

**INTERACCIÓN BIOLÓGICA DE MICROORGANISMOS RELACIONADOS CON
Colletotrichum gloeosporioides (PENZ.) PENZ SACC., AGENTE CAUSAL DE LA ANTRACNOSIS EN
TOMATE DE ÁRBOL [Solanum betaceae (CAV.) SENDT.]**

L.F. ¹ María José Botero Ospina
² Fabio Aranzazu Hernández

INTRODUCCIÓN

Dentro de las especies frutícolas ubicadas en los climas frío y frío moderado, sobresale en Colombia el tomate de árbol [Solanum betaceae (Cav.) Sendt.], cultivo que mediante un manejo apropiado y mercado establecido, es una alternativa de sostenimiento para comunidades de cordillera donde el café es marginal o aún en zona cafetera (Corpoica, 1996).

En este cultivo, uno de los problemas fitosanitarios más limitantes es la Antracnosis causada por Colletotrichum gloeosporioides, causando pérdidas hasta 90%, e incrementando los costos de producción (Girard, 1977). El patógeno afecta hojas y ramas siendo su daño más notorio en frutos (Saldarriaga et al. 1997); los síntomas se manifiestan con mayor frecuencia en el ápice o en los sitios en que varios frutos de una misma inflorescencia quedan en contacto, debido a que allí se presenta acumulación de agua, por tiempo más largo, que favorece el desarrollo inicial del hongo (Girard, 1980; Girard, 1987; Pérez, 1993).

El manejo de la Antracnosis del tomate de árbol está basado fundamentalmente en la aplicación de fungicidas como: Thiabendazol, Benomyl, Carbendazym, Thiophanatos y Dithane, con aplicaciones tipo calendario (Pérez, 1993). Como es obvio, el impacto económico y ambiental es grande; además el uso indiscriminado de los fungicidas ha originado resistencia por parte del patógeno (Bailey y Jeger, 1992). En cuanto al control microbiológico es muy poco lo que se conoce, empezando por la posible relación existente, ya sea antagonista y sinergista de varios microorganismos procedentes del filoplano frente a C. gloeosporioides.

Con respecto al sinergismo, Brown y Swinburne (1981), determinaron que agentes quelatores como los sideróforos bacteriales, procedentes de la cepa de Pseudomonas UV3, presentaron alta afinidad por el hierro contenido en la matriz conidial de Colletotrichum musae aislado de bananos, siendo un factor importante en la estimulación de la germinación y formación de apresorios en este organismo, constituyéndose en un reporte importante a tener en cuenta dentro de la estrategia de control biológico. En los estudios de antagonismo contra C. gloeosporioides con diferentes cepas de hongos se ha encontrado inhibición en el crecimiento micelial de C. gloeosporioides con algunas cepas de Trichoderma (Silvana, 1994). Así mismo, Leben (1965), afirma que Pseudomonas cepacia produce in vitro butanol soluble que es un compuesto que reduce el desarrollo de la Antracnosis causada por Colletotrichum lagenarium en pepino. En Sur Africa, se han realizado estudios de aislamientos del filoplano con cepas de Bacillus subtilis y B. cereus, los cuales han controlado la Antracnosis en campo, en frutos de mango y aguacate, cuando se han realizado aspersiones en precosecha y poscosecha (Korsten et al., 1984; Korsten et al., 1992).

MATERIALES Y MÉTODOS

AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y SELECCIÓN DE ALGUNOS MICROORGANISMOS MÁS PROMISORIOS, CON PROPIEDADES ANTAGONISTAS Y SINERGISTAS

Los antagonistas fueron aislados, tomando muestras de 18 árboles de hojas nuevas, hojas viejas y frutos de 3 edades diferentes: verde mediano, verde grande y maduro, de diferentes sitios del árbol. Posteriormente, en el laboratorio se tomó 1 g de las muestras (hojas o frutos) y se suspendieron en un tubo de ensayo con 10 ml de

¹ Esp. Microbiología. M.Sc. Fitopatología. Grupo Investigación Agrícola. Corpoica, Regional 9.
² I. A. M.Sc. Grupo Investigación Agrícola. Corpoica, Regional 9.

agua destilada estéril, el tubo se sometió a agitación en una centrifuga a 2.500 r.p.m durante 10 min.; luego se botó el sobrenadante y se dejó el sedimento del cual se tomó 0.5 g para iniciar el proceso de siembra directa, en

Por lo tanto, dadas las altas posibilidades de encontrar algún microorganismo que interfiera o interactue con *C. gloeosporioides* en tomate de árbol se desarrolló esta investigación. diferentes medios de cultivo y se incubaron a una temperatura de 24°C por espacio de 5 días (Blakeman, 1977). La detección y aislamiento de cepas de *Trichoderma* se realizó a partir de frutos de tomate de árbol colocados al interior del cultivo, procesando la muestra en el laboratorio según la técnica de Papavizas (1985).

Los organismos con posible acción sinergista fueron aislados, recolectando en el campo frutos que además de presentar Antracnosis, tuvieran síntomas de ablandamiento y exudados bacteriales. Posteriormente, se colocaron en cámaras húmedas durante 5 días, a una temperatura de 17°C (French, 1980).

Prueba sobre germinación de conidias y formación de apresorios. Se utilizó una suspensión de *Colletotrichum*, procedente de un cultivo de 10 días de edad, filtrando previamente las esporas a través de un embudo de vidrio y gasa estéril, con el fin de remover el micelio. Posteriormente, las conidias se lavaron 3 veces con agua destilada estéril, centrifugándose a 2.500 rpm, durante 3 min. Finalmente se realizó el recuento de conidias y se ajustó a una concentración de 1×10^5 conidias/ml (Lenne y Parbery, 1976).

Para *Trichoderma* fue necesario preparar una suspensión de conidias y se ajustó a una concentración de 1.5×10^6 conidias/mL (Papavizas, 1985). Para bacterias se trabajó con una concentración de 1×10^6 bacterias/ml. Con los inóculos preparados se procedió a realizar los siguientes tratamientos:

Colletotrichum vs. bacteria sinergista; *Colletotrichum* vs. Hongo antagonista; *Colletotrichum* vs. Bacterias antagonistas y tratamiento Testigo (*C. gloeosporioides*). Para cada tratamiento fue necesario preparar como mínimo 10 repeticiones (una caja de Petri por repetición). En el tratamiento donde se trabajó con la bacteria sinergista, se utilizó la metodología de Blakeman (1977). Para los tratamientos donde se trabajó con el hongo y las bacterias antagonistas, se utilizó la metodología de Lenne y Parbery (1976).

Prueba de antagonismo y sinergismo para crecimiento micelial de *Colletotrichum* (in vitro) (Antibiograma). Con el fin de evaluar la acción antagónica o sinergista de las bacterias seleccionadas y *Trichoderma*, fueron realizadas pruebas en cajas de Petri con medio papa dextrosa agar (PDA), las cuales se inocularon con bloques de *Colletotrichum* obtenidos con un sacabocado No. 3, colocados en un extremo de las cajas a 4 cm de distancia de la línea sobre la cual se sembró la bacteria. Los tratamientos se incubaron durante 18 días, realizando lecturas del crecimiento micelial de *Colletotrichum*, cada 3 días (Bravo, 1993). Los organismos bacteriales se utilizaron bajo una concentración de 1×10^6 bacterias/ml

Aislamiento de *Colletotrichum* y pruebas de patogenicidad. *Colletotrichum gloeosporioides* fue aislado de frutos de tomate de árbol que presentaron manchas hundidas, tomando porciones de la zona afectada (3 mm²), siguiendo el procedimiento de French (1980). Las siembras en papa dextrosa agar (PDA) y en agar Sabouraud, se incubaron a una temperatura de 24°C, durante 10 días. Las pruebas de patogenicidad se realizaron inoculando frutos de 3 edades diferentes, verde mediano, verde grande y maduro, utilizando un aislamiento del patógeno de 8 días de edad, ajustando la suspensión a una concentración de 1.2×10^6 conidias/ml de agua (Hartung et al., 1981). Se utilizaron dos clases de inóculo, el inóculo natural de *Colletotrichum* obtenido directamente de frutos enfermos en el campo e inóculo in vitro obtenido de una cepa pura. Para la inoculación en el laboratorio se clasificaron los frutos de acuerdo a su edad, posteriormente se lavaron con agua destilada y con un marcador se señaló la zona ecuatorial del fruto. En la zona demarcada se colocaron 40 mL de la suspensión del hongo con herida y sin causar herida al fruto, inmediatamente se colocaron en cámaras húmedas a 17°C durante 12 días. Luego se procedió a reaislar el patógeno y compararlo con el aislamiento original. Después del segundo día y a partir de éste, cada 2 días durante 12 días se evaluó severidad de la enfermedad, utilizando el diagrama propuesto por Botero y Castaño (1998) (Figura 1).

ESTUDIOS IN VIVO DEL POTENCIAL ANTAGÓNICO Y SINERGISTA SOBRE *Colletotrichum*

Prueba de preinoculación. Para el efecto se utilizaron frutos sanos en estado verde grande, los cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio a 0.5%, por espacio de 5 min.

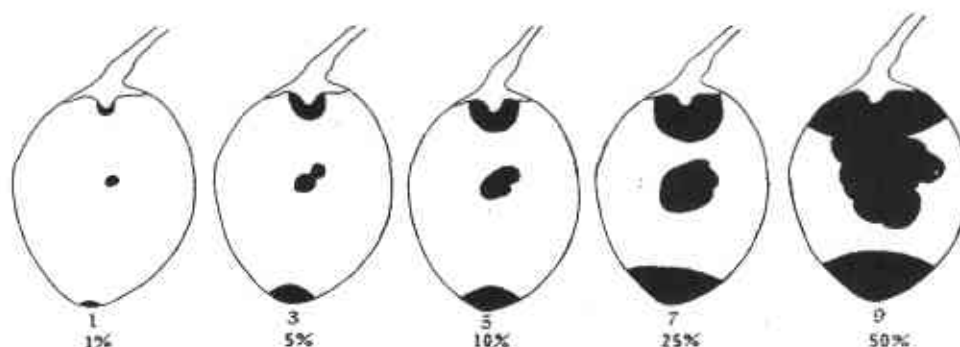


Figura 1. Diagramas estándares de severidad de Antracnosis en frutos de Tomate de árbol (Bolero y Castaño, 1998)

Bajo un diseño completamente al azar y 10 frutos por tratamiento, se diseñaron 7 tratamientos con los aislamientos (cepas) más promisorios, así: 1. *B. subtilis* Vs *Colletotrichum*. 2. *P. cepacia* Vs *Colletotrichum*. 3.

Trichoderma Vs *Colletotrichum*. 4. *P. aeruginosa* Vs *Colletotrichum*. 5. *Colletotrichum* -Testigo relativo-1 (IV). 6. *Colletotrichum* (IN) - Testigo relativo - 2; el inóculo natural de *Colletotrichum* fue obtenido directamente de frutos enfermos provenientes de campo. 7. Testigo absoluto (agua destilada).

Antes de proceder a la inoculación, los frutos de todos los tratamientos fueron heridos con una cánula de 4mm de diámetro por 3mm de profundidad en la parte media. El inóculo se depositó sobre la herida, con 10 mL de la suspensión de las cepas antagonistas (*P. cepacia*, *B. subtilis*) y la sinergista (*P. aeruginosa*), a una concentración de 1×10^7 bacterias/mL. La cuantificación de la suspensión bacteriana se realizó con la escala de opacidad de Mc Farland (Sánchez, 1989), y se dejó por espacio de 1h, a una temperatura de 17°C, luego se adicionó 10 mL de una suspensión acuosa de conidias de *Colletotrichum*, a una concentración 1.16×10^6 esporas/mL sobre las cepas de los antagonistas y se dejó secar. Posteriormente se montaron los testigos relativos y el absoluto. Para el estudio del hongo antagonista (*Trichoderma*), se depositó 10mL de la suspensión conidial del hongo a una concentración de 3×10^7 esporas/mL, y luego se le adicionó 10mL de una suspensión de conidias de *Colletotrichum* a una concentración de 1.16×10^6 esporas/mL. Los frutos fueron incubados en cámaras húmedas a 18°C por 12 días (Janisiewicz, 1988; Benbow, 1999; Redmond, 1987).

Se evaluó el número de frutos enfermos, el tiempo de aparición de síntomas o periodo de incubación (I) y grado de severidad; las lecturas se realizaron cada 2 días durante 12 días; la evaluación numérica de los signos de la Antracnosis en frutos de tomate de árbol se realizó de la misma forma que para las pruebas de patogenicidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y SELECCIÓN DE ALGUNOS MICROORGANISMOS MÁS PROMISORIOS CON PROPIEDADES ANTAGONISTAS Y SINERGISTAS

Se obtuvieron en total 36 aislamientos, 20 de los cuales correspondieron al género *Bacillus* y 16 al género *Pseudomonas*; dichos aislamientos se obtuvieron de hojas y frutos de 18 árboles que no habían recibido tratamiento químico (Tabla 1).

Tabla 1. Cepas aisladas de hojas y frutos de tomate de árbol Estratificación del árbol Bacillus Fluorescente No fluorescentes

Estratificación del árbol	Bacillus		Pseudomonas		
			Fluorescentes		No fluorescentes
	Hojas	Frutos	Hojas	Frutos	Hojas
Superior	3	4	3	2	1
Medio	2			3	
Inferior	3	8	1	6	
Total	20		16		

Al realizar los estudios de caracterización de las cepas antagonistas más promisorias del género *Pseudomonas* y *Bacillus*, utilizando las pruebas microbiológicas y el método de Sensident, se encontraron 2 cepas sobresalientes, la *P. cepacia* y el *B. subtilis* que fueron aisladas de hojas de tomate de árbol.

En cuanto a las bacterias aisladas a partir de frutos de tomate de árbol con síntomas de Antracnosis, se encontraron 15 aislamientos de *Pseudomonas* fluorescentes, encontrándose como la cepa sinergista más promisoría la *P. aeruginosa*. Con relación a las cepas de *Trichoderma*, se encontró un solo aislamiento como el más promisorio antagonista.

Prueba sobre germinación de conidias y formación de apresorios. En la Tabla 2, se presentan los resultados obtenidos para germinación y formación de apresorios de *C. gloeosporioides* con las cepas más promisorias de bacterias y hongos con potencialidad antagonista o sinergista.

En cuanto a la germinación de conidias, se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, ratificando que las cepas previamente seleccionadas como antagonistas *P. cepacia*, *B. subtilis* y *Trichoderma*, tienen esta acción. Además, es importante resaltar que la cepa *P. aeruginosa* seleccionada inicialmente como sinergista lo confirma en esta prueba, ya que en germinación de conidias no afectó a *C. gloeosporioides*, dado que entre *P. aeruginosa* y el testigo no se encontraron diferencias significativas para germinación, en cambio si estimuló la formación de apresorios, ya que se encontraron diferencias altamente significativas entre estos dos tratamientos.

Tabla 2. Comportamiento de algunas cepas promisorias sobre la germinación y formación de apresorios de *Colletotrichum*

Tratamientos.	Tiempo (h)	Germinación (%)	Protoapresorio (%)	Apresorio (%)
Colletotrichum (Testigo)	24	82 a	1	5 b **
	48	84 a	2	6 b
<i>P. aeruginosa</i> (sinergista) Vs Colletotrichum	24	71 a	5	24 a **
	48	73 a	7	31 a
<i>Trichoderma</i> sp. Vs Colletotrichum	24	57 c	1	3 b
	48	62 c	2	5 b
<i>Bacillus subtilis</i> Vs Colletotrichum	24	51 cd	1	1 b
	48	56 cd	1	2 b
<i>P. cepacia</i> Vs Colletotrichum	24	49 cd	1	2 b
	48	55 cd	1	3 b
CV		10.6		10.9

** Altamente significativo, a un nivel de 5%

Sobre la formación de apresorios, Blakeman (1977), Parbery (1978) y Swinburne (1976), demostraron que existen cepas de *Pseudomonas fluorescentes* que poseen sustancias queladoras, como los sideróforos bacteriales que tienen gran ávidez por el hierro, que en situaciones de stress severo por deficiencia de este elemento contenido en la matriz conidial estimulan la germinación y formación de apresorios en *C. dematium*, *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *C. musae*.

Sobre antagonismo, Leben (1965), reporta que *P. cepacia* inhibió la germinación y el crecimiento micelial de *C. lagenarium* procedente de pepino, debido a la producción de butanol soluble y antibióticos.

Por otra parte, Ragazzi (1996), reporta que cepas de *T. harzianum* y *T. viride* inhibieron la germinación y el crecimiento micelial de *Colletotrichum* en estudios in vitro. Estos reportes corroboran que el efecto inhibitorio sobre la germinación de conidias de *C. gloeosporioides*, se debió a alguna de las propiedades antifúngicas que este organismo posee.

Prueba de antagonismo y sinergismo para crecimiento micelial de *Colletotrichum* (in vitro) (Antibiograma). En la Tabla 3, se presentan los resultados de los antibiogramas para observar el crecimiento micelial de *Colletotrichum* frente a organismos antagonistas y sinergistas. En ella se resalta que se encontró un efecto antibiótico y de micoparasitismo de *Trichoderma* sobre *Colletotrichum*, presentándose diferencias significativas en el crecimiento del patógeno, tanto a los 6 días como a los 18, alcanzando un desarrollo de 20 mm, comparado con el tratamiento Testigo (*Colletotrichum* - sólo), el cual fue de 40 mm.

Sobre este efecto, Khetmalas (1984), observó un antagonismo de *Trichoderma viride* sobre las hifas de *C. gloeosporioides*, demostrando que *Trichoderma* crece sobre el patógeno y cubre la superficie del medio similar, a lo que ocurrió en este trabajo.

Aislamiento de *Colletotrichum* y prueba de patogenicidad. Analizando los resultados de las pruebas de laboratorio aplicadas a los dos tipos de inóculo (inóculo natural e inóculo in vitro), se encontraron diferencias altamente significativas con respecto a la severidad con el método de herida, ya que el inóculo natural y el in vitro tuvieron una incidencia de 100% y una severidad de 8 y 5.7, respectivamente. Con el método sin herida también se encontraron diferencias altamente significativas con respecto a la severidad, ya que el inóculo natural tuvo una incidencia y severidad del 56% y 3.7, respectivamente, mientras que con el inóculo in vitro fue sólo de 16% y 1.1 de severidad (Tabla 4). Estos resultados ratifican que el inóculo natural obtenido directamente de frutos en el campo es más patógeno que el inóculo puro que se obtiene in vitro; el hecho de haber obtenido una mayor incidencia y severidad utilizando inóculo natural sin causar herida a los frutos permitió sospechar la existencia de una acción sinergista de otros organismos con *Colletotrichum*, especialmente con bacterias del género *Pseudomonas*, que al aprovechar el hierro presente en la masa conidial promueven la germinación de esporas e induce la formación de apresorios, estructura sin la cual *Colletotrichum* es incapaz de causar infección (Bailey y Jeger, 1992).

Tabla 3. Antibiograma para crecimiento micelial en (mm) de *Colletotrichum*

Tratamiento	Días		
	6	12	18
<i>Colletotrichum</i> (testigo)	12a	25 a	40 a
<i>P. aeruginosa</i> Vs <i>Colletotrichum</i>	12 a	21 a	30 b
<i>Trichoderma</i> sp. Vs <i>Colletotrichum</i>	6 b	16 c	20 d
<i>Bacillus subtilis</i> Vs <i>Colletotrichum</i>	12 a	23 ab	27 c
<i>P. cepacia</i> Vs <i>Colletotrichum</i>	11 a	21 b	25 c

Estudios in vivo del potencial antagónico sinergista sobre *Colletotrichum*

Prueba de Preinoculación - método con herida
 En la Tabla 5, se presentan resultados de incidencia y severidad de Antracnosis en fruto de tomate de árbol en la prueba de preinoculación con herida. Realizados los análisis de varianza y las pruebas de Tukey, nivel del 5% de significancia, se encontraron diferencias altamente significativas entre los

tratamientos, tanto para la incidencia como para la severidad. Encontrándose que el grupo de las cepas antagonistas [*B. subtilis* (T1), *P. cepacia* (T2) y *Trichoderma* (T3)] son iguales entre sí y difieren del grupo de los testigos relativos [*Colletotrichum* (Inóculo in vitro-T5), *Colletotrichum* (Inóculo natural-T6)] y del sinergista (*P. aeruginosa*-T4)

Tabla 4. Incidencia y severidad de la Antracnosis en frutos de tomate de árbol (*Solanum betacea*), de acuerdo al tipo de inóculo y la edad del fruto con con el método con herida y sin herida, a los 12 días

Tratamiento	Con herida		Sin herida	
	Incidencia (%)	Severidad	Incidencia (%)	Severidad
Verde mediano IN	100 a	7.8 a	60 ab	3.1 a
Verde grande IN	100 a	8,6 a	70 ab	3.6 a
Maduro IN	100 a	7.6 ab	40 abc	4.5 ab
Promedio	100	8.0	56	3.7
Verde mediano IV	100 a	5.8 c	20 bc	1.2 ab
Verde grande IV	100 a	6.2 bc	20 bc	1.2 ab
Maduro IV	100 a	5.2 c	10 c	1 b
Promedio	100	5.7	16	1.1

IN: Inóculo natural

IV: Inóculo in vitro

Estos resultados continúan ratificando que en el filoplano y en frutos enfermos por *Colletotrichum* se alberga una gran cantidad de microorganismos, unos con acción antagonista con potencialidad de usarse como agentes biocontroladores y otros con propiedades sinergistas, convirtiéndose este último caso en uno de los primeros reportes de la existencia del sinergismo con *Colletotrichum* en tomate de árbol.

Este fenómeno puede ser la explicación de los muchos fracasos o controles ineficientes en el manejo de la enfermedad, corroborada con el comportamiento eficiente del inóculo natural, el cual dio una incidencia del 100% y 8.6 de severidad.

Parbery (1978), menciona que para que se suceda la infección por *Colletotrichum*, es necesario la formación de apresorios. Por lo tanto, el sinergismo con *P. aeruginosa* es debido a la estimulación de la germinación y formación de apresorios (McCraken, 1979).

Tabla 5. Incidencia y severidad de la Antracnosis en frutos de tomate de árbol, en la prueba de preinoculación con herida

Tratamiento	Incidencia (%)	Severidad
<i>B. subtilis</i> Vs <i>Colletotrichum</i>	60 ab	4.5 b
<i>P. cepacia</i> Vs <i>Colletotrichum</i>	20 bc	4.0 cb
<i>Trichoderma</i> sp. Vs <i>Colletotrichum</i>	30 bc	4.3 cb
<i>P. aeruginosa</i> Vs <i>Colletotrichum</i>	100 a	7.5 a
<i>Colletotrichum</i> (IV) - Testigo relativo	100 a	6.6 a
<i>Colletotrichum</i> (IN) - Testigo relativo	100 a	8.6 a
Agua destilada (Testigo absoluto)	0.0 c	0.0 c
Promedio	59	5

IV: Inóculo in vitro

IN: Inóculo natural

Con respecto a los antagonistas fenómeno ampliamente estudiado por varios investigadores Janisiewicz (1988), encontró un efecto antagónico de *P. cepacia* e manzano contra *P. expansum* y *B. cinerea*.

por alguno de los diversos mecanismos de acción que posee. Esta acción antagonista está plenamente documentada por varios patógenos del filoplan (Dubos, 1981; Belanger et al., 199 y Elad, 1995).

CONCLUSIONES

De 53 aislamientos del filoplano de hojas y frutos de tomate de árbol, se obtuvieron: de *Bacillus*, 20 cepas; *Pseudomonas*, 31 cepas y de *Trichoderma*, 2 cepas.

En estudios in vivo, el hecho de que el inóculo natural comparado con el inóculo in vitro haya causado una mayor severidad sobre los frutos de tomate de árbol sin herida, es una prueba de la existencia del fenómeno del sinergismo, ya que *P. aeruginosa* fue aislada de allí.

La cepa de *Pseudomonas aeruginosa* La cepa de *Trichoderma* ejerció un buen efecto sobre *Colletotrichum* en frutos de tomate de árbol, posiblemente, favoreció la germinación y estimuló la formación de apresorios de *Colletotrichum*, comportándose como una cepa sinergista, dicha cepa causó una gran severidad sobre la fruta en los estudios in vivo.

Los aislamientos nativos identificados como *Trichoderma*, *Pseudomonas cepacia* y *Bacillus subtilis*, presentaron un efecto antagónico sobre *Colletotrichum* en los estudios in vitro; sin embargo, las cepas de *P. cepacia* y *Trichoderma*, fueron las únicas que inhibieron el desarrollo de la enfermedad sobre frutos de árbol en laboratorio.

Teniendo en cuenta la existencia de organismos sinergistas, la decisión de emplear el control biológico debe ser cuidadosa, ya que es muy fácil potencializar a *C. gloeosporioides*.

Todos los resultados están indicando que para la zona es factible involucrar dentro del manejo integrado de la Antracnosis el control biológico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al doctor Jairo Castaño Zapata, Ph.D. en Fitopatología, Profesor de la Universidad de Caldas; a la doctora María Claudia Walker Herrera, Directora Regional Nueve-Corpoica; a María Diva Elsa Ramírez Calderón, secretaria de Corpoica; y al Grupo de Auxiliares de Investigación del Grupo de Investigación Agrícola de Corpoica, por su permanente apoyo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAILEY, J.A. y JEGER, M.J. 1992. *Colletotrichum* Biology, Pathology and Control. Inglaterra: CBA. pp1-10.

BELANGER, R. R., DUFOUR, N., CARON, J., and BENHAMOU, N. 1995. Chronological Events Associated with the Antagonistic Properties of *Trichoderma harzianum* Against *Botrytis cinerea*: Indirect evidence for sequential role of antibiosis and parasitism. *Biocontrol Sci. Technol.* 5:41-53.

BENBOW, J. M. and SUGAR, D. 1999. Fruit Surface Colonization and Biological Control of Postharvest Diseases of Pear by Postharvest Yeast Applications. *Plant Disease*. 83: 839-844.

BLAKEMAN, J.P. and BRODIE, I.D.S. 1977. Competition for Nutrients Between Epiphytic Microorganisms and Germination of Spores of Plant Pathogens on Beetroot Leaves. *Physiological Plant Pathology* 10. pp. 29-42.

BRAVO, O.N. 1993. Efecto in vitro de *Bacillus* sp. sobre el Crecimiento, Esporulación y Germinación de Conidias y Esporas de Nueve Hongos. *Fitopatología Colombiana*. Volumen 17 No. 2 pp. 62-72.

BROWN, A.E. and SWIRBURNE, T.R. 1981. Influence of Iron and Iron Chelators on Formation of Progressive lesions by *Colletotrichum musae* on Banana Fruits. *Transactions of the British Mycological Society*. 77 (1). Great Britain. pp. 119-124.

CORPORACIÓN COLOMBIANA AGROPECUARIA, CORPOICA. 1996. Estado del Arte de los Frutales Priorizados en la Regional Nueve. Manizales. pp. 7-26.

DUBOS, B. And BULIT, J. 1981. Filamentous Fungi as Biocontrol Agents on Aerial Plant Surfaces. Pages 353-356. In: *Microbial Ecology of the phylloplane*. J. P. Blackman, ed. Academic Press. London.

ELAD, J. and EVENSEN, K. 1995. Physiological Aspects of Resistance to *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*. 85: 637-643.

FRENCH, Eduardo; TEDDY, R. y HERBERT, T. 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica y Aislamiento de Fitopatógenos. San José (Costa Rica): Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. pp. 120-162.

GIRARD O., Emile; LOBO A., Mario. 1977. El Cultivo del Tomate de Árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt.). Manual de asistencia técnica No. 20. Curso sobre frutales. Medellín: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

GIRARD, E. y LOBO, M. 1987. El cultivo del Tomate de Árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt.). Manual de asistencia técnica No. 32. Bogotá: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). pp. 42.

GIRARD, Emile. 1980. El tomate de Árbol: las Pestes más Comunes. En: ICA-Infoma, programa de frutales. Medellín; 14 (15): 84-87.

HARTUNG, J.S.; BURTON, C.L. y RAMSDELL. 1981. Epidemiological Studies of Blueberry Anthracnose Disease Caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology* 71. pp. 449-453.

JANISIEWICZ, W.J. and ROITMAN. 1988. Biological Control of Blue Mold and Gray Mold on Apple and Pear with *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology*. 78:1697-1700.

KHETMALAS, M. B.; HASABNIS, S. N.; SARDESHPANDE, J. S. And DIWAKAR, M. P. 1984. Soil Fungi Antagonistic to Plant Pathogens *Current Science*. 53, 862-863.

KORSTEN, L.; BEZUIDENHOUT, J. J. and KOTZÉ, J. M. 1984. Biocontrol of Avocado Postharvest Disease. *S. Afr. Avocado Growers. Assoc. Jearb.* 12: 10-12.

KORSTEN, L. and KOTZÉ, J. M. 1992. Postharvest Biological Control of Avocado Postharvest Disease. *Proceeding of the Second World Avocado Congress.* pp. 473-477- April 21-26, 1991. California, USA.

LEBEN, C. and DAFT, G. C. 1965. Influence of an Epiphytic bacterium on cucumber Anthracnose, early Blight of Tomato and Northern Leaf Blight of corn. *Phytopathology*. 55: 570-572.

LENNE, Jillian y PARBERY, D.G. 1976. Phyllosphere Antagonist and Appressorium Formation in *Colletotrichum gloeosporioides*. *Transaction of the British Mycological Society*. 66 (2). Great Britain. pp. 334-336.

McCRACKEN, A.R. and SWIMBURNE, T.R. 1979. Siderophores Produced by Saprophytic Bacteria as Stimulants of Germination of Conidia of *Colletotrichum musae*. *Physiological Plant Pathology* 15. pp. 331-340.

PAPAVIZAS, G.C. 1985, *Trichoderma* and *Gliocladium*. Biology, Ecology and Potential for Biocontrol. En: *Annual Review Phytopathology*. Vol 23. pp. 23-54.

PARBERY, D. G. y BLAKEMAN, J. P. 1978. Effect of Chemical Substances Associated with the Surfaces of Plant Leaves on Appressorium Formation by *Colletotrichum acutatum*. *Transactions of the British Mycological Society*. pp. 153-159.

PEREZ, LIGIA. 1993. *Enfermedades de las Plantas*. Medellín: Lealon. pp. 46-51.

RAGAZZI, A.; DANTI, S.; TURCO, E. 1996. *Colletotrichum* spp.: Control Biológico con Antagonisti Fungini. In: *Rivisti di Agricoltura subtropicale e tropicale*. 90 (1). pp. 85-93.

REDMOND, J. C.; MAROIS, J. J. and MAC DONALD, J. D. 1987. Biological Control of *Botrytis cinerea* on roses with Epiphytic microorganisms. *Plant Disease*. 71: 799-802.

SALDARRIAGA, A; BERNAL, J. y TAMAYO, P.. 1997. *Enfermedades del Cultivo del Tomate de Árbol en Antioquia: Guía de reconocimiento y control*. En: *Boletín Técnico, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica); C.I. La Selva, Rionegro (Antioquia)*. pp. 8-10.

SÁNCHEZ, M. P. 1989. *Manual de Procedimientos en Bacteriología Clínica*. Santa fé de Bogotá: Colegio Mayor de Cundinamarca. pp. 173.

SILVANA, A.F.; MEDEIROS y MENEZES, M, 1994. Potencial Antagónico de Algunos Hongos a *Colletotrichum gloeosporioides* Agente Causal de Antracnosis de *Anacardium occidentale*. *Fitopatología Brasileña, Volumen 19*. pp. 84-91.

SWINBURNE, T. R. 1976. Stimulation of Germination and Pressorium Formation by *Colletotrichum musae* in Banana Leachate. *Phytopathologische. Zeitschrift*. 87, 74-90.

BIBLIOTECA AGROPECUARIA
DE COLOMBIA