homogéneos al interior de cada grupo de cepas, con relación al ancho de las conidias. En el subgrupo 1 ($P=0,118$) se ubicaron 14 morfotipos con un rango de medida de ancho entre 2,95 μm y 4,74 μm . El único caso excluido correspondió al caso UM 038. En el subgrupo 2 ($P=0,393$) se ubicaron 13 morfotipos con un rango de ancho entre 3,64 μm y 5,06 μm . Este segundo subgrupo no incluyó las cepas UM 040 y UM 048. De manera que el menor rango de

medida del ancho de las conidias fue para el morfotipo UM 048 con un valor de medida promedio de 2,95 μm y el mayor rango de medida del ancho de las conidias fue para el morfotipo UM 038 con un valor de medida promedio de 5,06 μm .

Para el caso del largo de las conidias (μm), el análisis de varianza (ANAVA) de una vía no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los 15 morfotipos estudiados, obteniendo un nivel de significancia bilateral de 0,123 ($P > 0,05$), a un 95% de confianza. Sin embargo, al analizar los valores de las medias, se ha identificado que el morfotipo que obtuvo un mayor promedio en cuanto al largo de las conidias fue el UM 038 con un rango intercuartílico entre 11,30 μm y 14,50 μm , y una media de 13,08 μm , mientras que el morfotipo que obtuvo un menor promedio en el valor del largo de las conidias fue el UM 040 con un rango intercuartílico entre 6,80 μm y 9,00 μm , y una media de 8,26 μm (Figura 1-20).

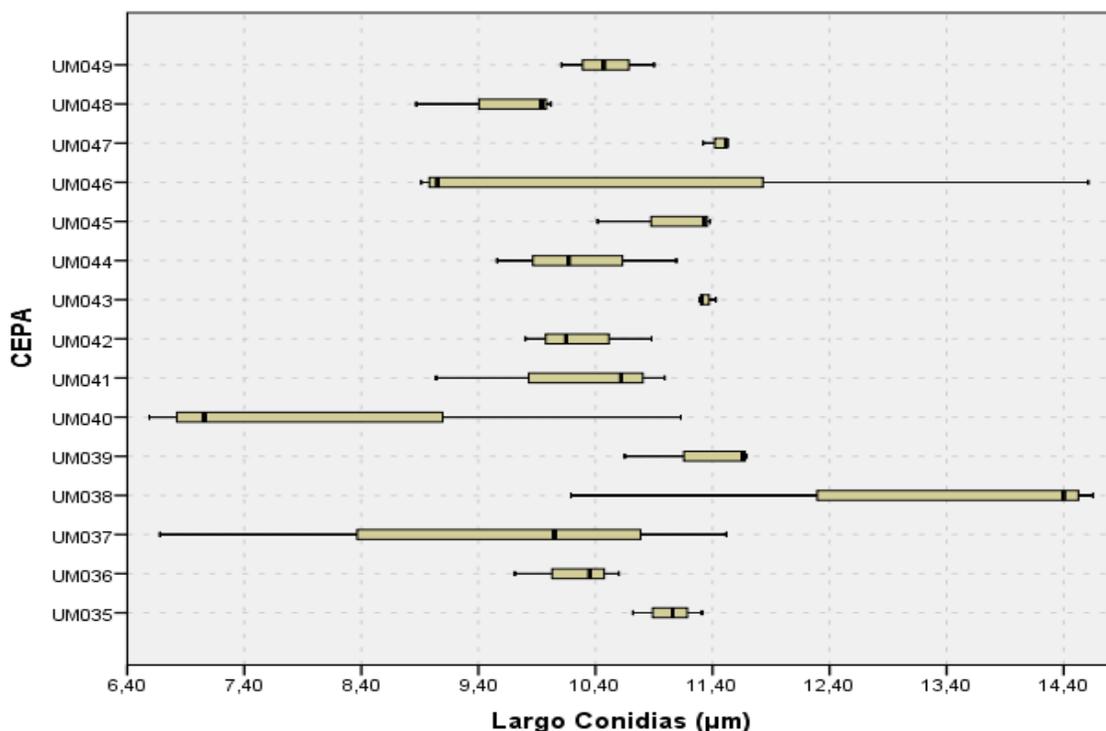


Figura 1-20. Largo de las conidias (μm) de *Colletotrichum* spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el largo de las conidias (μm), mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones

estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.

Dentro del estudio de la eficiencia biológica se analizó en un primer momento el porcentaje (%) de conidias sin germinar. El análisis de varianza (ANAVA) de una vía mostró diferencias estadísticamente significativas entre los 15 morfotipos estudiados, obteniendo un nivel de significancia bilateral de 0,000 ($P < 0,05$), a un 95% de confianza. Al analizar los valores de las medias queda en evidencia que el morfotipo UM 044 obtuvo el mayor promedio en cuanto al porcentaje de conidias sin germinar con una media de 83%, mientras que los morfotipos UM 039 y UM 047 obtuvieron el menor rango promedio con una media de 23% cada uno; de estos últimos el morfotipo UM 047 alcanza un rango intercuartílico entre 21% y 24%, que lo ubica por debajo del morfotipo UM 039. Por su parte, el morfotipo UM 049 evidencia valores atípicos bajos respecto de la media (Figura 1-21).

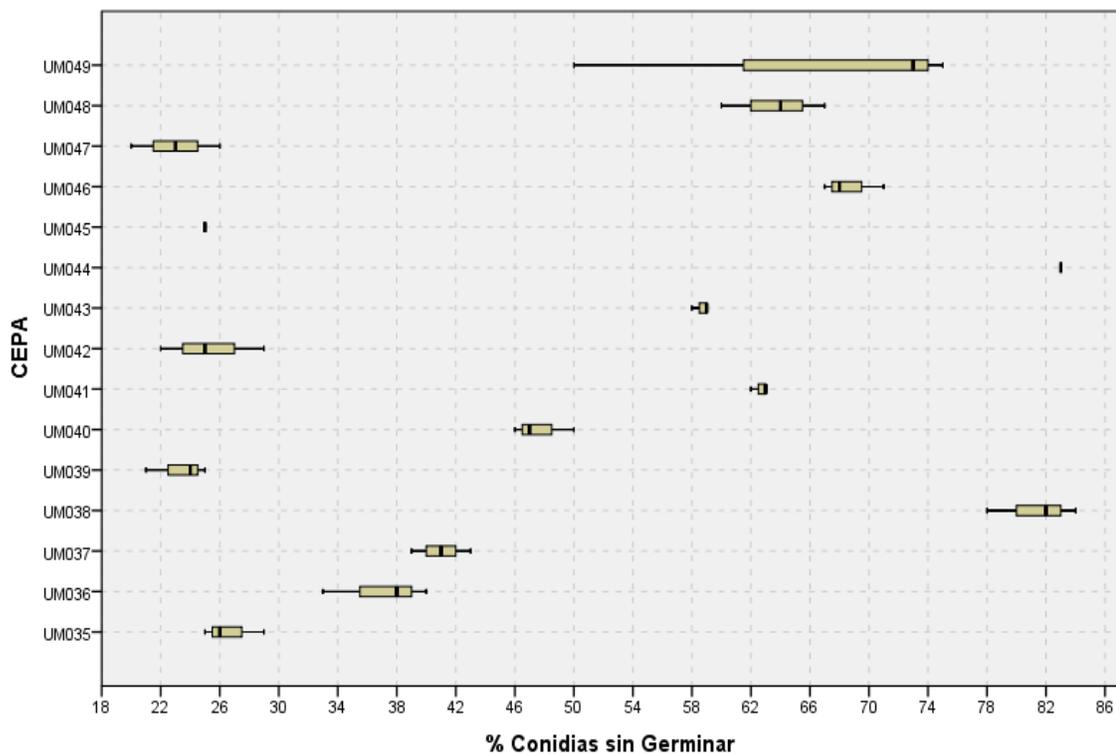


Figura 1-21. Porcentaje de conidias sin germinar de *Colletotrichum* spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el porcentaje (%) de conidias sin germinar, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de

las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.

Con la prueba de Tukey se observó la existencia de siete subgrupos con valores internos homogéneos entre sus cepas en cuanto al porcentaje (%) de conidias sin germinar. El subgrupo 1 ($P=0,999$), con un rango promedio de conidias sin germinar de 23,00% a 26,67%, está integrado por cinco morfotipos: UM 035, UM 039, UM 042, UM 045 y UM 047); el subgrupo 2 ($P=0,083$), con un rango promedio de conidias sin germinar de 25,00% a 37,00%, está integrado por cuatro morfotipos: UM 035, UM 036, UM 042 y UM 045. Respecto al subgrupo 3 ($P=0,183$), con un rango promedio de conidias sin germinar de 37,00% a 7,67%, está integrado por tres morfotipos: UM 036, UM 037 y UM 040; el subgrupo 4 ($P=0,152$), con un rango promedio de conidias sin germinar de 47,67% a 58,67%, está integrado por dos morfotipos: UM 040 y UM 043; el subgrupo 5 ($P=0,260$), con un rango promedio de conidias sin germinar de 58,67% y el 68,67%, está integrado por cinco morfotipos: UM 041, UM 043, UM 046, UM 048 y UM 049; el subgrupo 6 ($P=0,054$), con un rango promedio de conidias sin germinar de 68,67% a 81,33%, está integrado por dos morfotipos: UM 038 y UM 046; por último, el subgrupo 7 ($P= 1,000$), con un rango promedio de conidias sin germinar de 81,33% a 83,00%, está integrado por dos morfotipos (UM 038 y UM 044). De modo que el porcentaje de conidias sin germinar presenta una diferencia estadísticamente significativa representada por la presencia de siete subgrupos. El morfotipo de menor promedio de porcentaje de conidias sin germinar es el UM 047 con un valor de 23,00%, mientras que el morfotipo de mayor promedio de porcentaje de conidias sin germinar es el UM 044 con un valor de 83,00%.

En cuanto al comportamiento del porcentaje de conidias germinadas (%), el análisis de varianza (ANAVA) de una vía mostró diferencias estadísticamente significativas entre los 15 morfotipos estudiados, obteniendo un nivel de significancia bilateral de 0,000 ($P < 0,05$), a un 95% de confianza (Figura 1-2). Al analizar los valores de las medias puede observarse que el morfotipo UM 047 obtuvo el mayor porcentaje de conidias germinadas con un rango intercuartílico entre 55% y 57%, y una media de 55%; mientras que el morfotipo UM 042 obtuvo el menor porcentaje de conidias geminadas con una media de 0. En el morfotipo

UM 049 es en el que se evidencia valores atípicos bajos respecto de la media (Figura 1-22).

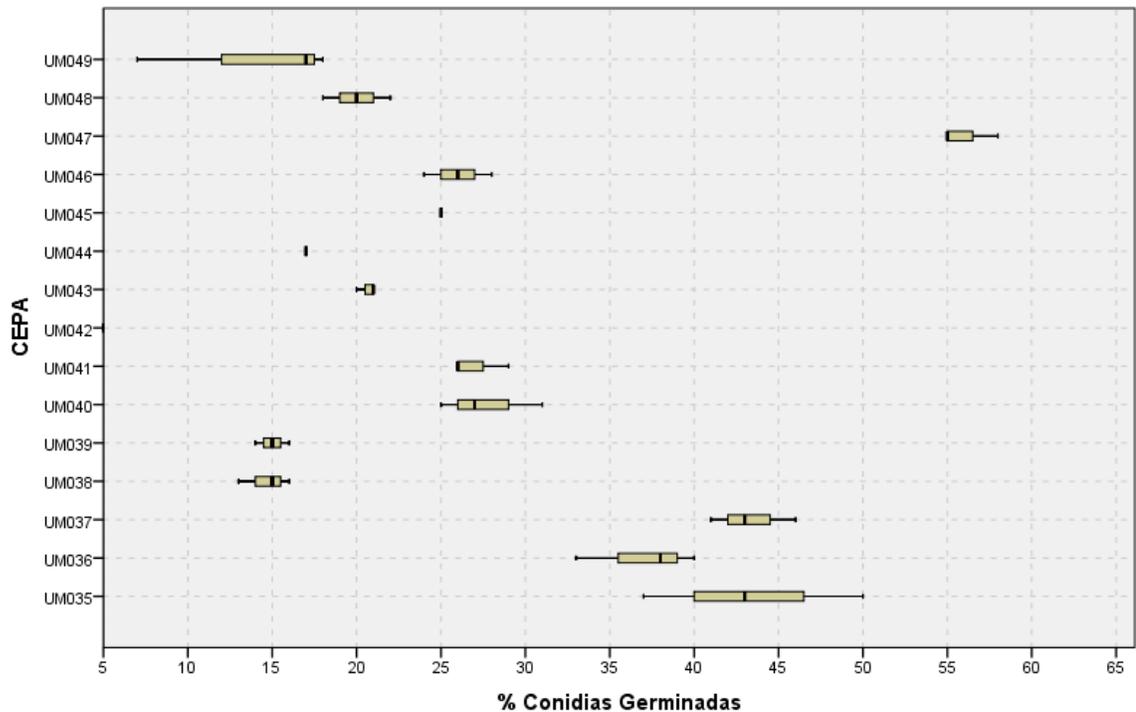


Figura 1-22. Porcentaje de conidias germinadas de *Colletotrichum* spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el porcentaje (%) de conidias germinadas, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.

Para este caso, la prueba de Tukey puso en evidencia la existencia de seis subgrupos con valores internos homogéneos entre sus cepas respecto al promedio de porcentaje de conidias germinada. El subgrupo 1 ($P=1,000$), con un promedio de conidias germinadas igual a 0, está integrado por el morfotipo UM 042; el subgrupo 2 ($P=0,289$), con un rango promedio de conidias germinadas de 14,00% a 20,67%, está integrado por seis morfotipos: UM 038, UM 039, UM 043, UM 044, UM 048 y UM 049; el subgrupo 3 ($P=0,097$), con un rango promedio de conidias germinadas de 17,00% a 25,00%, está integrado por cuatro morfotipos: UM 043, UM 044, UM 045 y UM 048; el subgrupo 4 ($P=0,131$), con un rango promedio de conidias germinadas de 20,00% a 27,67%, está integrado por seis morfotipos: UM 040, UM 041, UM 043, UM 045, UM 046 y UM 048; el subgrupo 5 ($P= 0,362$) y un

rango promedio de conidias germinadas de 37,00% a 43,33%, está integrado por tres morfotipos: UM 035, UM 036 y UM 037); por último, el subgrupo 6 ($P=1,000$), con un promedio de conidias germinadas de 56,00%, está integrado por el morfotipo UM 047.

De modo que el porcentaje de conidias germinadas presenta una diferencia estadísticamente significativa, representada por la presencia de seis subgrupos en los que en cada uno las cepas presentan valores homogéneos. El morfotipo de menor promedio de porcentaje de conidias germinadas es el UM 042 con un valor de 0%, mientras que el morfotipo de mayor promedio de porcentaje de conidias germinadas es el UM 047 con un valor de 56,00%.

En cuanto al comportamiento del porcentaje de Apresorios Formados (%), la prueba de Kruskal-Wallis mostró diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los porcentajes de apresorios formados, con un nivel de significancia bilateral de 0,000105 ($P < 0,05$), a un nivel del 95% de confianza (Figura 1-23).

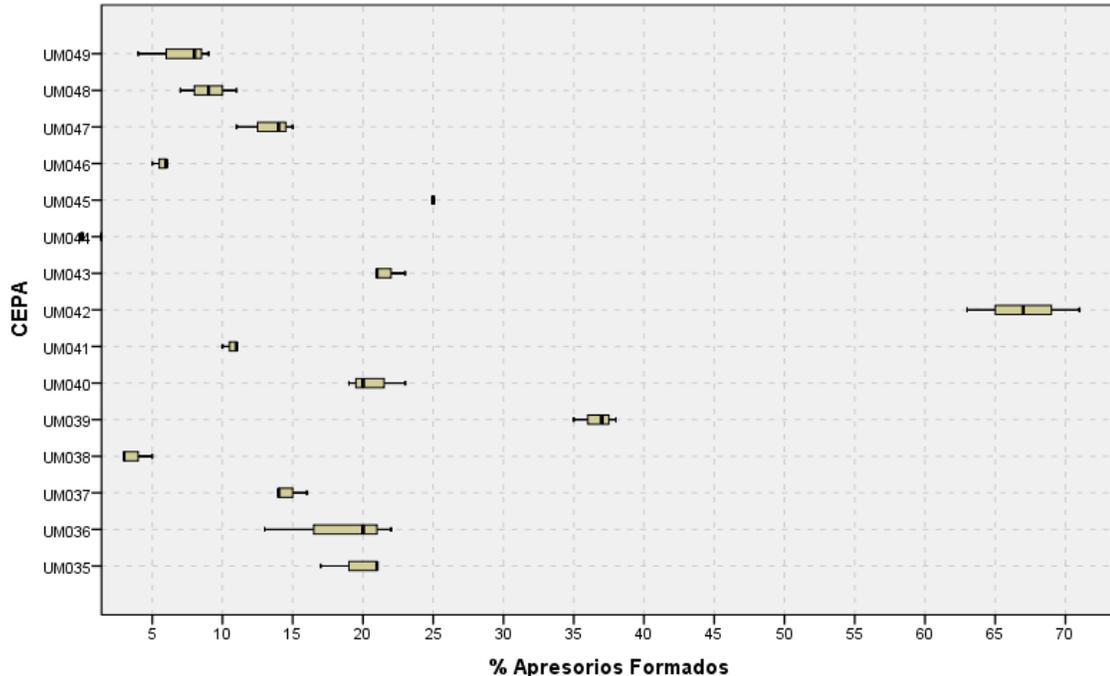


Figura 1-23. Porcentaje de apresorios formados de *Colletotrichum* spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el porcentaje (%) de apresorios formados, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de

las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de 95% de confianza.

Al analizar los valores de las medias se puede identificar que el morfotipo que mayor porcentaje obtuvo es el UM 042 con un rango cuartílico entre 65% y 68%, y una media de 67% de formación de apesorios, mientras que el morfotipo que menor porcentaje obtuvo fue el UM 044 con una media de 0 (Figura 1-23).

Frente al porcentaje de apesorios germinados (%), el análisis de varianza (ANOVA) de una vía mostró diferencias estadísticamente significativas entre los 15 morfotipos estudiados, obteniendo un nivel de significancia bilateral de 0,000148 ($P < 0,05$), a un 95% de confianza. Al analizar los valores de las medias se obtiene que los morfotipos UM 039 y UM 045 son los que mayor rango de porcentaje obtuvieron con una media de 25% para cada uno; sin embargo, el morfotipo UM 039 presenta un rango cuartílico mayor entre 24% y 26%. Por otra parte, fueron varios los morfotipos que obtuvieron un porcentaje menor con una media de 0 (UM 038, UM 041, UM 043, UM 044, UM 046 y UM 049). El morfotipo UM 049 presentó valores atípicos altos respecto de la media (Figura 1-24)

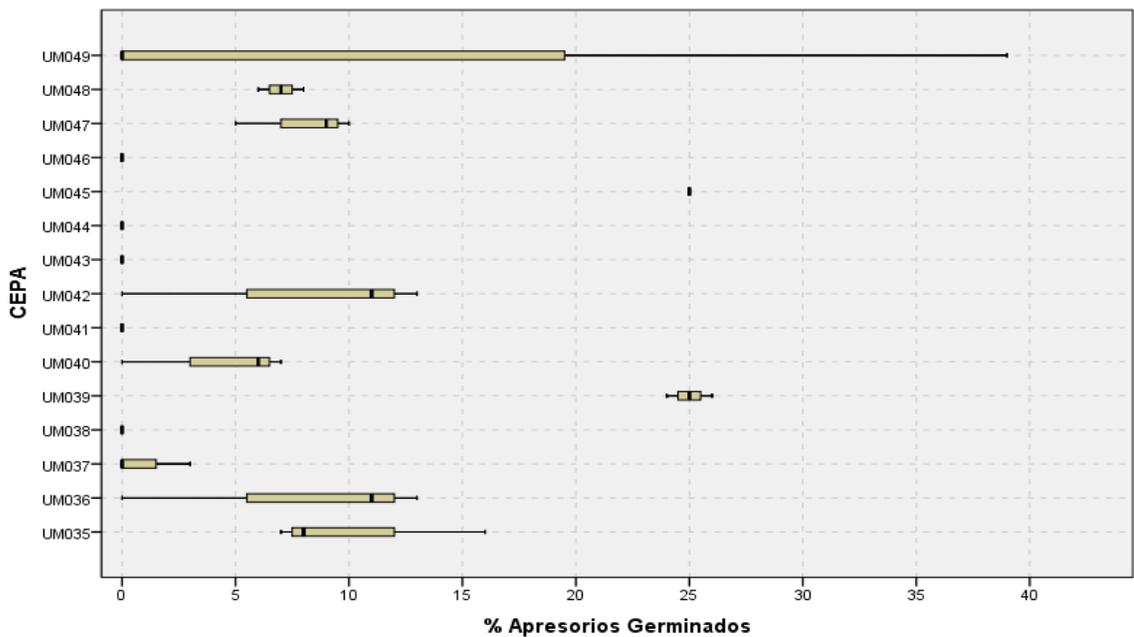


Figura 1-24. Porcentaje de apesorios germinados de *Colletotrichum* spp. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos según el porcentaje (%) de

apresorios germinados, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias de acuerdo con la prueba Kruskal -Wallis a un nivel de 95% de confianza.

En la prueba de Tukey se ha observado la existencia de dos subgrupos con valores internos homogéneos entre sus cepas respecto del promedio de porcentaje de ancho de las conidias. El subgrupo 1 ($P=0,527$), con un rango promedio de apresorios germinados de 0 a 13,00%, está integrado por 13 de los 15 morfotipos, excluyendo las cepas UM 039 y UM 045; el subgrupo 2 ($P=0,109$), con un rango promedio de apresorios germinados de 7,00% a 25,00%, está integrado por ocho morfotipos: UM 035, UM 036, UM 039, UM 042, UM 045, UM 047, UM 048 y UM 049. De modo que la diferencia estadísticamente significativa del porcentaje de apresorios formados puede representarse por la existencia de dos subgrupos de valores homogéneos. El morfotipo de menor promedio de porcentaje de apresorios germinados es el UM 038 con un valor de 0%, mientras que el morfotipo de mayor promedio de porcentaje de apresorios germinados es el UM 047 con un valor de 25,00%.

1.5 Discusión

La mayoría de las cepas presentaron textura algodonosa, lo cual fue similar a otros estudios realizados en mango (Gañán *et al.*, 2015; Valdés *et al.*, 2017), donde además, se describen colonias de tipo lanosa, harinosa o afelpada. En esta investigación se observaron pocas cepas con colonias granular (UM 040 y UM 041) o una mezcla entre algodonoso y granular (UM045). Cepas del hongo obtenidas de palma aceitera en los primeros días presentan colonias de textura lisa y en su madurez se tornan algodonosas (Domínguez *et al.*, 2014), similar a lo encontrado en la presente investigación.

La tasa de crecimiento micelial para los 15 morfotipos fueron similares, y oscilaron entre valores que fueron similares a los registrados por Quintero *et al.*, (2019) quienes encontraron que en hojas y ramas de mango la tasa de crecimiento micelial es de entre 8,5 mm/día y 9,1 mm/día. En este rango se establecieron los valores de la media de seis de los 15 morfotipos estudiados, y los que no se incluyen allí presentan, en su mayoría, valores cercanos. En aislamientos del hongo obtenidos de ñame se registraron valores

entre 5,0 y 12,1 mm/día (Pérez *et al.*, 2003), un rango de medida promedio en el que sí pueden ubicarse todos los morfotipos de este estudio a excepción del UM 042.

La densidad del inóculo presentó diferencias significativas entre los 15 morfotipos estudiados obteniendo concentración de conidias que va desde las 1×10^5 conidias/ml (UM 043) hasta las $8,189 \times 10^7$ conidias/ml (UM 044), datos contrastantes que indican que cada morfotipo o cepa presenta diferencias en su capacidad esporulativa. En estudios como los de Majumdar & Madal (2018) y Bersisa *et al.*, (2018) también se encontraron resultados contrastantes en cuanto a la densidad del inóculo; en el primero se registraron datos entre $17,99 \times 10^6$ y $33,30 \times 10^6$ conidias/ml, y en el segundo, valores entre 7.5×10^5 y 1.44×10^6 conidias/ml. Por su parte, otros estudios han arrojado datos con menor rango de variabilidad para esta medida (Yaling *et al.*, 2015; Mota *et al.*, 2016).

En el caso del tamaño de las conidias, donde se midió y analizó el largo y ancho de las estructuras por separado, se encontró que el nivel de variabilidad no fue significativo estadísticamente para la medida del largo, pero sí lo fue para la medida del ancho. Los valores de largo oscilaron entre 8,26 μm y 13,08 μm , mientras que el ancho varió entre 2,95 y 5,06 μm . Estos valores se diferencian relativamente a los reportados en otras investigaciones en mango con valores entre 11,03 y 15,9 μm de largo y entre 3 y 7,11 μm de ancho (Páez *et al.*, 2003; Pérez *et al.*, 2003); pero en otras especies de frutales, donde se registran valores de 8,39 y 8,83 μm de largo, hay cierta similitud en los resultados o por lo menos se ubican en un rango que abraza nuestro estudio (Granados & Guevara, 2010). Por su parte, Damm *et al.*, (2012a) indican en su investigación un rango de tamaño mucho más amplio de las conidias considerando distintas especies del hongo; para algunas de ellas, las medidas de largo varían entre 7 y 18 μm y el ancho entre 3 y 4,5 μm , similares a las reportadas en la presente investigación. Otras investigaciones similares reportan valores entre 13,5 y 14,2 μm de largo y entre 4 y 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 las variables biológicas, el porcentaje de conidias germinadas varió significativamente entre morfotipos, con valores entre el 0 y 56%; esta tendencia de variabilidad es similar a la que se ha encontrado en otras investigaciones, como la

señalada por Oliveira *et al.*, (2005) al registrar valores entre el 40% y el 90% con aislamientos obtenidos de olivos afectados por *Colletotrichum*. También se ha encontrado un menor porcentaje de apresorios formados con respecto a las conidias germinadas (Oliveira *et al.*, 2005), tal cual como se evidenció en la presente investigación.

1.6 Conclusiones

Durante la presente investigación se encontró que los aislamientos de *Colletotrichum* spp., presentan textura algodonosa, con anillos concéntricos irregulares, pero variables en su coloración, observando tonalidades que variaron entre blanco, bronce y amarillo crepúsculo.

Igualmente se pudo establecer que la eficiencia biológica de *Colletotrichum* spp., con base en la concentración de conidias o capacidad esporulativa, germinación de las conidias, y formación de los apresorios, varía según el aislamiento o morfotipo.

Entre las 15 cepas estudiadas se demostró que existen diferencias estadísticamente significativas para las variables medidas que incluyen tanto la eficiencia como las características biológicas y morfológicas. La excepción en la que no hubo una diferencia estadística significativa fue en el valor promedio de largo de conidias.

De esta manera se cumple con la hipótesis planteada: existe variabilidad morfométrica y de eficiencia biológica en las 15 morfoespecies analizadas

1.7 Recomendaciones

Se debe hacer análisis molecular y filogenético a partir de la secuenciación de genes diferenciales, que permita identificar si los morfotipos evaluados corresponden a diferentes

taxones del hongo y obtener información que permita rastrear las relaciones evolutivas de los diferentes morfotipos, de modo que pueda establecerse la razón de su variabilidad.

Capítulo 2. Evaluación de la capacidad patogénica de aislamientos endofíticos y quiescentes de *Colletotrichum* spp., sobre diferentes órganos de mango cv. Azúcar.

2.1 Resumen

Especies del género *Colletotrichum* pueden estar como endófitas, y además presentar quiescencia, constituyéndose en una fuente de inóculo oculta que ha sido poco estudiada, principalmente en el trópico seco. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad patogénica de 15 morfotipos de *Colletotrichum* spp., provenientes de mango cv. Azúcar, 14 endófitos-quiescentes obtenidos de estudios previos y uno más aislado de frutos sintomáticos sobre hojas y ramas de mango cv. Azúcar en el departamento del Magdalena. A partir de diferentes protocolos de obtención y purificación de aislamientos se obtuvieron cultivos monospóricos, a partir de los cuales se realizaron inoculaciones mediante atomización en hojas y ramas de árboles de mango cv. azúcar, utilizando 20 mL de inóculo a una concentración de 5×10^5 conidias/mL para cada morfotipo. Se realizó descripción de síntomas y se evaluaron variables biológicas. Los resultados en hojas mostraron que todos los morfotipos indujeron síntomas; sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. En ramas, hubo morfotipos no patogénicos, y los que si presentaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al número, tamaño y crecimiento diario de lesiones inducidas; en todos los casos el Periodo de Incubación (PI), fue de 8 días. Se concluyó que los aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* spp., son potencialmente infectivos sobre hojas y ramas; en hojas los

morfotipos tuvieron un comportamiento similar, mientras que el morfotipo UM 037 fue el más virulento en ramas, teniendo una mayor severidad dada por el número, tamaño y tasa de crecimiento de las lesiones. Estos resultados constituyen los primeros estudios de patogenicidad de endófitos de *Colletotrichum* spp., sobre hojas y ramas de mango cv. Azúcar en el trópico seco.

Palabras clave: *Colletotrichum* spp., morfotipos, hojas, ramas, patogenicidad, Periodo de incubación (PI), Mango cv. Azúcar.

2.2 Introducción

Especies del género *Colletotrichum* se caracterizan por presentar dos estados biológicos que le han permitido establecerse en sus hospedantes con total éxito, los cuales son el endofitismo y la etapa de quiescencia. Los hongos endófitos se han definido como habitantes del interior de las células de la planta hospedante sin causar daños aparentes (Wilson, 1995; Rodríguez *et al.*, 2009; Hardoim *et al.*, 2015; De Silva *et al.*, 2017), sin embargo, se han encontrado aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* spp., en mango que han mostrado capacidad para producir infecciones o daños (Vieira *et al.*, 2014; Quintero *et al.*, 2019). La quiescencia se define como el periodo de tiempo extendido en el ciclo de vida en el que el patógeno permanece latente dentro del huésped antes de pasar a una fase activa en la que el hongo crece y aparecen los síntomas siendo común en patógenos que producen enfermedades en la postcosecha de frutas y verduras, en el almacenamiento y transportes de los mismos (Prusky *et al.*, 2013; De Silva *et al.*, 2017).

Se han realizado diferentes estudios para determinar la patogenicidad de *Colletotrichum* spp., como los realizados por Valdés *et al.*, (2017) quienes evaluaron la capacidad infecciosa de 22 aislamientos obtenidos de muestras vegetales con síntomas de Antracnosis y realizaron inoculaciones en hojas de plantas de mango de las variedades Haden, Filipino, Señora y Keitt, encontrando que las variedades estudiadas son susceptibles al hongo. Li *et al.*, (2019) evaluaron la patogenicidad de 200 aislamientos obtenidos de plantas de las principales zonas productoras de mango al sur de China, identificando un total de 13 especies diferentes de *Colletotrichum*, a las cuales se les

realizaron pruebas de patogenicidad en hojas y frutos de mango cv. Tainong, los cuales se hirieron artificialmente, obteniendo infecciones en los órganos inoculados. Leharwan *et al.*, (2018) realizaron pruebas de patogenicidad de aislamientos obtenidos de hojas y frutos de mango de la variedad susceptible Dashehari en la CCS Haryana Agricultural University, ubicado en la India, y realizaron inoculaciones sobre hojas y frutos, obteniendo infecciones idénticas a las observadas en campo. Tovar *et al.*, (2019) hicieron muestreos en 59 huertos comerciales de los principales estados productores de mango en México y obtuvieron 118 aislamientos de *Colletotrichum* spp., de hojas, ramas y frutos que presentaban síntomas típicos de Antracnosis, realizaron pruebas de patogenicidad sobre frutos de mango variedad Manila, y obtuvieron como resultado que los aislamientos indujeron infecciones sobre la fruta. Mo *et al.*, (2018) en sus estudios de identificación y caracterización de *Colletotrichum* spp., asociadas a mango recolectaron hojas con síntomas de Antracnosis de 25 huertos en diferentes áreas de la provincia de Guangxi, China, de los cuales obtuvieron 75 aislamientos y realizaron pruebas de patogenicidad *in vitro* sobre hojas y frutos de mango variedad Tainong, mostrando que todos los aislamientos fueron patogénicos sobre los órganos inoculados. Vieira *et al.*, (2014) en su trabajo sobre especies endofíticas asociadas con Antracnosis en mango en cinco lugares del estado de Pernambuco (noreste de Brasil) realizaron muestreos de hojas jóvenes y maduras, tallos e inflorescencias y encontraron como endófitos seis especies reconocidas de *Colletotrichum* y una nueva especie propuesta; las pruebas de patogenicidad en frutos de mango cv. Tommy Atkins mostraron que todas las especies indujeron lesiones en los frutos, pero se diferenciaban en su virulencia. Abera *et al.*, (2016) realizaron un estudio en el suroeste de Etiopía en el que recolectaron muestras de panículas, hojas y frutos de mango infectados por *Colletotrichum* spp., de los cuales se obtuvieron ocho aislamientos los cuales fueron inoculados en frutos desprendidos y hojas de mango variedad Kent en condiciones de laboratorio, dando como resultado que todos los aislamiento evaluados causaron las lesiones típicas de la enfermedad, sin embargo algunos aislamientos provocaron lesiones más extensas que otras. Rivera *et al.*, (2006) realizaron un extenso estudio sobre Antracnosis en siete lugares de occidente, centro y oriente de Florida, EE.UU. y cinco lugares del occidente y sur de Puerto Rico, en el que realizaron aislamientos de tejidos de mango sintomáticos y se obtuvieron 110 aislamientos de *Colletotrichum*, los cuales fueron inoculados en hojas desprendidas de mango variedad

Keitt en condiciones in vitro, cuyo resultado mostró que el 100% de los aislados eran patogénicos en las hojas de mango. Wu *et al.*, (2020) recolectaron frutos, tallos y pedicelos de plantas de mango sanas y enfermas en 33 áreas diferentes en Taiwán, en donde encontraron cinco especies de *Colletotrichum* (*C. asianum*, *C. fructicola*, *C. siamense*, *C. tropicale*, y *C. scovillei*); al inocular hojas y frutos desprendidos del cv. Irwin mediante heridas con agujas estériles, se verificó la patogenicidad de las cinco especies, a excepción de *C. tropicale* que no indujo síntomas en hojas. Quintero *et al.*, (2019) en su trabajo sobre aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* spp., en mango cv. Azúcar, realizaron muestreos de hojas y ramas asintomáticas y obtuvieron nueve aislamientos endofíticos, los cuales fueron inoculados en frutos desprendidos del cv. y se encontró que todos indujeron lesiones, pero presentaron una virulencia variada, y el aislamiento más virulento fue identificado como *C. tropicale*, siendo el primer reporte de dicha especie en Colombia. Páez (2020) en sus estudios sobre biología y manejo de estados quiescentes de *Colletotrichum* spp., en mango cv. Azúcar obtuvo aislamientos endofíticos-quiescentes de flores y frutos, los cuales se seleccionaron ocho morfotipos por patogenicidad constante y fueron inoculados en frutos de mango cv. Azúcar y se encontró que indujeron lesiones, con virulencia variada, identificadas como *C. gloeosporioides*, *C. asianum*, *C. karstii* y *C. tropicale*.

Por otro lado, entre los síntomas más comunes inducidos por este patógeno se observan manchas hundidas de colores oscuros en todas las partes de las plantas: hojas, tallos, flores o frutos. De manera que la principal consecuencia es la muerte de los tejidos (Velázquez *et al.*, 2018). En otras circunstancias puede ocasionar la caída prematura de hojas jóvenes; en jardines clonales o en plantaciones en viveros puede reducir el crecimiento de las plantas; y en árboles adultos se presenta una sucesiva debilidad en las plantas que puede conducir a la muerte. En estos últimos se ha detectado, en los casos en que no se presenta la muerte, destrucción sistemática de hojas nuevas causadas por la re-infección durante periodos de mayor humedad. Se disminuye considerablemente la densidad foliar ocasionando la muerte descendente de las plantas (Castro *et al.*, 2020).

En concordancia con lo anteriormente expuesto y teniendo en cuenta que son escasos los estudios sobre la patogenicidad de *Colletotrichum* spp., en el trópico seco se plantea la siguiente hipótesis de investigación: los aislamientos endofíticos-quiescentes de

Colletotrichum spp., inducen lesiones en hojas y ramas de mango cv. Azúcar. Es importante entender cómo es la capacidad infectiva de éste patógeno debido a que existen aislamientos que no expresan síntomas o daño alguno (endofíticos – quiescentes) y pueden volverse patogénicos en periodos que no coinciden con la madurez fisiológica del fruto o con eventos climáticos que propicien el desarrollo de la enfermedad.

El presente capítulo tiene como objetivo evaluar la capacidad patogénica de aislamientos endofíticos-quiescentes del hongo sobre hojas y ramas del árbol mediante la inoculación de morfotipos de *Colletotrichum* spp., previamente caracterizados. Esta investigación permitirá aportar conocimientos valiosos para entender cómo es el proceso infectivo del hongo en condiciones propias del cultivo de mango en el departamento del Magdalena, y así replantear las estrategias de manejo de la Antracnosis en mango cv. Azúcar en el departamento.

2.3 Materiales y métodos

2.3.1 Preparación del inóculo

Los inóculos de los 15 morfotipos se obtuvieron a partir de cultivos monospóricos de 10 días de crecimiento para garantizar una mayor esporulación. En una cámara de flujo laminar marca Streamline® y bajo condiciones de asepsia se vertieron 20 mL de agua destilada estéril a un plato con crecimiento micelial de cada una de las cepas seleccionadas y con la ayuda de un rastrillo plástico se removió el crecimiento micelial con el fin de que la solución quedara totalmente homogénea; posterior a esto, con la ayuda de gasa clínica estéril se filtraron las soluciones de los aislamientos, y se depositaron en tubos de ensayo de 20 mL. Los tubos preparados se centrifugaron durante 5 minutos a 3000 rpm. Luego del proceso de centrifugación se eliminó el sobrenadante y en el fondo de los tubos quedó la concentración de conidias, a las cuales se les añadió nuevamente 20 mL de agua destilada estéril y a partir de ésta solución de conidias se hizo el ajuste de concentración de todos los inóculos a 5×10^5 conidias/mL de acuerdo a la metodología de

Quintero *et al.*, (2019) y Páez (2020); el ajuste se realizó con la ayuda de la cámara de Neubauer en el que se hizo el conteo de conidias con la ayuda de un microscopio Leica ICC50. Una vez obtenidas las respectivas concentraciones, las soluciones madres se vertieron en un atomizador estéril de 20 mL para realizar las inoculaciones en plantas.

2.3.2 Inoculaciones de *Colletotrichum* spp., en hojas y ramas de mango cv. Azúcar

Para las inoculaciones se utilizaron 10 plantas de mango cv. Azúcar de 24 meses de edad más un árbol control, obtenidos de un vivero certificado ante el ICA. Los árboles tenían 1 metro de altura y en estado fenológico vegetativo, con un buen crecimiento foliar y desarrollo de ramas, y se realizando labores de riego con agua potable marca Cristal® y limpieza de malezas en el sitio de ubicación. Se seleccionaron 10 plantas para inocularlas y una más fue usada como control (testigo negativo); las inoculaciones se realizaron bajo casa malla ubicada en el Centro de Desarrollo Agrícola y Forestal de la Universidad del Magdalena en condiciones propias de bosque seco tropical, con atomizadores de 20 mL que contenían las soluciones de conidias a una concentración de 5×10^5 conidias/ mL para todos los morfotipos a inocular; se realizaron atomizaciones al haz y envés de las hojas y ramas seleccionadas, manteniendo agitado el recipiente para mantener las conidias dispersas, de tal manera que la suspensión quedara en forma de rocío cubriendo hojas y ramas (Figura 2-1). La planta control (testigo negativo) fue inoculada con 20 mL de agua destilada estéril (ADE) con la ayuda de un atomizador y estuvo bajo las mismas condiciones que las plantas inoculadas con la suspensión de conidias.



Figura 2-1. Inoculaciones sobre hojas y ramas de aislamientos de *Colletotrichum* spp., con atomizador. Imagen: Mercado, 2019.

Posteriormente, las ramas con sus hojas fueron cubiertas con bolsas plásticas transparentes estériles, que se sellaron al amarrar su apertura con cuerdas ajustadas a las ramas como se observa en la Figura 2-2, creando condiciones similares a una cámara húmeda al colocar motas de algodón humedecidas al interior de estas. Las bolsas se rotularon con los nombres de los morfotipos y se mantuvieron selladas durante 16 días, realizándose seguimiento diario de las plantas inoculadas con el fin de verificar la aparición de los síntomas y que las motas de algodón se mantuviesen húmedas. La temperatura promedio en la casa malla fue de 34 °C, mientras que la humedad relativa promedio fue del 43 %, dichos valores promedio se obtuvieron mediante lecturas diarias, tres veces al día, con la ayuda de un Termohigrómetro marca Extech.



Figura 2-2. Hojas y ramas cubiertas con bolsas plásticas y selladas con cuerdas, después de ser inoculadas con aislamientos de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

2.3.3 Variables evaluadas y seguimiento

Posterior a las inoculaciones en hojas y ramas, mediante observación diaria durante 16 días, se hizo descripción de los síntomas con base en lo descrito en la literatura sobre síntomas producidos por *Colletotrichum* spp., en mango. Se registraron variables biológicas como número de lesiones, tamaño de las lesiones (mm) y tasa de crecimiento diaria de las lesiones inducidas (mm/día) tanto en hojas como en ramas; en el caso de hojas, en cada árbol se seleccionaron tres hojas y a cada una se le hizo el seguimiento de las variables biológicas y en el caso de ramas, se seleccionó una rama en cada árbol que contenía las hojas inoculadas, de aproximadamente 15 cm y se dividió en tres secciones y en cada una de las secciones se hizo seguimiento de las variables anteriormente mencionadas para cada morfotipo inoculado. En cuanto al número de

lesiones, se cuantificaron la cantidad de estas en las tres hojas seleccionadas y en ramas se cuantificó en cada sección, 16 días después de las inoculaciones. Para el tamaño de las lesiones inducidas, en cada una de las tres hojas se seleccionaron tres de estas y se midieron en dos direcciones perpendiculares con la ayuda de un pie de rey y con ello se obtuvo el tamaño en milímetros (mm); las mediciones se hicieron desde el día 8 hasta el día 16, cada dos días. Para el caso de la tasa de crecimiento diaria, de cada lesión seleccionada por en hojas y ramas se calculó dicha variable mediante la siguiente fórmula matemática: $(TLUD-TLPD)/TD$, donde: TLUD (tamaño de lesiones del último día que se valoraron hojas y ramas), TLPD (tamaño de lesiones del primer día que aparecieron los síntomas) y TD (total de días que se hizo el seguimiento de las mediciones en hojas y ramas, desde el primer día que emergieron las lesiones hasta el último día de evaluación). A partir del registro y seguimiento de las lesiones, se obtuvo el periodo de incubación (PI) y periodo de latencia (PL).

2.3.4 Análisis estadístico

La patogenicidad de las cepas o morfotipos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum* spp., en hojas y ramas se evaluó mediante un diseño de efectos fijos con tres repeticiones y 11 árboles como unidad experimental, en los cuales se usaron 20 mL de inóculo a una concentración de 5×10^5 conidias/mL por cada morfotipo. El control correspondió a un árbol inoculado con 20 mL de ADE. De cada árbol se seleccionaron tres hojas y una rama para inocular cada morfotipo; en cada hoja se seleccionaron tres lesiones y se evaluó el número, tamaño y tasa de crecimiento diaria de lesiones inducidas. En ramas, se dividió cada rama en tres secciones y en cada sección se evaluaron el número, tamaño y tasa de crecimiento diaria de las lesiones para cada morfotipo. Debido al no cumplimiento de los supuestos de normalidad, homogeneidad de la varianza e independencia de errores en los datos analizados en hojas, se hizo un análisis estadístico no paramétrico (Kruskal-Wallis) con un nivel del 95% de confianza; en ramas el experimento se analizó mediante ANAVA de una vía, y se realizó comparación de medias mediante el procedimiento de diferencia honestamente significativa de Tukey a un nivel de confianza del 95%. Se usó el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI-Versión 16.1.18 (32-bits) 2012.

2.4 Resultados

2.4.1 Descripción de síntomas de *Colletotrichum* spp., en hojas inoculadas

En las 10 plantas inoculadas con las soluciones de conidias se encontró que todos los morfotipos (100%) causaron infecciones en las hojas inoculadas (Tabla 2-1), lo cual se evidenció por los síntomas inducidos, a diferencia de las hojas del control negativo que no presentaron ningún tipo de lesión. Se presentaron los síntomas característicos de Antracnosis en hojas adultas (Figura 2-3). Inicialmente se visibilizaron pequeños puntos de color negro a marrón, de forma circular, los cuales fueron visibles por el haz y envés de la lámina foliar, siendo más notorios en los bordes de las hojas (Figuras 2-3 y 2-4); también se observó estos síntomas en algunas nervaduras. A medida que fueron creciendo las lesiones correspondieron a manchas foliares de diferentes formas, desde ovoides y redondas con bordes definidos y delimitado por halo clorótico (Figura 2-5), hasta lesiones alargadas o elípticas (Figura 2-6) que en ocasiones eran deprimidas en la superficie de la hoja, similar a un tipo de Antracnosis foliar, que podría afectar las nervaduras (Figura 2-7). Una etapa más avanzada, correspondió a lesiones que presentaron centro cenizo debido a la necrosis completa del tejido afectado, delimitado por bordes color negro a marrón y halo clorótico, en el que se marcaba notoriamente las zonas de avance del daño ocasionado por el hongo (Figuras 2-8 y 2-9), Finalmente, las lesiones coalescieron y formaron áreas más grandes y de aspecto irregular similar a un añublo foliar (Figura 2-10). En las hojas que emergieron después de la inoculación, se observó deformación de las mismas, debido al encrespamiento de los bordes y enrollamiento hacia el haz, acompañado de necrosis de bordes y áreas irregulares desde la nervadura central hasta los bordes de las hojas (Figura 2-11).

Tabla 2-1. Descripción de síntomas inducidos por morfotipos de *Colletotrichum* spp., en hojas de mango cv. Azúcar.

Morfotipos	Etapa inicial /Avanzada			
	Nervaduras	Bordes de lesiones	Forma de lesión (lámina foliar)	Color (centro de la lesión)
UM 035	Lesiones circulares	Color negro, irregular	Ovoide	Gris o cenizo
UM 036	Lesiones circulares	Halo clorótico, regular	Ovoide	Negro
UM 037	-	Color negro, regular	Alargada	Negro
UM 038	-	Color negro, irregular	Ovoide	Marrón claro
UM 039	Lesiones alargadas	Color negro, irregular	Alargada	Marrón claro
UM 040	-	Color negro, regular	Circular	Gris o cenizo
UM 041	Lesiones circulares	Color negro a marrón, irregular	Circular	Marrón oscuro
UM 042	Lesiones circulares	Color negro a marrón, irregular	Irregular	Marrón claro
UM 043	-	Color negro, regular	Ovoide	Negro
UM 044	Lesiones alargadas	Halo clorótico, regular	Alargada	Marrón claro
UM 045	-	Halo clorótico, regular	Ovoide	Marrón claro
UM 046	Lesiones circulares	Color negro, regular	Alargada	Negro
UM 047	Lesiones alargadas	Halo clorótico-color negro, irregular	Ovoide	Gris o cenizo
UM 048	-	Color negro, regular	Alargada	Marrón claro
UM 049	-	Halo clorótico, regular	Alargada	Marrón claro
CONTROL	-	-	-	-

Nota: El símbolo “-” indica que no se presentaron lesiones.

En cuanto al periodo de incubación (PI), éste se dio a los 8 días en todos los tratamientos, a excepción de la planta testigo o control inoculado con agua destilada estéril, en la que no se encontraron síntomas de la enfermedad (Figura 2-12).

No se evidenció formación de acérvulos u otros signos sobre las lesiones, por lo cual no fue posible definir el periodo de latencia (PL) en esta investigación.



Figura 2-3. Lesiones en hojas maduras inducidas por el morfotipo UM 035 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.



Figura 2-4. Síntomas iniciales en forma de puntos circulares oscuros, ocasionados por el morfotipo UM 041 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.



Figura 2-5. Lesiones con forma ovoide y halo clorótico, inducidas por el morfotipo UM 036 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.



Figura 2-6. Lesiones alargadas o elípticas inducidas por el morfotipo UM 048 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.



Figura 2-7. Lesiones alargadas tipo Antracnosis foliar, en ocasiones afectando las nervaduras, inducidas por el morfotipo UM 039 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.



Figura 2-8. Lesiones con centro cenizo y bordes oscuros, inducidas por el morfotipo UM 040 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.



Figura 2-9. Lesiones con centro cenizo, bordes oscuros y halo, inducidas por el morfotipo UM 047 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.



Figura 2-10. Lesiones coalescentes formando área irregular similar a un añublo, inducido por el morfotipo UM 042 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.



Figura 2-11. Deformaciones y necrosis en hojas jóvenes, inducidas por el morfotipo UM 049 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.



Figura 2-12. Planta control, inoculada con agua destilada estéril, sin síntomas de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

2.4.2 Descripción de síntomas de *Colletotrichum* spp., en ramas inoculadas

En las inoculaciones en ramas se encontró que solo 10 morfotipos inoculados (67%) indujeron lesiones en las ramas de plantas inoculadas; las cepas UM 038, UM 042, UM 044, UM 046 y UM 049 no indujeron síntomas en ramas, al igual que la planta inoculada con sólo agua destilada estéril (Control negativo).

Se presentaron dos tipos de síntomas en las ramas (Tabla 2-2). El primero correspondió a lesiones corchosas o suberosas, similar a roñas, de color marrón a negro, alargadas y de tamaños variables, con halos cloróticos de forma irregular (Figura 2-13). El segundo tipo de síntoma se caracterizó por presentar chancros, tipo de lesión necrótica, de color

negro a marrón oscuro, de forma circular a alargada con un halo clorótico difuso (Figura 2-14).

El periodo de incubación (PI) de los síntomas en ramas fue de 8 días al igual que en las hojas. Igual como en hojas, no se evidenciaron signos del hongo, no determinándose el periodo de latencia (PL).

Tabla 2-2. Descripción de síntomas inducidos por morfotipos de *Colletotrichum* spp., en ramas de mango cv. Azúcar.

Morfotipos	Etapa inicial /Avanzada			
	Apariencia	Bordes de lesiones	Forma de lesión	Color (centro de la lesión)
UM 035	Corchosa o roña	Color marrón, irregulares	Alargadas	Marrón oscuro
UM 036	Manchas necróticas	Halo clorótico difuso, irregular	Circulares	Negro
UM 037	Corchosa o roña	Color marrón, irregulares	Alargadas	Marrón oscuro
UM 038	-	-	-	-
UM 039	Manchas necróticas	Halo clorótico difuso, irregular	Circulares	Negro
UM 040	Corchosa o roña	Color marrón, irregulares	Alargadas	Marrón oscuro
UM 041	Corchosa o roña	Color marrón, irregulares	Alargadas	Marrón oscuro
UM 042	-	-	-	-
UM 043	Manchas necróticas	Halo clorótico difuso, irregular	Circulares	Negro
UM 044	-	-	-	-
UM 045	Chancro	Negro, irregular	Alargadas	Negro
UM 046	-	-	-	-
UM 047	Chancro	Negro, irregular	Circular	Negro
UM 048	Manchas necróticas	Halo clorótico difuso, irregular	Circulares	Negro
UM 049	-	-	-	-
CONTROL	-	-	-	-

Nota: El símbolo “-” indica que no se presentaron lesiones.



Figura 2-13. Roñas o costras en ramas, inducidas por el morfotipo UM 037 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.



Figura 2-14. Chancro inducido por el morfotipo UM 045 de *Colletotrichum* spp. Imagen: Mercado, 2019.

2.4.3 Registro de las mediciones de variables evaluadas

Para el caso de número de lesiones en hojas y ramas se encontró que en hojas el morfotipo UM 049 registró el mayor promedio (22 lesiones por hoja) , cuyos rangos oscilaron entre 3 a 45 lesiones por hoja , mientras que el morfotipo UM 038 registró el menor promedio (2 lesiones), cuya cantidad osciló entre 1 a 4 lesiones . En el caso de ramas, El morfotipo UM 037 registró el mayor promedio (5,33 lesiones por rama) con valores que oscilaron entre 3 a 9 lesiones, mientras que los morfotipos UM 038, UM 042, UM 044, UM 046 y UM 049 no presentaron lesiones, al igual que el control (Tabla 2-3).

Tabla 2-3. Promedios de número de lesiones inducidas por morfotipo de *Colletotrichum* spp. en hojas y ramas de mango cv. Azúcar.

Morfotipo	Numero de lesiones inducidas en hojas	Numero de lesiones inducidas en ramas
UM 035	5,33 (3 - 10)	1,33 (1 - 2)
UM 036	3,66 (1 - 6)	1 (1 - 1)
UM 037	4 (2 - 6)	5,33 (3 - 9)
UM 038	2 (1 - 4)	0 0
UM 039	5,33 (1-13)	1,33 (1 - 2)
UM 040	8,33 (1 - 15)	1,33 (1 - 2)
UM 041	13,66 (3 - 32)	2,66 (1 - 5)
UM 042	9,33 (7 - 12)	0 0

Tabla 2-3: (Continuación)

Morfotipo	Numero de lesiones inducidas en hojas	Numero de lesiones inducidas en ramas
UM 043	8 (3 - 17)	2,66 (1 - 5)
UM 044	9,33 (3 - 20)	0 0
UM 045	6,66 (4 - 9)	2 (1 - 4)
UM 046	12,33 (11 - 13)	0 0
UM 047	3 (1 - 6)	1,33 (1 - 2)
UM 048	6,66 (5 - 10)	2,66 (1 - 4)
UM 049	22 (3 - 45)	0 0
CONTROL	0 0	0 0

Para el caso de tamaño de lesiones en hojas y ramas se encontró que en hojas el morfotipo UM 048 registró el mayor promedio (6,99 mm), cuyos tamaños oscilaron entre 3 a 11, 83 mm, mientras que el morfotipo UM 043 registró el menor promedio (2,33 mm), dichos tamaños oscilaron entre 2 a 3 mm. En el caso de ramas, El morfotipo UM 037 registró el mayor promedio (10 mm) con tamaños que oscilaron entre 3 a 15 mm, mientras que los morfotipos UM 038, UM 042, UM 044, UM 046 y UM 049 no presentaron lesiones, al igual que el control (Tabla 2-4).

Tabla 2-4. Promedios de tamaño de lesiones inducidas por morfotipo de *Colletotrichum* spp., en hojas y ramas de mango cv. Azúcar

Morfotipo	Tamaño de lesiones inducidas en hojas (mm)	Tamaño de lesiones inducidas en ramas (mm)
UM 035	5 (2,25 - 8,25)	3,33 (3 - 4)
UM 036	4,1 (3,66 - 4,33)	1,66 (1,5 - 2)
UM 037	2,5 (2,25 - 3)	10 (3 - 15)
UM 038	5,83 (2,25 - 12)	0 0
UM 039	4,45 (3,35 - 6,66)	4,55 (1,15 - 7)
UM 040	3,55 (3 - 3,83)	2,26 (1,2 - 3,5)
UM 041	3,38 (1,83 - 5,5)	2,86 (1,05 - 5,5)
UM 042	5,08 (2 - 11)	0 0
UM 043	2,33 (2 - 3)	2,23 (1,55 - 3,1)
UM 044	4,38 (3,83 - 4,83)	0 0
UM 045	4,1 (3,3 - 4,86)	2,55 (1,05 - 5,5)
UM 046	6,83 (4,33 - 9,16)	0 0
UM 047	6,05 (4,5 - 7,5)	3 (2 - 3,5)
UM 048	6,99 (3 - 11,83)	2,83 (2 - 3,5)

Tabla 2-4. (Continuación):

Morfotipo	Tamaño de lesiones inducidas en hojas (mm)	Tamaño de lesiones inducidas en ramas (mm)
UM 049	6,5 (3 - 11)	0 0
CONTROL	0 0	0 0

En la tasa de crecimiento diaria de lesiones en hojas y ramas se encontró que en hojas el morfotipo UM 048 registró el mayor promedio (0,40 mm/día), cuya tasa osciló entre 0,08 a 0,95 mm/día, mientras que el morfotipo UM 043 registró el menor promedio (0,06 mm/día) con valores que oscilaron entre 0,02 a 0,09 mm/día. En el caso de ramas, El morfotipo UM 037 registró el mayor promedio (0,45 mm/día) , con valores que oscilaron entre 0,18 a 0,75 mm/día, mientras que los morfotipos UM 038, UM 042, UM 044, UM 046 y UM 049 no presentaron lesiones, al igual que el control (Tabla 2-5).

Tabla 2-5. Promedios de tasa de crecimiento diaria de lesiones inducidas por morfotipo de *Colletotrichum* spp., en hojas y ramas de mango cv. Azúcar.

Morfotipo	Tasa de crecimiento de lesiones en hojas (mm/día)	Tasa de crecimiento de lesiones en ramas (mm/día)
UM 035	0,16 (0,15 - 0,16)	0,14 (0,06 - 0,25)
UM 036	0,34 (0,33 - 0,35)	0,08 (0,06 - 0,09)
UM 037	0,18 (0,12 - 0,25)	0,45 (0,18 - 0,75)
UM 038	0,2 (0,09 - 0,28)	0 0
UM 039	0,12 (0,10 - 0,16)	0,25 (0,01 - 0,56)
UM 040	0,11 (0,08 - 0,14)	0,05 (0,01 - 0,012)

Tabla 2-5. (Continuación):

Morfotipo	Tasa de crecimiento de lesiones en hojas (mm/día)	Tasa de crecimiento de lesiones en ramas (mm/día)
UM 041	0,08 (0,06 - 0,10)	0,15 (0,006 - 0,43)
UM 042	0,13 (0,02 - 0,29)	0 0
UM 043	0,06 (0,02 - 0,09)	0,008 (0,006 - 0,01)
UM 044	0,21 (0,14 - 0,28)	0 0
UM 045	0,14 (0,02 - 0,22)	0,19 (0,006 - 0,56)
UM 046	0,12 (0,10 - 0,12)	0 0
UM 047	0,29 (0,18 - 0,48)	0,2 (0,12 - 0,25)
UM 048	0,4 (0,08 - 0,95)	0,14 (0,06 - 0,18)
UM 049	0,36 (0,12 - 0,59)	0 0
CONTROL	0 0	0 0

2.4.4 Patogenicidad de morfotipos de *Colletotrichum* spp., en hojas de mango cv. Azúcar

Los datos correspondientes al control fueron excluidos del análisis en hojas debido a que fueron valores cero, ya que no se encontró ningún efecto y para evitar alteraciones se omitieron. En cuanto al número de lesiones inducidas en hojas, la prueba de Kruskal-Wallis mostró que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de los morfotipos inoculados ($p= 0,3322$) a un nivel del 95% de confianza. No obstante, al

analizar los valores de las medianas, se evidenció que el morfotipo que tuvo un mayor rango promedio en cuanto al número de lesiones inducidas en hojas fue UM 046, con una mediana de 37 lesiones/hoja, mientras que el morfotipo UM 038 presentó el menor rango promedio, con una mediana de 8,33 lesiones/hoja (Figura 2-15)

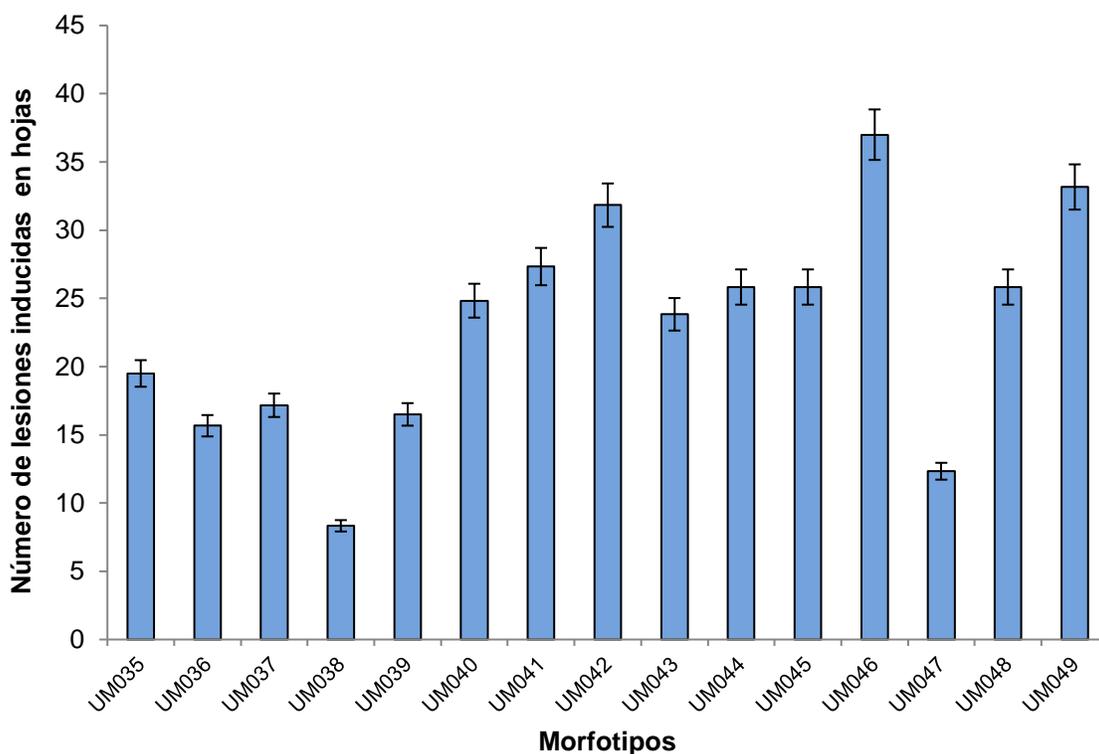


Figura 2-15. Número de lesiones inducidas por morfotipo de *Colletotrichum* spp., en hojas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación. Las columnas indican las comparaciones de las medianas de los morfotipos de acuerdo al número de lesiones mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medianas de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis, a un nivel del 95% de confianza.

En cuanto al tamaño de lesiones inducidas en hojas, la prueba de Kruskal-Wallis mostró que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los morfotipos inoculados ($p= 0,2326$) a un nivel del 95% de confianza. No obstante, al analizar los valores de las medianas, se evidenció que el morfotipo que tuvo un mayor rango promedio

en cuanto al tamaño de lesiones fue UM 046, con una mediana de 35 lesiones/hoja, mientras que el morfotipo UM 043 presentó el menor rango promedio, con una mediana de 6,33 lesiones/hoja (Figura 2-16).

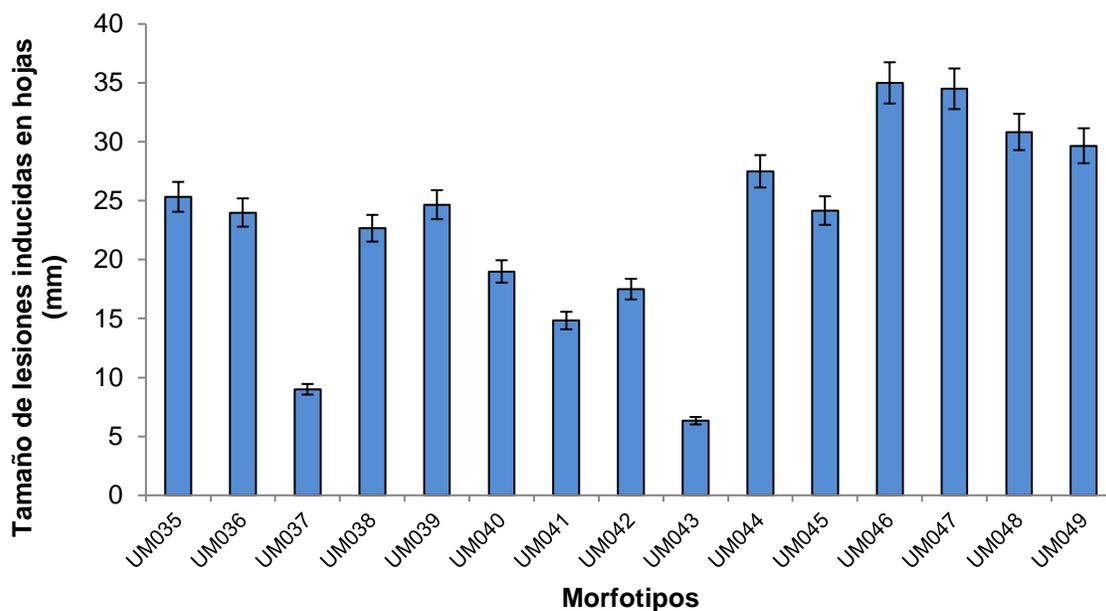


Figura 2-16. Tamaño de lesiones inducidas por morfotipo de *Colletotrichum* spp., en hojas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación. Las columnas indican las comparaciones de las medianas de los morfotipos de acuerdo al tamaño de lesiones mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medianas de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis, a un nivel del 95% de confianza.

En cuanto a la tasa de crecimiento diaria de lesiones inducidas en hojas, la prueba de Kruskal-Wallis mostró que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de los morfotipos inoculados ($p= 0,0555$) a un nivel del 95% de confianza. No obstante, al analizar los valores de las medianas, se evidenció que el morfotipo que tuvo un mayor rango promedio en cuanto a la tasa de crecimiento diaria fue UM 036, con una mediana de 40 mm/día, mientras que el morfotipo UM 043 presentó el menor rango promedio, con una mediana de 6,33 mm/día (Figura 2-17).

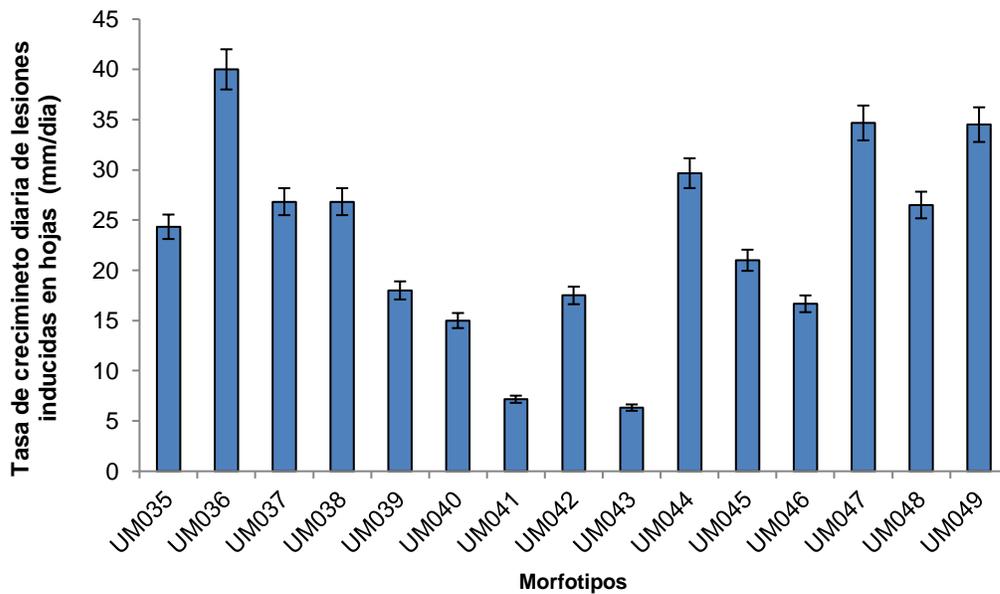


Figura 2-17. Tasa de crecimiento diaria de lesiones inducidas por morfotipo de *Colletotrichum* spp., en hojas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación. Las columnas indican las comparaciones de las medianas de los morfotipos de acuerdo a la tasa de crecimiento de las lesiones mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medianas de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis, a un nivel del 95% de confianza.

2.4.5 Patogenicidad de morfotipos de *Colletotrichum* spp., en ramas de mango cv. Azúcar

Los datos correspondientes al control fueron excluidos del análisis en ramas debido a que fueron valores cero, ya que no se encontró ningún efecto y para evitar alteraciones fueron omitidos. En cuanto al número de lesiones inducidas en ramas, el análisis de varianza (ANOVA) de una vía mostró diferencias altamente significativas entre los morfotipos ($p=0,001$) a un nivel del 95% de confianza. El morfotipo que indujo un mayor número de lesiones en ramas fue UM 037, con un promedio de 5,33 lesiones por rama. La prueba de comparación de promedios según Tukey ($p<0,05$) ratificó que el morfotipo UM 037 fue el más virulento, siendo estadísticamente diferente demás morfotipos, a excepción de UM 041, UM 043, UM 045 y UM048, los cuales no difirieron respecto a UM 037 (Figura 2-18).

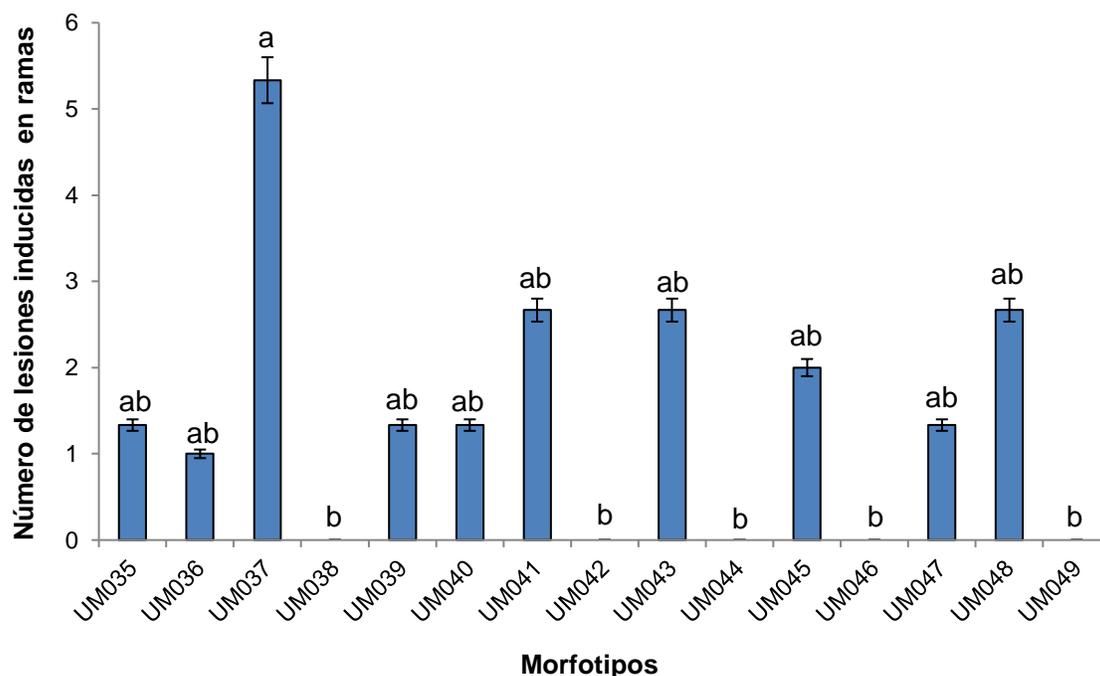


Figura 2-18. Número de lesiones inducidas por morfotipo de *Colletotrichum* spp., en ramas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos de acuerdo al número de lesiones, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias. Las columnas con letras iguales no presentan diferencias estadísticamente significativas según la prueba HSD de Tukey ($p < 0,05$).

En cuanto al tamaño de lesiones inducidas en ramas, el análisis de varianza (ANAVA) de una vía mostró diferencias altamente significativas entre los morfotipos ($p = 0,0002$) a un nivel del 95% de confianza. El morfotipo que indujo un mayor tamaño de lesiones en ramas fue UM 037, con un tamaño promedio de 10 mm por rama. La prueba de comparación de promedios según Tukey ($p < 0,05$) ratificó que el morfotipo UM 037 indujo el mayor tamaño de lesiones, siendo estadísticamente diferente a los demás morfotipos, a excepción de UM 035, UM 049, UM 041, UM 047 y UM 048, con los cuales no difirió a nivel estadístico (Figura 2-19).

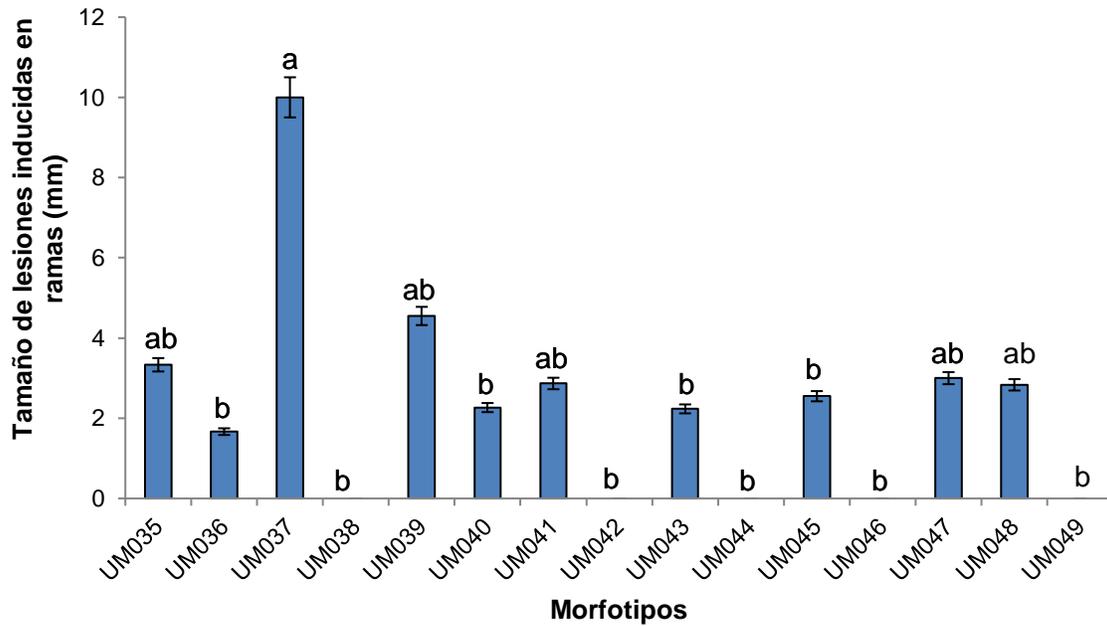


Figura 2-19. Tamaño de lesiones inducidas por morfotipo de *Colletotrichum* spp., en ramas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos de acuerdo al tamaño de lesiones, mientras que las barras en las columnas indican la variabilidad de las desviaciones estándar de las medias. Las columnas con letras iguales no presentan diferencias estadísticamente significativas según la prueba HSD de Tukey ($p < 0,05$).

En cuanto a la tasa de crecimiento diario de lesiones inducidas en ramas, el análisis de varianza (ANOVA) de una vía mostró diferencias estadísticamente significativas entre los morfotipos ($p = 0,0327$) a un nivel del 95% de confianza. El morfotipo que tuvo una mayor tasa de crecimiento diaria de lesiones en ramas fue UM 037, con un promedio de 0,45 mm/día. La prueba de comparación de promedios según Tukey ($p < 0,05$) ratificó que el morfotipo UM 037 tuvo el mayor crecimiento diario de lesiones, siendo estadísticamente diferente a los morfotipos que no indujeron lesiones (Figura 2-20).

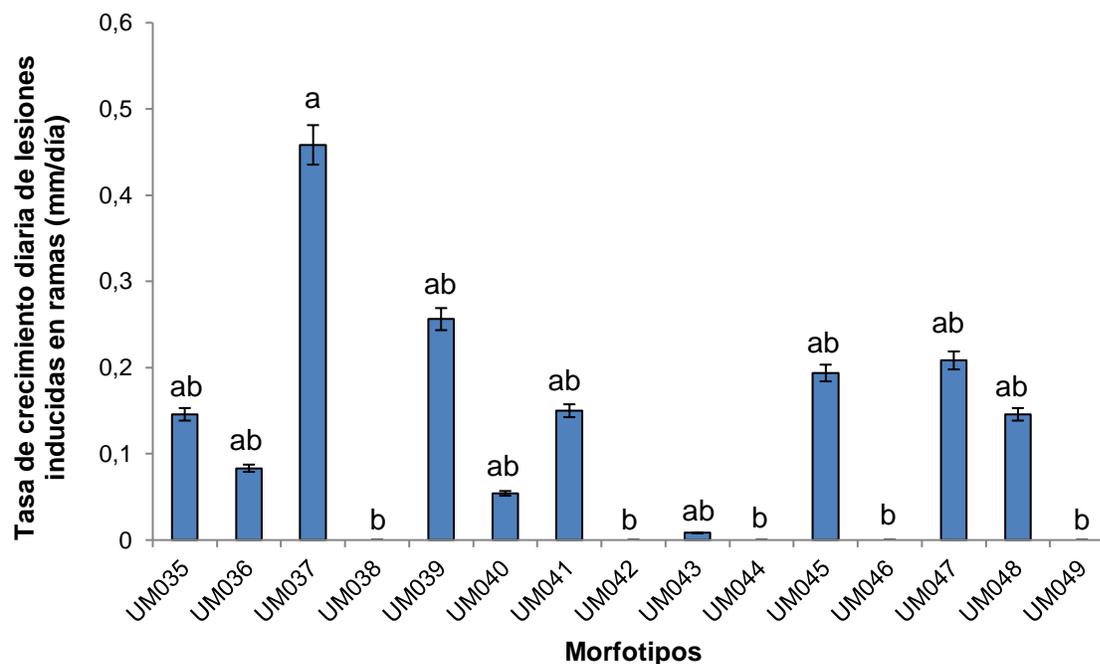


Figura 2-20. Tasa de crecimiento diaria de lesiones inducidas por morfotipo de *Colletotrichum* spp., en ramas de mango cv. Azúcar, 16 días después de la inoculación. Las columnas indican las comparaciones de las medias de los morfotipos de acuerdo a la tasa de crecimiento diaria de las lesiones, mientras 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 ($p < 0,05$).

2.4 Discusión

Los síntomas que se observaron en hojas corresponden a lesiones típicas ocasionadas por *Colletotrichum* spp. Valdés *et al.*, (2017) reportaron manchas de color marrón con formas regulares las cuales crecían gradualmente hasta unirse con otras lesiones y cubrir el área de la hoja inoculada. Baquero *et al.*, (2013) encontraron lesiones irregulares de gran tamaño en los bordes de las hojas y lesiones necróticas en las nervaduras. En otras investigaciones se describen los síntomas en hojas de mango como lesiones que inician como pequeñas manchas con forma irregular y angulares que son de color negro a marrón, dichas lesiones pueden alargarse para formar áreas necróticas y se puede desprender dicho tejido muerto de la hoja, también menciona que las hojas nuevas o

brotos son más susceptibles a infecciones y que se logran observar lesiones color negro a marrón que pueden desarrollar halos cloróticos que pueden afectar las nervaduras (Scot, 2008; Akem; 2006). 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); esta sintomatología es similar a las observadas en esta investigación en ramas de mango cv. Azúcar.

Todos los morfotipos (100%) mostraron patogenicidad en hojas de mango cv. Azúcar, a diferencia de las ramas en donde cinco de los morfotipos (33%) no indujeron síntomas, siendo patogénicos diez morfotipos (67%). Páez (2020) encontró que en frutos inoculados con aislamientos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum* el 62% de dichos aislamientos resultaron patogénicos, si bien los órganos y métodos de inoculación fueron diferentes respecto al presente estudio, el porcentaje de aislamientos infectivos es similar, lo cual pone en evidencia el potencial infectivo de dichos aislamientos. Para el caso de hojas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al número, tamaño y tasa de crecimiento diaria de lesiones debido a que todas las hojas de los árboles fueron infectadas por los morfotipos; sin embargo, aunque a nivel biológico la virulencia de los morfotipos tuvo un comportamiento similar, se evidenció que hubo variaciones en las variables evaluadas, mientras que en ramas si se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las variables evaluadas, encontrándose también inducción de lesiones. Lo anterior, confirma el potencial infectivo de los aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* spp., en órganos de mango, en especial cv. Azúcar, lo cual coincide los resultados de investigaciones hechas en el tema de aislamientos endofitos-quiescentes, quienes han reportado infecciones en diferentes órganos de mango, especialmente en frutos (Vieira *et al.*, 2014; Quintero *et al.*, 2019; Páez *et al.*, 2020); dichos autores encontraron variabilidad de virulencia a nivel de tamaño de lesiones en los órganos inoculados, lo cual fue evidente en el presente estudio a nivel de ramas, al igual que en las demás variables evaluadas.

Se destaca que el endofitismo le permite al hongo permanecer no infectivo, por lo que no se expresan síntomas, hasta que se expresen condiciones cambiantes en el hospedante y/o ambiente que conlleve al cambio en su estilo de vida y al desarrollo de su ciclo infectivo (Carroll, 1998; Stone *et al.*, 2000; Hyde & Soyong, 2008; De Silva *et al.*, 2017; Quintero

et al., 2019). La no inducción de síntomas en ramas por los morfotipos UM 038, UM 042, UM 044, UM 046 y UM 049 pudo deberse a que la cutícula y epidermis de las ramas en comparación a la de las hojas podrían ser mucho más gruesas, lo que inhibió el proceso de infección y colonización de las cepas en mención (Auyong *et al.*, 2015; De Silva *et al.*, 2019). En varias investigaciones se plantea el papel de estructuras en la superficie de órganos de la planta hospedante como barreras ante la infección del patógeno (Calo *et al.*, 2006; Serrano *et al.*, 2014; De Silva *et al.*, 2017).

Se evidenció que el morfotipo que obtuvo un mayor rango promedio de mediana de número y tamaño de lesiones en hojas fue UM 046 y que UM 036 mostró un mayor rango promedio de mediana en cuanto a la tasa de crecimiento diaria de lesiones. Para el caso de ramas el morfotipo UM 037 fue el más virulento, teniendo en cuenta que obtuvo el mayor promedio en cuanto a número, tamaño y tasa de crecimiento diaria. El hecho de que los morfotipos tuviesen un comportamiento diferente en hojas y ramas puede evidenciar cierta especificidad entre morfotipos y órgano; sin embargo, Vieira *et al.*, (2014) encontraron en su estudio sobre endófitos en mango que no hubo un patrón de distribución de las especies endofíticas en los órganos en que fueron aisladas, y al contar con pocos aislamientos de otras especies de *Colletotrichum*, no se pudo inferir si hubo especificidad tisular; lo anterior sugiere que se deben realizar más estudios para determinar la especificidad de aislamientos endofíticos con la inoculación en diferentes órganos de mango para determinar si existe correlación entre morfotipos y órgano, ya que en el estudio de Vieira *et al.*, (2014), los aislamientos sólo se inocularon en frutos desprendidos. Por otra parte, para el caso de las variables biológicas evaluadas en hojas y ramas, los resultados obtenidos en el presente estudio difirieron a los obtenidos por Páez (2020) quien hizo inoculaciones en condiciones de laboratorio en frutos desprendidos, lo cual puede explicar las diferencias en ambos estudios, ya que la técnica de inoculación (atomización) y los órganos inoculados (hojas y ramas activas) fueron diferentes para ambos estudios.

Prihastuti *et al.*, (2009) concluyeron que los aislamientos obtenidos como endófitos de *Colletotrichum* spp., pueden ser patógenos oportunistas y que se hace necesario profundizar en la comprensión de las infecciones naturales de las cepas endofíticas. En esta investigación, la metodología de inoculación (sin heridas) y las condiciones climáticas (trópico seco), no son favorables para patógenos oportunistas, con lo cual quedó en

evidencia, que tal vez algunas de las cepas endofíticas si se enmarcaron en ese estilo de vida con respecto a las ramas, pero otro grupo de cepas son verdaderos necrotróficos al desarrollar proceso infectivo en ambos órganos bajo condiciones similares al trópico seco.

El periodo de incubación (PI) se dio a los 8 días, esto coincide con los resultados obtenidos por Vieira *et al.*, (2014) quienes realizaron pruebas de patogenicidad con endófitos de *Colletotrichum* spp., provenientes de mango y fueron inoculados en condiciones controladas sobre frutos de mango cv. Tommy Atkins; sin embargo, Quintero *et al.*, (2019) encontraron que aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* spp., que fueron inoculados en condiciones controladas sobre frutos de mango cv. Azúcar tuvieron un periodo de incubación de 2 días, resaltando la influencia del genotipo en la respuesta al proceso infectivo. En esta investigación, la inoculación sobre hojas y ramas no desprendidas (hospedante activo) de mango cv. Azúcar se realizó en condiciones diferentes a los órganos inoculados por Quintero *et al.*, (2019) quienes realizaron ensayos en condiciones de laboratorio, lo cual puede explicar las diferencias en los valores de PI, al igual que Páez (2020) quien en los frutos inoculados en laboratorio obtuvo que los aislamientos mostraban diferentes PI; lo anterior sugiere que se deben realizar más estudios en condiciones de campo para determinar la respuesta del patógeno frente a los factores ambientales propios de la región.

Se encontró que la densidad de inóculo no incidió con la virulencia de los morfotipos inoculados en hojas y ramas, lo cual indica que una alta producción de inóculo corresponde a una estrategia de supervivencia del patógeno, más no un indicativo de mayor virulencia o patogenicidad.

2.5 Conclusiones

Se confirmó el potencial infectivo de los aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* spp., en hojas y ramas, lo cual representa una importante fuente de inóculo oculta en campo.

En hojas todos los morfotipos tuvieron un comportamiento similar en cuanto a número, tamaño y tasa de crecimiento diaria de lesiones inducidas, presentando síntomas en todas las hojas inoculadas, sin embargo, a nivel biológico se notaron variaciones de acuerdo a las características infectivas en hojas según el morfotipo. En ramas los morfotipos UM 038, UM 042, UM 044, UM 046 y UM 049 no indujeron lesiones y UM 037 fue el más virulento en cuanto a número, tamaño y tasa de crecimiento diaria de lesiones. A nivel de hojas y ramas el comportamiento de los morfotipos fue diferente respecto a las variables evaluadas, ya que en hojas los morfotipos tuvieron un comportamiento infectivo similar, mientras que en ramas el morfotipo UM 037 fue el más virulento, teniendo un efecto significativo sobre los demás morfotipos inoculados. El periodo de incubación fue de 8 días en todos los casos.

Los resultados de esta investigación constituyen los primeros registros de patogenicidad de endófitos de *Colletotrichum* spp., sobre hojas y ramas de mango en el trópico seco, bajo condiciones de árboles activos.

La hipótesis de investigación que se planteó en el presente trabajo se cumplió, ya que los aislamientos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum* spp., indujeron lesiones en hojas y ramas de mango cv. Azúcar.

2.6 Recomendaciones

Debido a las limitaciones que se presentaron para realizar las pruebas de patogenicidad en flores y frutos de mango cv. Azúcar, se requiere realizar estos ensayos en dichos órganos para determinar la virulencia de los aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* spp.

Se sugiere seguir implementando la metodología de inoculación usada en el presente estudio (sin heridas, mediante atomización) en hospedantes activos, debido a que de esta forma se podría reflejar el verdadero potencial infectivo del patógeno al simular las condiciones naturales en que llega a los diferentes órganos, a diferencia de órganos desprendidos en los que el patógeno podría tener un comportamiento diferente ya que no se encuentran fisiológicamente activos.

Se deben realizar estudios moleculares para una correcta identificación de las especies endofíticas usadas en el presente estudio, especialmente los morfotipos que resultaron ser más virulentos en hojas y ramas; esto contribuirá a tener una mejor comprensión del patógeno y su interacción con el hospedante.

Se sugiere realizar estudios de correlación e interacción entre morfotipos de especies endofíticas de *Colletotrichum* spp., y órganos de mango cv. Azúcar, para determinar con precisión si hay especificidad tisular; esto permitirá tener una mejor comprensión del patógeno respecto a su distribución en los diferentes órganos del árbol.

3. Conclusiones generales

3.1 Conclusiones

Durante la presente investigación se encontró que los aislamientos o morfotipos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum* spp. presentaron variaciones según el morfotipo en su eficiencia biológica, en base a la concentración y germinación de conidias, y la formación de apresorios. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en variables que incluyeron la eficiencia biológica, las características biológicas y morfológicas, a excepción del promedio de largo de conidias, en donde no hubo diferencias estadísticas.

Se confirmó el potencial infectivo de los aislamientos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum* sobre hojas y ramas de mango cv. Azúcar, lo cual permite inferir que los estados endofíticos-quiescentes del patógeno le son una estrategia que les permite permanecer como una fuente de inóculo permanente en campo y en postcosecha, implicando un riesgo en los sistemas productivos de mango.

La técnica de inoculación por atomización sobre hojas y ramas en árboles activos permitió obtener resultados que simularon las infecciones ocasionadas de forma natural por parte del patógeno, por lo cual se pudo comprender mucho más el comportamiento del patógeno sobre hojas y ramas en periodos que no coinciden con eventos climáticos que propicien el desarrollo de la enfermedad o con la madurez fisiológica del fruto.

Este trabajo aporta el primer estudio de patogenicidad de aislamientos endofíticos-quiescentes de *Colletotrichum* sobre hojas y ramas de mango cv. Azúcar en el trópico seco en árboles activos, por lo cual se deben seguir haciendo estudios de patogenicidad,

especialmente en flores y fruto y se hace necesaria la identificación molecular de las especies endofíticas-quiescentes para una mayor comprensión de su virulencia.

4. Bibliografía

- Abera, A., Lemessa, F., & Adunga, G. (2016). Morphological Characteristics of *Colletotrichum* Species Associated with Mango (*Mangifera indica* L.) in Southwest Ethiopia. *Food Science and Quality Management*, 48, 106-115.
- Akem, C. (2006). Mango Anthracnose Disease: Present Status and Future Research Priorities. *Plant Pathology Journal*, 5 (3), 266-273.
- Auyong, A., Ford, R., & Taylor, P. (2015). The Role of Cutinase and its Impact on Pathogenicity of *Colletotrichum truncatum*. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 6(3), 1-11.
- Barimani, M., Pethybridge, S., Vaghefi, N., Hay, F., & Taylor, P. (2013). A new Anthracnose disease of pyrethrum caused by *Colletotrichum tanacetii* sp. nov. *Plant Pathology*, 62(6), 1248-1257.
- Baquero, M., Peres, N., & 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.
- Bersisa, H., Dejene, M., & 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., & 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.

- Cannon, P., Damm, U., Johnston, P., & Weir, B. (2012). *Colletotrichum* - current status and future directions. *Studies in Mycology*, 73(1), 181-213.
- Carroll, G. (1998). Fungal Endophytes in Stems and Leaves: From Latent Pathogen to Mutualistic Symbiont. *Ecology*, 69(1), 2-9.
- Castro, O., Riascos, D., Hoyos, L., & Tapiero, A. (2020). Disturbios histológicos causados por *Microcyclus ulei* y el complejo *Colletotrichum* spp. en caucho (*Hevea brasiliensis*). *Summa Phytopathol*, 46(2), 105–112.
- Damm U., Cannon, P., Woudenberg J., & Crous P. (2012a). The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*, 73, 37-113.
- Damm, U., Cannon, P., Woudenberg, J., Johnston, P., Weir, B., Tan, Y., Shivas, R., & Crous, P. (2012b). The *Colletotrichum boninense* species complex. *Studies in Mycology*, 73, 1–36.
- Damm, U., O' Connell, R., Groenewald, J., & Crous, P. (2014). The *Colletotrichum destructivum* species complex – hemibiotrophic pathogens of forage and field crops. *Studies in Mycology*, 79, 49-84.
- Damm, U., Cannon, P., Liu, F., Barreto, R., Guantimosim, E., & Crous, P. (2013). The *Colletotrichum orbiculare* species complex: Important pathogens of field crops and weeds. *Fungal Diversity*, 61, 29-59.
- DANE. (2015). *El cultivo de mango, Mangifera indica, y su comportamiento frente a las condiciones ambientales de manejo*. Recuperado de https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos31_ene_2015.pdf
- Dangan, F. (2018). *Aislamientos endofíticos de Colletotrichum spp. en hojas de mango (Mangifera indica L.) cv. Azúcar, en el municipio de Ciénaga (Magdalena, Colombia)* (tesis de pregrado). Universidad del Magdalena, Ciénaga, Colombia.
- De Silva, D., Crous, P., Ades, P., Hyde, K., & Tylor, P. (2017). Life styles of *Colletotrichum* species and implications for plant biosecurity. *Fungal Biology Reviews*, 31(3), 155-168.
- De Silva, D., Groenewald, J., Crous, P., Ades, P., Nasruddin, A., Mongkolporn, O., & Taylor, P. (2019). Identification, prevalence and pathogenicity of *Colletotrichum*

- species causing Anthracnose of *Capsicum annuum* in Asia. *IMA Fungus*, 10(8), 1-32.
- Dinh, S.Q., Chongwungse, J., Pongam, P., & Sangchote, S. (2003). Fruit infection by *Colletotrichum gloeosporioides* and Anthracnose resistance of some mango cv.s in Thailand. *Australasian Plant Pathology*, 32(4), 533-538.
 - Domínguez, I., Mohail, S., & Pino, H. (2014). Análisis morfológico del género *Colletotrichum* en palma aceitera. *Agricultura Andina*, 20, 80–96.
 - Gañán, L., Álvarez, E., & Castaño, J. (2015). Identificación genética de aislamientos de *Collectotrichum* spp. causantes de Antracnosis en frutos de aguacate, banano, mango y tomate de árbol. *Revista Académica Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 39(152), 339–347.
 - Granados, G., Guevara, Y. (2010). *Caracterización biológica y molecular de aislamientos de Colletotrichum spp. obtenidos de frutales de clima frío moderado con síntomas de Antracnosis*. (Trabajo de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana de Colombia, Bogotá, Colombia.
 - Guamán, M. (2018). *Caracterización morfológica molecular y de resistencia a fungicidas de Colletotrichum sp., aislado de tomate de árbol* (tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
 - Hardoim, P., Van Overbeek, L., Berg, G., Pirttilä, A., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & 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.
 - Harp, T., Pernezny, K., Ivey, M., Miller, S., Kuhn, P., & Datnoff, L. (2008). The etiology of recent Pepper Anthracnose outbreaks in Florida. *Crop Protection*, 27(10), 1380-1384.
 - Hyde, K., & Soyong, K. (2008). The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity*, 33, 163-173.
 - Kamle, M., Kumar, P., Gupta, V., Tiwari, A., Misra, A., & Pandey, B. (2013). Identification and phylogenetic correlation among *Colletotrichum gloeosporioides* pathogen of Anthracnose for mango. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2(3), 285-287.

- Kamle, M., & Kumar, P. (2016). *Colletotrichum gloeosporioides*: Pathogen of Anthracnose Disease in Mango (*Mangifera indica* L.). In *Current Trends in Plant Disease Diagnostics and Management Practices* (pp. 207-219). Fungal Biology.
- Kumar, A. (2014). *Colletotrichum gloeosporioides*: Biology, Pathogenicity and Management in India. *Journal of Plant Physiology & Pathology*, 2(2), 1-11.
- Landero, N., Lara, F., Andrade, P., Aguilar, L., & Aguado, G. (2016). Alternativas para el control del *Colletotrichum* spp. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(5), 1189–1198.
- Leharwan, S., Malik, V., Singh, R., & Leharwan, M. (2018). In vivo Cross Pathogenicity of *Colletotrichum gloeosporioides* causing Anthracnose of Mango with Subtropical Fruits and Weeds Host. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences (IJCMAS)*, 7(2), 1829-1834.
- Li, Q., Shu, J., Tang, L., Huang, S., Guo, T., Mo, J., Luo, S., Sarwar, G., & Hsiang, T. (2019). *Colletotrichum* species associated with mango in southern China. *Scientific Reports volume*, 9, 1-10.
- Majumdar, N., & 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(3), 416-420.
- Mo, J., Zhao, G., Li, Q., Solangi, G., Tang, L., Guo, T., Huang, S., & Hsiang, T. (2018). Identification and Characterization of *Colletotrichum* Species Associated with Mango Anthracnose in Guangxi, China. *Plant Disease*, 102 (7), 1283-1289.
- Mota, S., Barcelos, Q., Días, M., & Souza, E. (2016). Variability of *Colletotrichum* spp. in common bean. *Genetics and Molecular Research*, 15(2), 1-22.
- Oliveira, R., Moral, J., Bouhmidi, K., & 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 Nº 8. CORPOICA*, 1-18.
- Páez, A., Leal, E., & Morales, R. (2003). Tasa de desarrollo de la Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Penz. & Sacc.) en cinco cultivares de mango

- (*Mangifera indica* L.) en el municipio de Sevilla (Magdalena). *Fitopatología Colombiana*, 27, 1-6.
- Páez, A. (2020). *Biología y manejo de estados quiescentes de Colletotrichum spp. en mango cv. Azúcar, en el departamento del Magdalena, Colombia* (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
 - Pavitra, R., & Singh, R. (2017). Anthracnose of Mango Incited by *Colletotrichum gloeosporioides*: A Comprehensive Review. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 5(1), 48–56.
 - Pérez, L., Saquero, M., & Beltrán, J. (2003). Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp. como agente causal de la Antracnosis en ñame *Dioscorea* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 5(1), 24–35.
 - Perfect, S., Hughes, H., O'Connell, R., & Green, J., 1999. *Colletotrichum*: A model genus for studies on pathology and fungal plant interactions. *Fungal Genetics and Biology*, 27, 186-198.
 - Prihastuti, H., Cai, L., Chen, H., McKenzie, E., & Hyde, K. (2009). Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in northern Thailand. *Fungal Diversity*, 39, 89-109.
 - Prusky, D., Alkan, N., Mengiste, T., & Fluhr, R. (2013). Quiescent and necrotrophic lifestyle choice during postharvest disease development. *Annual Review of Phytopathology*. 51, 155-176.
 - Prusky, D., & 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.
 - Quintero, A., Dangon, F., & Páez, A. (2019). Aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* spp. a partir de hojas y ramas de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Azúcar en el municipio de Ciénaga, Magdalena, Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43(166), 65-77.
 - Rivera, L., Lugo, Y., McGovern, R., Seijo, T., & Davis, M. (2006). Occurrence and Distribution of *Colletotrichum* spp. on Mango (*Mangifera indica* L.) in Puerto Rico and Florida, USA. *Plant Pathology Journal*, 5(2), 191-198.

- Rodríguez, R., White, J., Arnold, A., & Redman, R. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist Foundation*, 182(2), 314-330.
- Rojo, I., Álvarez, B., García, R., León, J., Sañudo, A., & Allende, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichum* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3), 549-570.
- Romero, Á., Marín, A., & Jiménez, J. (2015). Sistema de clasificación por visión artificial de mangos tipo Tommy. *Revista UIS Ingenierías*, 14(1), 21–31.
- Sánchez, R., Sánchez, B., Monserrat, Y., Ulloa, A., Armendáriz, B., García, M., & Macías, M. (2013). Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2), 132-146.
- Sangeetha, C. & 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*). *Departament of Plan and Environmental Protection Sciences*, 1-7.
- Serrano, M., Coluccia, F., Torres, M., L'Haridon, F., & Métraux, J. (2014). The cuticle and plant defense to pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 5, 1-8.
- Sharma, G., Maymon, M., & 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).
- Silva, M., Rojas, R., Manzanilla, R., Macías, M., Aranda, S., & Zavaleta, E. (2020). Hongos endófitos: una alternativa biológica para el manejo de nematodos fitoparásitos. *Nematrópica*, 50, 101–117.
- Stone, J., Bacon, C., White, J. (2000). An overview of endophytic microbes: Endophytism defined. En: Bacon, C & White, J. *Microbial endophytes*. New York: Marcel Dekker. p. 3-29.
- Tovar, J., Mora, J., Nava, C., Lima, N., Michereff, S., Sandoval, J., Cámara, M., Téliz, D., & Leyva, S. (2019). Distribution and Pathogenicity of *Colletotrichum* Species Associated With Mango Anthracnose in Mexico. *Plant Disease*, 104(1), 137-146.

- Trinidad, E., Ascencio, F., Ulloa, J., Ramírez, J., Ragazzo, J., Calderón, M., & Bautista, P. (2017). Identificación y caracterización de *Colletotrichum* spp. causante de Antracnosis en aguacate Nayarit, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(19), 3953–3964.
- Valdés, L., Calero, D., Gómez, A., Carballo, M., Capote, M., González, I., Álvarez, J., & 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.
- Velázquez, A., García, S., Robles, L., Nava, C., & Nieto, D. (2018). Primer reporte del género *Colletotrichum* spp. en frutos de pimienta gorda (Pimienta dioica) en Veracruz, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(2), 342–355.
- Vieira, W., Michereff, S., de Morais, M., Hyde, K., & Câmara, M. (2014). Endophytic species of *Colletotrichum* associated with mango in northeastern Brazil. *Fungal Diversity*, 67, 181-202.
- Weir, B., Johnston P., & Damm U. (2012). The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology*, 73, 115-180.
- Wilson, D. (1995). Endophyte: The Evolution of a Term, and Clarification of Its Use and Definition. *Oikos*, 73(2), 274-276.
- Whitelaw, W., Curtin, S., Huang, R., Steel, C., Blanchard, C., & Roffey, P. (2007). Phylogenetic relationships and pathogenicity of *Colletotrichum acutatum* isolates from grape in subtropical Australia. *Plant Pathology*, 56, 448-463.
- Wu, C., Chen, H., & Ni, H. (2020). Identification and characterization of *Colletotrichum* species associated with mango Anthracnose in Taiwan. *European Journal of Plant Pathology*, 157, 1-15.
- Yaling, L., Pongnak, W., & Kasem, S. (2015). Effect of different factors on sporulation of *Colletotrichum coffeanum*. *Journal of Agricultural Technology*, 11(4), 997-1012.
- Zakaria, L. (2020). *Colletotrichum* spp. associated with agricultural crops in Malaysia, causal pathogens and potential control methods. *Malaysian Journal of Microbiology*, 16(6), 530–54.

A. Anexo: Variabilidad de Tasa de Crecimiento Micelial

Estadísticos descriptivos

	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Tasa de Crecimiento Micelial (mm/día)	45	,8969	,19679	,33	1,44
CEPA	45	8,00	4,369	1	15

Pruebas de normalidad

CEPA	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.	
Tasa de Crecimiento Micelial (mm/día)	UM035	,385	3	.	,750	3	,000
	UM036	,385	3	.	,750	3	,000
	UM037	,385	3	.	,750	3	,000
	UM038	,337	3	.	,855	3	,253
	UM039	,340	3	.	,848	3	,235
	UM040	,314	3	.	,893	3	,363
	UM041	,362	3	.	,804	3	,123
	UM042	,385	3	.	,750	3	,000
	UM043	,385	3	.	,750	3	,000
	UM044	,368	3	.	,792	3	,094
	UM045	,385	3	.	,750	3	,000
	UM046	,292	3	.	,923	3	,463
	UM047	,310	3	.	,900	3	,384
	UM048	,276	3	.	,942	3	,537

UM049	,276	3	.	,942	3	,537
-------	------	---	---	------	---	------

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

Tasa de Crecimiento Micelial (mm/día)

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
11,890	14	30	,000

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Tasa de Crecimiento Micelial (mm/día)
Chi-cuadrado	29,253
gl	14
Sig. asintótica	,010

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: CEPA

B. Anexo: Variabilidad de Conidias/ml.

Estadísticos descriptivos

	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Conidias/ml	45	9852000,00	20606500,475	50000	84650000
CEPA	45	8,00	4,369	1	15

Pruebas de normalidad

	CEPA	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Conidias/ml	UM035	,253	3	.	,964	3	,637
	UM036	,269	3	.	,949	3	,567
	UM037	,353	3	.	,823	3	,170
	UM038	,308	3	.	,902	3	,391
	UM039	,175	3	.	1,000	3	1,000
	UM040	,253	3	.	,964	3	,637
	UM041	,253	3	.	,964	3	,637
	UM042	,385	3	.	,750	3	,000
	UM043	,196	3	.	,996	3	,878
	UM044	,228	3	.	,982	3	,745
	UM045	,299	3	.	,914	3	,431
	UM046	,343	3	.	,842	3	,220
	UM047	,175	3	.	1,000	3	1,000
	UM048	,196	3	.	,996	3	,878
	UM049	,385	3	.	,750	3	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

Conidias/ml

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
7,943	14	30	,000

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Conidias/ml
Chi-cuadrado	43,017
gl	14
Sig. asintótica	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: CEPA

C. Anexo: Variabilidad de Ancho de Conidias (μm)

Estadísticos descriptivos

	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Ancho Conidias (μm)	45	3,9802	,77651	2,58	5,54
CEPA	45	8,00	4,369	1	15

Pruebas de normalidad

	CEPA	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Ancho Conidias (μm)	UM035	,348	3	.	,834	3	,199
	UM036	,344	3	.	,841	3	,216
	UM037	,291	3	.	,925	3	,469
	UM038	,314	3	.	,893	3	,363
	UM039	,278	3	.	,940	3	,527
	UM040	,378	3	.	,766	3	,076
	UM041	,361	3	.	,805	3	,128
	UM042	,255	3	.	,963	3	,628
	UM043	,228	3	.	,982	3	,742
	UM044	,385	3	.	,750	3	,140
	UM045	,366	3	.	,794	3	,101
	UM046	,361	3	.	,807	3	,131
	UM047	,285	3	.	,932	3	,495
	UM048	,308	3	.	,902	3	,391
	UM049	,322	3	.	,880	3	,324

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzasAncho Conidias (μm)

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,637	14	30	,058

ANOVAAncho Conidias (μm)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	13,487	14	,963	2,216	,033
Dentro de grupos	13,044	30	,435		
Total	26,531	44			

Ancho Conidias (μm)HSD Tukey^a

CEPA	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
UM048	3	2,9533	
UM040	3	3,0500	
UM042	3	3,6467	3,6467
UM044	3	3,6567	3,6567
UM037	3	3,7433	3,7433
UM045	3	3,7767	3,7767
UM049	3	3,9033	3,9033
UM041	3	4,0167	4,0167
UM035	3	4,0433	4,0433
UM046	3	4,0700	4,0700
UM036	3	4,1867	4,1867
UM039	3	4,2567	4,2567
UM047	3	4,6133	4,6133
UM043	3	4,7267	4,7267
UM038	3		5,0600

Sig.		,118	,393
------	--	------	------

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

D. Anexo : Variabilidad de Largo de Conidias (µm)

Estadísticos descriptivos

	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Largo Conidias (µm)	45	10,5938	1,62253	6,59	14,65
CEPA	45	8,00	4,369	1	15

Pruebas de normalidad

	CEPA	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Largo Conidias (µm)	UM035	,207	3	.	,992	3	,832
	UM036	,278	3	.	,940	3	,527
	UM037	,267	3	.	,951	3	,574
	UM038	,367	3	.	,792	3	,095
	UM039	,376	3	.	,772	3	,068
	UM040	,351	3	.	,827	3	,180
	UM041	,318	3	.	,886	3	,343

UM042	,258	3	.	,960	3	,617
UM043	,337	3	.	,855	3	,253
UM044	,220	3	.	,987	3	,778
UM045	,369	3	.	,789	3	,088
UM046	,377	3	.	,768	3	,051
UM047	,385	3	.	,750	3	,091
UM048	,363	3	.	,802	3	,119
UM049	,190	3	.	,997	3	,902

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

Largo Conidias (μm)

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
6,552	14	30	,050

ANOVA

Largo Conidias (μm)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	50,357	14	3,597	1,648	,123
Dentro de grupos	65,477	30	2,183		
Total	115,834	44			

Largo Conidias (μm)

HSD Tukey^a

CEPA	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
UM040	3	8,2600	
UM037	3	9,4167	9,4167
UM048	3	9,6100	9,6100

UM041	3	10,2167	10,2167
UM036	3	10,2200	10,2200
UM044	3	10,2733	10,2733
UM042	3	10,2767	10,2767
UM049	3	10,4933	10,4933
UM046	3	10,8567	10,8567
UM035	3	11,0300	11,0300
UM045	3	11,0433	11,0433
UM039	3	11,3333	11,3333
UM043	3	11,3433	11,3433
UM047	3	11,4533	11,4533
UM038	3		13,0800
Sig.		,381	,196

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

E. Anexo: Variabilidad de Porcentaje de Conidias sin Germinar

Estadísticos descriptivos

	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
% Conidias sin Germinar	45	48,87	21,425	20	84
CEPA	45	8,00	4,369	1	15

Pruebas de normalidad^{b,c}

	CEPA	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
% Conidias sin Germinar	UM035	,292	3	.	,923	3	,463
	UM036	,276	3	.	,942	3	,537
	UM037	,175	3	.	1,000	3	1,000
	UM038	,253	3	.	,964	3	,637
	UM039	,292	3	.	,923	3	,463
	UM040	,292	3	.	,923	3	,463
	UM041	,385	3	.	,750	3	,312
	UM042	,204	3	.	,993	3	,843

UM043	,385	3	.	,750	3	,548
UM046	,292	3	.	,923	3	,463
UM047	,175	3	.	1,000	3	1,000
UM048	,204	3	.	,993	3	,843
UM049	,359	3	.	,810	3	,138

a. Corrección de significación de Lilliefors

b. % Conidias sin Germinar es constante cuando CEPA = UM044. Se ha omitido.

c. % Conidias sin Germinar es constante cuando CEPA = UM045. Se ha omitido.

Prueba de homogeneidad de varianzas

% Conidias sin Germinar

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
7,135	14	30	,081

ANOVA

% Conidias sin Germinar

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	19655,200	14	1403,943	77,709	,000
Dentro de grupos	542,000	30	18,067		
Total	20197,200	44			

% Conidias sin Germinar

HSD Tukey^a

CEPA	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
UM047	3	23,00						
UM039	3	23,33						
UM045	3	25,00	25,00					
UM042	3	25,33	25,33					
UM035	3	26,67	26,67					

UM036	3		37,00	37,00				
UM037	3			41,00				
UM040	3			47,67	47,67			
UM043	3				58,67	58,67		
UM041	3					62,67		
UM048	3					63,67		
UM049	3					66,00		
UM046	3					68,67	68,67	
UM038	3						81,33	81,33
UM044	3							83,00
Sig.		,999	,083	,183	,152	,260	,054	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

F. Anexo: Variabilidad de Porcentaje de Conidias Germinadas

Estadísticos descriptivos

	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
% Conidias Germinadas	45	25,78	14,121	0	58
CEPA	45	8,00	4,369	1	15

Pruebas de normalidad^{b,c,d}

	CEPA	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
% Conidias Germinadas	UM035	,187	3	.	,998	3	,915
	UM036	,276	3	.	,942	3	,537

UM037	,219	3	.	,987	3	,780
UM038	,253	3	.	,964	3	,637
UM039	,175	3	.	1,000	3	1,000
UM040	,253	3	.	,964	3	,637
UM041	,385	3	.	,750	3	,063
UM043	,385	3	.	,750	3	,059
UM046	,175	3	.	1,000	3	1,000
UM047	,385	3	.	,750	3	,062
UM048	,175	3	.	1,000	3	1,000
UM049	,356	3	.	,818	3	,157

a. Corrección de significación de Lilliefors

b. % Conidias Germinadas es constante cuando CEPA = UM042. Se ha omitido.

c. % Conidias Germinadas es constante cuando CEPA = UM044. Se ha omitido.

d. % Conidias Germinadas es constante cuando CEPA = UM045. Se ha omitido.

Prueba de homogeneidad de varianzas

% Conidias Germinadas

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,494	14	30	,052

ANOVA

% Conidias Germinadas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8522,444	14	608,746	72,662	,000
Dentro de grupos	251,333	30	8,378		
Total	8773,778	44			

% Conidias Germinadas

HSD Tukey^a

CEPA	N	Subconjunto para alfa = 0.05
------	---	------------------------------

		1	2	3	4	5	6
UM042	3	,00					
UM049	3		14,00				
UM038	3		14,67				
UM039	3		15,00				
UM044	3		17,00	17,00			
UM048	3		20,00	20,00	20,00		
UM043	3		20,67	20,67	20,67		
UM045	3			25,00	25,00		
UM046	3				26,00		
UM041	3				27,00		
UM040	3				27,67		
UM036	3					37,00	
UM035	3					43,33	
UM037	3					43,33	
UM047	3						56,00
Sig.		1,000	,289	,097	,131	,362	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

G. Anexo: Variabilidad de Porcentaje de Apresorios Formados

Estadísticos descriptivos

	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
--	---	-------	------------------------	--------	--------

% Apresorios Formados	45	18,20	16,177	0	71
CEPA	45	8,00	4,369	1	15

Pruebas de normalidad^{b,c}

	CEPA	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
% Apresorios Formados	UM035	,385	3	.	,750	3	,000
	UM036	,304	3	.	,907	3	,407
	UM037	,385	3	.	,750	3	,000
	UM038	,385	3	.	,750	3	,000
	UM039	,253	3	.	,964	3	,637
	UM040	,292	3	.	,923	3	,463
	UM041	,385	3	.	,750	3	,000
	UM042	,175	3	.	1,000	3	1,000
	UM043	,385	3	.	,750	3	,000
	UM046	,385	3	.	,750	3	,000
	UM047	,292	3	.	,923	3	,463
	UM048	,175	3	.	1,000	3	1,000
	UM049	,314	3	.	,893	3	,363

a. Corrección de significación de Lilliefors

b. % Apresorios Formados es constante cuando CEPA = UM044. Se ha omitido.

c. % Apresorios Formados es constante cuando CEPA = UM045. Se ha omitido.

Prueba de homogeneidad de varianzas

% Apresorios Formados

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,018	14	30	,0049

Estadísticos de prueba^{a,b}

	% Apresorios Formados
Chi-cuadrado	42,434
gl	14
Sig. asintótica	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: CEPA

H. Anexo: Variabilidad de Porcentaje de Apresorios Germinados

Estadísticos descriptivos

	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
% Apresorios Germinados	45	7,31	9,846	0	39
CEPA	45	8,00	4,369	1	15

Pruebas de normalidad^{b,c,d,e,f,g}

	CEPA	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
% Apresorios Germinados	UM035	,349	3	.	,832	3	,194
	UM036	,333	3	.	,862	3	,274
	UM037	,385	3	.	,750	3	,0056
	UM039	,175	3	.	1,000	3	1,000
	UM040	,337	3	.	,855	3	,253
	UM042	,333	3	.	,862	3	,274
	UM047	,314	3	.	,893	3	,363
	UM048	,175	3	.	1,000	3	1,000
	UM049	,385	3	.	,750	3	,145

a. Corrección de significación de Lilliefors

b. % Apresorios Germinados es constante cuando CEPA = UM038. Se ha omitido.

c. % Apresorios Germinados es constante cuando CEPA = UM041. Se ha omitido.

d. % Apresorios Germinados es constante cuando CEPA = UM043. Se ha omitido.

e. % Apresorios Germinados es constante cuando CEPA = UM044. Se ha omitido.

f. % Apresorios Germinados es constante cuando CEPA = UM045. Se ha omitido.

g. % Apresorios Germinados es constante cuando CEPA = UM046. Se ha omitido.

Prueba de homogeneidad de varianzas

% Apresorios Germinados

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
12,030	14	30	,0076

ANOVA

% Apresorios Germinados

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2954,311	14	211,022	4,828	,000
Dentro de grupos	1311,333	30	43,711		
Total	4265,644	44			

% Apresorios GerminadosHSD Tukey^a

CEPA	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
UM038	3	,00	
UM041	3	,00	
UM043	3	,00	
UM044	3	,00	
UM046	3	,00	
UM037	3	1,00	
UM040	3	4,33	
UM048	3	7,00	7,00
UM036	3	8,00	8,00
UM042	3	8,00	8,00
UM047	3	8,00	8,00
UM035	3	10,33	10,33
UM049	3	13,00	13,00

UM039	3		25,00
UM045	3		25,00
Sig.		,527	,109

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

I. Anexo: Análisis estadístico no paramétrico en hojas

Prueba de Kruskal-Wallis para número de lesiones en hojas por morfotipo

Morfotipos	Tamaño Muestra	Rango Promedio
UM035	3	19,5
UM036	3	15,6667
UM037	3	17,1667
UM038	3	8,33333
UM039	3	16,5
UM040	3	24,8333
UM041	3	27,3333
UM042	3	31,8333
UM043	3	23,8333
UM044	3	25,8333
UM045	3	25,8333
UM046	3	37
UM047	3	12,3333
UM048	3	25,8333

UM049	3	33,1667
-------	---	---------

Estadístico = 15,6959 Valor-P = 0,332294

Prueba de Kruskal-Wallis para T. lesión (mm) por morfotipo

<i>morfotipos</i>	<i>Tamaño Muestra</i>	<i>Rango Promedio</i>
UM035	3	25,3333
UM036	3	24,0
UM037	3	9,0
UM038	3	22,6667
UM039	3	24,6667
UM040	3	19,0
UM041	3	14,8333
UM042	3	17,5
UM043	3	6,33333
UM044	3	27,5
UM045	3	24,1667
UM046	3	35,0
UM047	3	34,5
UM048	3	30,8333
UM049	3	29,6667

Estadístico = 17,4566 Valor-P = 0,23266

Prueba de Kruskal-Wallis para T. Crecimiento (mm/día) por morfotipos

Morfotipos	Tamaño Muestra	Rango Promedio
UM035	3	24,3333
UM036	3	40
UM037	3	26,8333
UM038	3	26,8333
UM039	3	18
UM040	3	15
UM041	3	7,16667
UM042	3	17,5
UM043	3	6,33333
UM044	3	29,6667
UM045	3	21
UM046	3	16,6667
UM047	3	34,6667
UM048	3	26,5
UM049	3	34,5

Estadístico= 23,3038 Valor-P = 0,0555024

J. Anexo: Análisis paramétrico en ramas

ANAVA de una vía para el número de lesiones en ramas

Fuente	SC	GL	CM	F	Valor-P	
Morfotipos	91,7778	14	6,55556	3,83	0,001	**
N° de lesiones	51,3333	30	1,71111			
Total	143,111	44				

Prueba HSD de Tukey ($p < 0,05$) para número de lesiones en ramas

Morfotipos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
UM035	3	1,33333	ab
UM036	3	1	ab
UM037	3	5,33333	a
UM038	3	0	b
UM039	3	1,33333	ab
UM040	3	1,33333	ab
UM041	3	2,66667	ab
UM042	3	0	b
UM043	3	2,66667	ab
UM044	3	0	b
UM045	3	2	ab
UM046	3	0	b
UM047	3	1,33333	ab
UM048	3	2,66667	ab
UM049	3	0	b

ANAVA de una vía para el tamaño de lesiones en ramas (mm)

Fuente	SC	GI	CM	F	Valor-P	
Morfotipos	280,177	14	20,0126	4,7	0,0002	**
Tamaño de lesiones (mm)	127,86	30	4,262			
Total	408,037	44				

Prueba HSD de Tukey ($p < 0,05$) para tamaño de lesiones en ramas

Morfotipos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
UM035	3	3,33333	ab
UM036	3	1,66667	b
UM037	3	10	a
UM038	3	0	b
UM039	3	4,55	ab
UM040	3	2,26667	b
UM041	3	2,86667	ab
UM042	3	0	b
UM043	3	2,23333	b
UM044	3	0	b
UM045	3	2,55	b
UM046	3	0	b
UM047	3	3	ab
UM048	3	2,83333	ab
UM049	3	0	b

ANAVA de una vía para la tasa de crecimiento diaria de lesiones en ramas (mm/día)

Fuente	SC	GI	CM	F	Valor-P	
Morfotipos	0,714137	14	0,0510098	2,22	0,0327	*
Tasa de crecimiento diaria (mm/ día)	0,689089	30	0,0229696			
Total	1,40323	44				

Prueba HSD de Tukey ($p < 0,05$) para la tasa de crecimiento diaria de lesiones en ramas

Morfotipos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
UM035	3	0,145833	ab
UM036	3	0,0833333	ab
UM037	3	0,458333	a
UM038	3	0	b
UM039	3	0,25625	ab
UM040	3	0,0541667	ab
UM041	3	0,15	ab
UM042	3	0	b
UM043	3	0,00833333	ab
UM044	3	0	b
UM045	3	0,19375	ab
UM046	3	0	b
UM047	3	0,208333	ab
UM048	3	0,145833	ab
UM049	3	0	b