

**DOCUMENTACIÓN DE MECANISMOS QUÍMICOS DE DEFENSA
EN LAS PLANTAS, PARA MITIGAR EL EFECTO DEL HONGO
Colletotrichum sp. EN LOS CULTIVOS COLOMBIANOS**

DAHANN STEFANY MAYORGA FIQUITIVA

**Universidad Nacional Abierta y a Distancia
Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente
Esp. Biotecnología Agraria
Bogotá, 2018**

**DOCUMENTACIÓN DE MECANISMOS QUÍMICOS DE DEFENSA
EN LAS PLANTAS, PARA MITIGAR EL EFECTO DEL HONGO
Colletotrichum sp. EN LOS CULTIVOS COLOMBIANOS**

DAHANN STEFANY MAYORGA FIQUITIVA

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:

Especialista en Biotecnología Agraria

Director (a):

JUAN SEBASTIÁN CHIRIVÍ SALOMÓN

Ingeniero químico y microbiólogo

M.Sc. Ciencias Biológicas – área: microbiología

**Universidad Nacional Abierta y a Distancia
Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente
Esp. Biotecnología Agraria
Bogotá, 2018**

AGRADECIMIENTO

A los autores de las investigaciones sobre las cuales se basó la revisión científica, a mi familia por su apoyo, dedicación y por brindarme las herramientas para ser cada día más humana y a la Universidad por permitirme continuar con el proceso académico.

1. CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTO	III
1. Contenido	IV
2. Lista de figuras.....	V
3. Glosario.....	VI
4. Resumen.....	1
5. Abstract	2
6. Introducción	3
7. Planteamiento del problema.....	4
8. Objetivos.....	5
8.1 General.....	5
8.2 Específicos	5
9. Referentes Teóricos.....	6
9.1 <i>Colletotrichum</i> sp, hongo fitopatógeno.	6
9.1.1 Síntomas y signos.	8
9.1.2 Patogenicidad y virulencia.	10
9.2. Respuesta de defensa de las plantas al ataque de patógenos.....	11
9.2.1 Fitoalexinas.....	12
9.2.2 Inductores	12
9.2.3 Defensa basal	13
10. Estudio de las interacciones químicas y moleculares del <i>Colletotrichum</i> y sus hospederos en el mundo.	14
10.1 Estudios fisiológicos y bioquímicos.	14
10.2 Estudios moleculares.....	22
11. Estrategias biotecnológicas para mitigar el efecto del hongo a nivel nacional. 25	25
11.1 Estudios en diversas especies de Café.....	26
11.2 Estudios diversas especies de Ñame.....	27
11.3 Estudios diversas especies de Frutales.	29
11.4 Estudios en otras especies.	32
12. Discusión y Análisis	35
12.1 Estrategias biotecnológicas potencialmente útiles en el contexto colombiano. ..	35
13. Conclusiones.....	39
14. Bibliografía	41

2. Lista de figuras.

FIGURA 1. Ciclo de vida del filo ascomycota. Fuente. Rivera 2015	7
FIGURA 2. Características macroscópicas del hongo <i>colletotrichum</i> sp, a: medio potato dextrose agar natural inicial, b: pda final c: medio rosa bengala. Laboratorio unad 2015. Foto: mayorga, d y gonzález, a. 2015.....	7
FIGURA 3. Características microscópicas del hongo <i>colletotrichum</i> , a: hifa septada con crecimiento de 90°, b y c: glomeraciones de conidios simples, d, e, f. Acérvulos en pda natural. Laboratorio unad 2015. Foto: mayorga, d y gonzález, a. 2015.....	8
FIGURA 4. Síntomas de la enfermedad causados por las especies de <i>colletotrichum</i> . A- frutos de fresa afectados por <i>c. Nymphaeae</i> . B- mancha foliar causada por <i>c. Beeveri</i> . C- hoja de ñame afectada por <i>c. Gloeosporioides</i> agg. D- antracnosis del mango causada por <i>c. Gloeosporioides</i> agg. E- tizón foliar del maíz causado por <i>c. Graminícola</i> . F- baya de café afectada por <i>c. Kahawae</i> subsp. Fuente cannon et al. 2012.....	10
FIGURA 6. Ciclo de vida de la enfermedad causada por <i>glomerella cingulata</i> y <i>colletotrichum gloeosporioides</i> (agrios 2002).....	11
FIGURA 7. Relación de estudios por especie a nivel mundial.	37
FIGURA 8. Relación de estudios por especie a nivel nacional.	38

3. Glosario

Biotrófico – Organismo o parásito que obtiene nutrientes de organismo vivo y cuya subsistencia depende del hospedero parasitado, por lo cual lo mantiene vivo.

Elicitores – Son utilizados para referirse a un grupo diversos de compuestos estructurales (extrínsecos o aportados) que actúan como moléculas de señalización cuando existe peligro.

Esclerocio – Estructura dura, persistente, formada por una masa de hifas compactas plectenquimatosas, generalmente con melanina en la capa externa, pueden ser macroscópicas o microscópicas. Tiene sustancias de reserva y permanecen latentes por largos periodos, germinando en condiciones favorables.

Fitopatógeno – Organismo y/o microorganismo, que genera enfermedades en las plantas a través de disturbios en el metabolismo celular, al secretar enzimas, toxinas, fitoreguladores y otras sustancias y además absorbe nutrientes de la célula para su propio crecimiento.

Incidencia – Es la cantidad de individuos o partes contables de un individuo (plantas, frutos, hojas, etc.) Afectados por una determinada enfermedad respecto al total analizado.

Necrótrofo – Organismo parásito que mata las células del hospedero para luego alimentarse de ellas.

Ontogenia – También llamada morfogénesis u «ontogénesis» describe el desarrollo de un organismo, desde la fecundación de un cigoto durante reproducción sexual hasta su senescencia,

Propágulo – Estructura que funciona como unidad de propagación de los hongos. En los hongos pueden ser: mixamebas, zoosporas, conidios u otro tipo de esporas.

Screening – Es un tamizaje fitoquímico, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés.

Severidad – es el porcentaje de área de tejidos cubierta con síntomas.

Signos – Presencia visible del agente causante de la enfermedad; sea mediante una o varias de sus estructuras.

Sinapomorfia – Es un conjunto de caracteres derivados compartidos por más de un taxón.

Síntomas – Manifestación externa de la enfermedad que puede ser percibida por uno o más de nuestros sentidos.

4. Resumen

Colletotrichum sp. es uno de los hongos causantes de la antracnosis que se caracteriza por su afectación en plantas de importancia económica en nuestro país; dentro de las particularidades de este hongo se destaca su capacidad de adaptabilidad a las condiciones climáticas, debido a su variabilidad genética y a la presencia de diferentes hábitos y estructuras que le proveen resistencia. Se generó una revisión documental que tiene por objetivo recopilar los mecanismos químicos de defensa en las plantas hospederas del patógeno. Esto permitirá determinar posibles estrategias a futuro en el control de la afectación del hongo en los cultivos colombianos. Como resultado de la revisión se destaca la importancia de algunos genes como: neuropilina NPR1 en papaya y fresa, Ck-1 en café, Co-2, 17, 18, 42, 52 y 18 en frijol y la síntesis de compuestos fenólicos y fitohormonas (el etileno, ácido salicílico, ácido jasmónico), que han sido clave para muchas propuestas y avances en el estudio de la resistencia del patógeno en relación con la planta a nivel mundial.

Palabras clave: *Ascomycota*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *fitohormonas*, *fitopatógeno*, *resistencia*.

5. Abstract

Colletotrichum sp. is a recognized plant fungal pathogen which produces anthracnose disease in different plants of economic importance. This fungus can adapt to several weather conditions due to its genetic variability, as well its ecology and morphology confers advantages in the environment. In this paper, I aimed to review the reported chemical mechanisms of host plants against this pathogen. This will allow to propose new strategies of disease control in our crops. We found several resistance genes across different host plants: neuropilin NPR1 in papaya and strawberry, Ck-1 in coffee, Co-2, 17, 18, 42, 52 y 18 in beans, and the production of phenolic compounds and phytohormones (ethylene, salicylic acid, jasmonic acid) which have been reported as key elements in the interaction between *Colletotrichum* and host plants.

Key words: *Ascomycota*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *phytohormones*, *plant pathogen*, *resistance*.

6. Introducción

Colombia es un país con vocación agrícola, Finagro relaciona que se puede incrementar la producción por ser uno de los 7 países en Latinoamérica con mayor potencial en el desarrollo de áreas cultivables, contando con 22 millones de hectáreas, de las cuales solo 4,8 están sembradas, sin sumar la altillanura colombiana (3,5 mill de ha); la Fao citada por Finagro, establece que se deben generar procesos de mejora genética para mejorar la productividad del campo.

Sin embargo, la productividad se ve limitada por la presencia de diferentes hongos fitopatógenos, entre los más representativos, con mayor incidencia y afectación tisular, son los del género *Colletotrichum* (Cepero de García et al. 2012). Marulanda, Isaza & Ramirez (2007) establecen pérdidas entre 53 % y 70 % en cultivos de mora, y CORPOICA & ASOHOFrucol (2013) relacionan pérdidas cercanas al 40 % de mangos criollos tipo 'azúcar', lo que evidencia la limitante de este hongo en el desarrollo y productividad del campo colombiano.

Se han desarrollado investigaciones a nivel mundial en las que se identificaron genes y compuestos químicos en plantas, que confieren resistencia al proceso infectivo del hongo; por este motivo, se hace indispensable una documentación detallada de los mecanismos químicos de defensa en las plantas, haciendo especial énfasis en la interacción de *Colletotrichum* spp. y sus hospederos, que puedan brindar un panorama práctico de los hospederos del hongo en relación con su proceso de infección para que sean referentes en la investigación a nivel nacional.

7. Planteamiento del problema

El hongo *Colletotrichum* sp. es importante a nivel nacional e internacional, gracias a la diversidad de especies que tiene y su relación con variados cultivos, algunas de estas relaciones son: *C. destructivum* y *C. lindemuthianum* generan pérdidas superiores al 40 % en frijol (Aroche, 2006); *C. gloeosporioides* reporta pérdidas cercanas al 40 % en mango criollo, y se desarrolla en otros cultivos como árbol de tomate, ají, pimiento y papaya (CORPOICA & ASOHOFRUCOL, 2013); otros autores como López y colaboradores (2014) determinan pérdidas entre 53 % y 70 % en cultivos de mora y 75 % de pérdidas en cultivos de ñame (Cerón y Buitrago, 2006); como lo evidencian estos estudios, el género *Colletotrichum* es de importancia nacional y mundial dada la severidad con la que coloniza a sus hospederos.

Un factor importante de su estructura es el desarrollo de esclerocios que son formaciones que brindan al hongo un estado de resistencia y supervivencia, preservando el ADN y la estructura reproductiva del mismo al no encontrar condiciones de desarrollo y crecimiento adecuadas, (Ceperos de García et al. 2012); esto demuestra que combatir el hongo de manera mecánica o química (controles más usados en el gremio agrícola) no es un control definitivo del mismo y se requieren de estudios de índole biotecnológica, no obstante, se tiene conocimiento que a nivel mundial, se han desarrollado investigaciones en pro de la identificación de genes y compuestos químicos de las plantas asociadas a la resistencia del patógeno, los cuales pueden ser la base en el desarrollo de planes o mecanismos de defensa y mitigación de la afectación del hongo en Colombia.

8. Objetivos

8.1 General

Identificar mecanismos químicos de defensa en las plantas, estudiados en el mundo y a nivel nacional, para proporcionar un marco de referencia que ayude a mitigar el efecto del hongo *Colletotrichum* sp. en los cultivos colombianos.

8.2 Específicos

Reconocer las principales investigaciones desarrolladas a nivel mundial en torno a los mecanismos de defensa de las plantas, tales como genes y compuestos químicos, para contrarrestar los efectos del hongo *Colletotrichum* sp.

Brindar un marco de referencia en torno a los mecanismos de defensa de las plantas que ayuden a mitigar el efecto del hongo *Colletotrichum* sp en los cultivos colombianos.

9.Referentes Teóricos

9.1 *Colletotrichum* sp, hongo fitopatógeno.

La clasificación taxonómica del género *Colletotrichum* se desprende del reino Fungi, dentro del filo Ascomycota cuya sinapomorfia agrupan al hongo que forman 8 esporas sexuales dentro de unos sacos llamados ascos, debido a un proceso meiótico y mitótico de 2 núcleos (Ceperos de García et al. 2012). *Colletotrichum* es un género típicamente asexual, sin embargo, existen algunas especies que se han relacionado con un estado sexual del género *Glomerella* (Cannon et al. 2012). El ciclo de vida de *Colletotrichum* (Glomerellales: Glomerellaceae) contempla dos posibles estados reproductivos con propágulos de morfología y disposición genética diferentes (Figura 1); la reproducción sexual se establece en cuerpos fructíferos llamados ascocarpos en los cuales se desarrollan los mencionados ascos y la asexual se desarrolla a través un proceso de desarrollo ontogénico de los conidios conocido como conidiogénesis, el cual produce conidios en arreglo blástico o tálicos (Anhuaman, 2010; Ceperos de García et al. 2012).

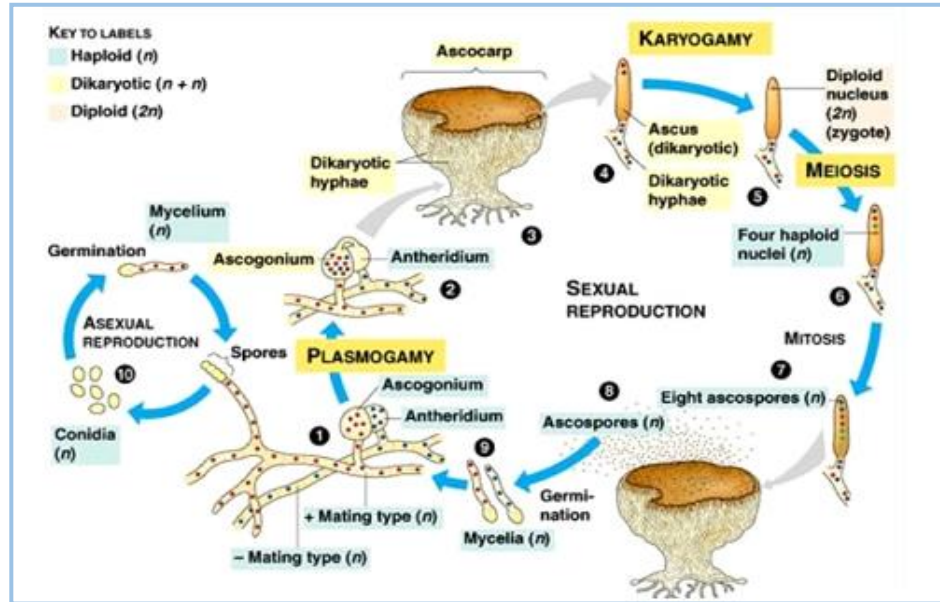


Figura 1. Ciclo de vida del filo Ascomycota. Fuente. Rivera 2015

Colletotrichum fue descrito por Corda (1831) quien dio las bases para caracterizar a este fitopatógeno fúngico. El hongo se presenta en diversidad de especies frutícolas, hortícolas, ornamentales y forestales, desarrollando diferentes características. Su morfología a nivel macroscópico *in vitro* se evidencia en la Figura 2, donde se observan colonias (crecimiento miceliar radial) aterciopeladas, de vez en cuando granuladas, de crecimiento lento, y cambios en la coloración después de llevar a cabo la reproducción, en este momento se inicia la etapa de senescencia que induce coloraciones más oscuras, otra ligera diferencia en la coloración se da por el medio de cultivo, como se observa en la figura mencionada (Cannon et al. 2012; Ceperos de García et al. 2012).

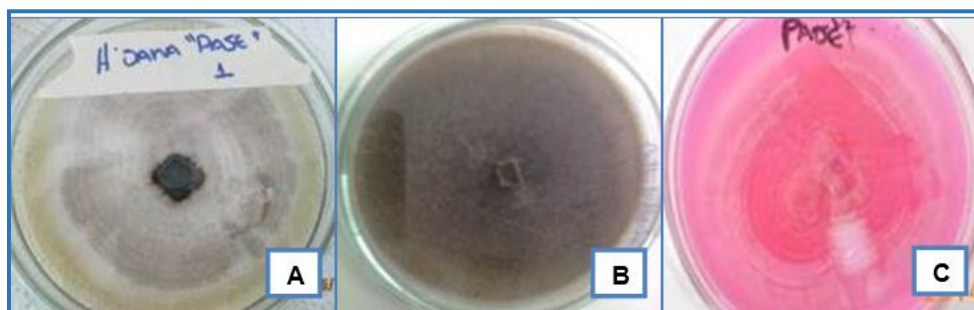


Figura 2. Características macroscópicas del hongo *Colletotrichum* sp, A: Medio Potato Dextrose Agar NATURAL Inicial, B: PDA final C: Medio Rosa Bengala. Laboratorio UNAD 2015. Foto: Mayorga, D y González, A. 2015.

A nivel microscópico, se encuentran estructuras asexuales como conidios hialinos, curvados y fusiformes y un acérvulo setoso, con crecimientos de 90° en hifas septadas (Figura 3- A), conidios simples sin septos, alargados y ovoides u oblongados (Agris 2005), de forma cilíndrica con ambos lados rectos y extremos redondos (Contreras, 2006) (Figura 3- B y C); y acérvulos (Figura 3- D, E y F), con forma de disco o cojín, ceroso, sub epidérmico llamado esporodoquio, de colores oscuros (Agris 2005).

El hongo es favorecido por temperatura y humedad relativa alta. Cuando los acérvulos se encuentran húmedos, liberan gran cantidad de conidios, que son llevados por el agua lluvia o de riego o las herramientas, la infección es directa gracias a la germinación del micelio y la penetración de lámina foliar (Agris, 2005).

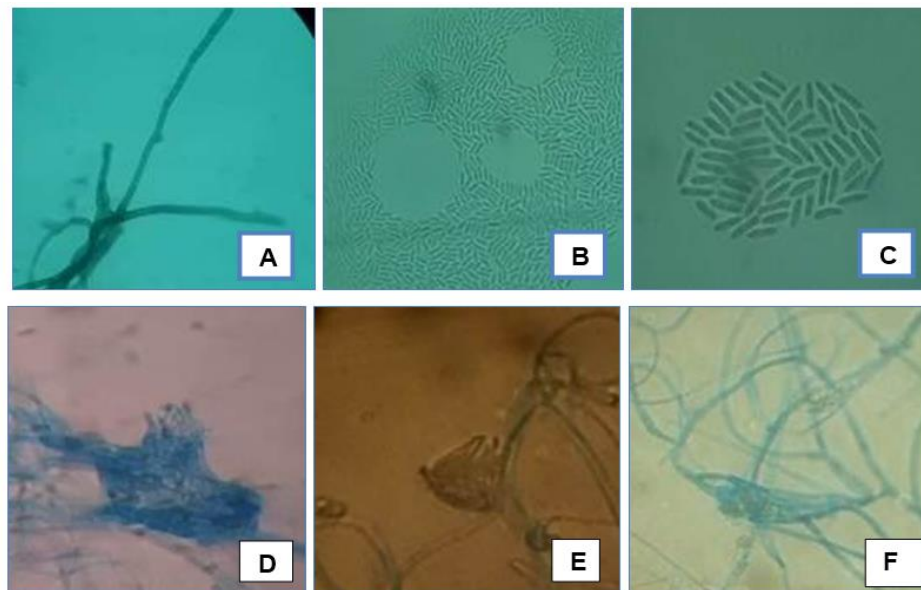


Figura 3. Características microscópicas del hongo *Colletotrichum*, A: Hifa septada con crecimiento de 90°, B y C: Glomeraciones de conidios simples, D, E, F. Acérvulos en PDA NATURAL. Laboratorio UNAD 2015. Foto: Mayorga, D y González, A. 2015.

9.1.1 Síntomas y signos.

El hongo *Colletotrichum* ocasiona pérdidas de hasta el 75 % en diversos cultivos;

algunos frutales afectados son: el mango (*Mangifera indica* L.), el aguacate (*Persea americana* Mill.), el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Cav.), la papaya (*Carica papaya* L.), la mora (*Rubus glaucus* Benth), el lulo (*Solanum quitoense* Lam.), la guanábana (*Annona muricata* L.), la fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.), la sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.), el melón (*Cucumis melo* L.), el plátano (*Musa* spp.), la guayaba (*Psidium guajava* L.), el maracuyá (*Passiflora edulis* Sims) y los cítricos (*Citrus* spp) y otros cultivos que se ven afectados son: el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), la soya (*Glycine max* L. Merr.), el sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), la alfalfa (*Medicago sativa* L.), el ñame (*Dioscorea* spp.), la yuca (*Manihot esculenta* Crantz), el pimentón (*Capsicum annum* L.), el café (*Coffea arabica* L.), y algunos cereales, leguminosas, pastos y cultivos perennes (Cerón y Buitrago, 2006; Correa et al. 2007).

Según Contreras (2006), los síntomas se desarrollan dependiendo de la localización y adherencia del hongo al hospedero (intracelular o sub cuticular). Esta enfermedad puede afectar órganos aéreos de la planta como hojas, ramillas y frutos; en las hojas produce manchas dispersas en la lámina foliar, con extensas áreas necróticas en los bordes, cuando hay una incidencia alta puede producir la defoliación total de las plantas (Figura 4- B y C), en tallos y ramas muestran síntomas como anillos necróticos que conducen a una muerte descendente relativamente rápida (Figura 4- C y F) (Arguedas y Cots, 2012) algunos otros síntomas se relacionan a chancros, costras, cicatrices, infecciones latentes sobre frutos, halos o circunferencias necróticas como lo muestra la figura 4 A, D y E. Especialmente la acacia muestra síntomas como: necrosis de los ápices y manchas foliares, mostrando signos que inician con manchas ovaladas o circulares de color café-rojizo, también negro o castaño, causando secamiento y encrespamiento total del limbo foliar con una rápida defoliación. Chavarriaga (2011) relaciona a daños en la lámina foliar en edad madura y con una expansión de lámina total en palma.

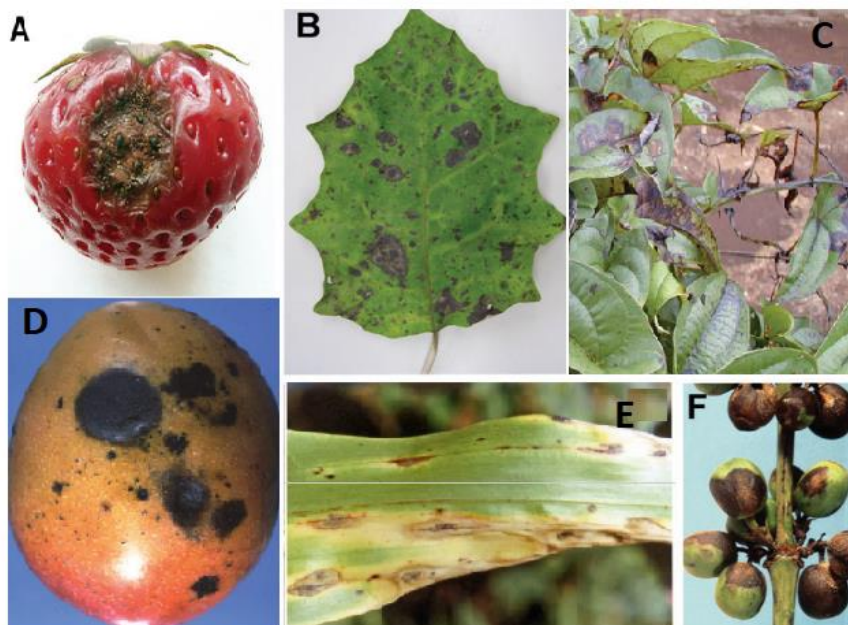


Figura 4. Síntomas de la enfermedad causados por las especies de *Colletotrichum*. A- Frutos de fresa afectados por *C. nymphaeae*. B- Mancha foliar causada por *C. beeveri*. C- Hoja de ñame afectada por *C. gloeosporioides* agg. D- Antracnosis del mango causada por *C. gloeosporioides* agg. E- Tizón foliar del maíz causado por *C. graminicola*. F- Baya de café afectada por *C. kahawae* subsp. Fuente Cannon et al. 2012.

9.1.2 Patogenicidad y virulencia.

Es un hongo generalista que se presenta en un amplio rango de plantas hospedadoras a nivel mundial (Figura 4), se manifiesta como saprófito o fitopatógeno de alta incidencia en cultivos de varias especies y familias, presentando problemas no sólo en cultivo y en cosecha sino también en poscosecha. Contreras (2006) relaciona que la incidencia de la enfermedad varía marcadamente de acuerdo a la susceptibilidad varietal, las condiciones climáticas y la virulencia del patógeno (Oliveira et al. 2005). Velastegui et al. (2009) demuestra que *Colletotrichum* sp. no sólo se encuentra en épocas húmedas, también en época seca mostrando incidencias más bajas, lo que evidencia que esta enfermedad es constante, desarrollando ciclos más largos en estas épocas, pero continuando con la disseminación y contaminación de la enfermedad a las plantas en épocas secas. Las especies de este género son consideradas como las más exitosas dentro de los hongos patógenos gracias a su potencial para

producir infecciones latentes o quiescentes, con mayor frecuencia en zonas templadas y tropicales (Contreras, 2006; Jeffries, 1990).

Las especies de *Colletotrichum* sp. se desarrollan en dos fases principales de nutrición, durante la colonización de la planta: la fase inicial biotrófica es corta y asegura el crecimiento de la planta gracias a la falta de reconocimiento del patógeno, obteniendo alimento de las células vivas y asegurando la colonización en él; en la segunda fase tardía necrótrufa, inicia la aparición de síntomas específicos del hongo, con el incremento de la actividad enzimática y por consiguiente la degradación de la pared celular en el tejido, en esta fase la alimentación la obtienen de las células muertas (Cerón et al. 2006.)

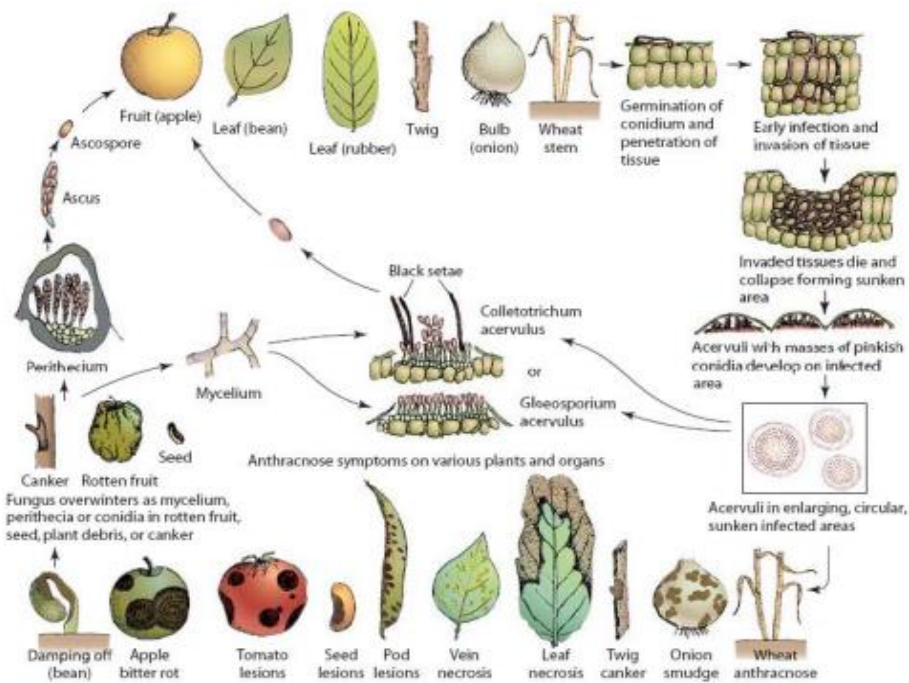


Figura 5. Ciclo de vida de la enfermedad causada por *Glomerella cingulata* y *Colletotrichum gloeosporioides* (Agris 2002)

9.2. Respuesta de defensa de las plantas al ataque de patógenos

La investigación fitopatológica contempla líneas de investigación, dentro de las cuales se consideran diversas características físicas y químicas específicas de la enfermedad en función del ataque y disposición de estas en las plantas, gracias a estos análisis se pueden determinar y tomar medidas para que desde una perspectiva molecular se analicen alternativas que permitan mitigar el crecimiento del organismo afectando su metabolismo, afortunadamente, el hongo es uno de los más estudiados en la última década gracias a la prevalencia y severidad en diversos cultivos.

9.2.1 Fitoalexinas

Vivanco y colaboradores (2005) relacionan la defensa química en las plantas en interacción al patógeno, principalmente por la acción de las fitoalexinas que son compuestos químicos sintetizados por la planta en respuesta a una invasión microbiana. Una de las primeras en ser identificada fue la pisatina proveniente de las vainas de guisante (*Pisum sativum*), que pertenece a las fabáceas y que es una de las familias que ha sido estudiada genéticamente por la síntesis de fitoalexinas. En otras familias, como las solanáceas (la familia de la patata y el tomate), se han descrito fitoalexinas como los sesquiterpenoides.

9.2.2 Inductores

El término inductores fue acuñado para relacionar las moléculas asociadas al sistema de percepción de microorganismos invasores en las plantas, estas moléculas causan la inducción de reacciones de defensa de manera específica gracias a la detección de polisacáridos, proteínas o peptidoglucanos, localizados extracelularmente o en la superficie del hospedero; actualmente los inductores se llaman PAMPs (patrones moleculares asociados a patógenos, por sus siglas en inglés), estos se unen a los receptores de reconocimiento de patrones (PRR), que operan en la transducción de la señal y en la activación de genes de la célula vegetal comprometidos en las tareas de defensa, iniciando directa o

indirectamente, con la percepción de un PAMP por un PRR brindando una respuesta local con síntesis de fitoalexinas (Vivanco et al 2005).

Este proceso puede o no incorporar el elemento apoptótico de respuesta hipersensible (HR, por sus siglas en inglés), lo cual implica una PDC (Programmed Cell Death, por sus siglas en inglés) en el sitio de la infección, esto conduce a que la HR podría inhibir o retrasar la propagación del patógeno en la planta, dependiendo de la planta y el estado del patógeno (Gutiérrez y de la Torre 2016).

9.2.3 Defensa basal

Gutiérrez y de la Torre (2016) en su documento integran la defensa química (alcaloides, fenoles simples o polifenoles, aceites, esencias y terpenos) y las barreras estructurales (tejidos en la cutícula de la planta) como los principales los mecanismos de defensa en la planta, estos mecanismos de defensa dependen de la defensa basal (PAMP) y inmunidad dirigida (PTI inmunidad inducida por PAMP), la cual aparece en los estadios iniciales de la infección, no obstante los hongos han logrado adaptarse desarrollando proteínas y moléculas efectoras que suprimen PTI generando susceptibilidad a la inmunidad activada (ETS) al patógeno y desarrollando con ello susceptibilidad de la planta y la creación de nuevos efectores de reconocimiento para contrarrestar el efecto en las plantas, la calosa es un polisacárido que por hidrólisis produce glucosa y que se ha visto que los compuestos producidos por la acción de los efectores sobre la pared celular de las células vegetales (elicitors) son capaces de inducir depósito de calosa o respuesta hipersensible

Vivanco et al (2005) relaciona el ácido salicílico y el ácido jasmónico, como ácidos especiales en el desarrollo de señales que permiten a la planta conectar con otros componentes para generar la reacción de HR. En la respuesta sistémica adquirida interviene la acción de la fenilalanina amonioliasa, la cual es una

enzima que cataliza el primer paso en la biosíntesis de los fenilpropanoides y la producción de ácido salicílico (un derivado de esta vía), el cual regula los niveles de metabolitos laterales de la vía de los fenilpropanoides, tales como el ácido clorogénico; existe una estrecha relación entre los niveles de ácido jasmónico y los de ácido salicílico. Según parece, los niveles elevados de salicilato inhiben la síntesis de ácido jasmónico y la capacidad de la planta para responder a las señales provenientes de una herida. Pero el ácido jasmónico bloquea la capacidad del ácido salicílico para producir proteínas inducidas por patógenos, por su lado el ácido jasmónico desempeña un papel central en la acumulación de transcriptos en plantas expuestas a herbívoros.

10. Estudio de las interacciones químicas y moleculares del *Colletotrichum* y sus hospederos en el mundo.

En la última época, se ha evidenciado resistencia en los patógenos por los mecanismos de defensa de las plantas, avances en el área demuestran que a través de la ingeniería metabólica podría hoy lograrse un resultado similar al que se generaba antes de poseer resistencia.

10.1 Estudios en detección de interacciones químicas y moleculares.

La SEF (2009) relaciona la identificación de especies de Olivo con resistencia, relacionando algunos elementos como la composición nutricional de frutos y de plantas, vinculando concentraciones de compuestos fenólicos y algunos otros compuestos como el etileno, ácido 3 indol-acético y ácido jasmónico.

Trabanco et al (2015) exponen las características de la nueva región cromosómica involucrada en el control genético de la resistencia a antracnosis en frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*). Ellos desarrollaron 5 aislamientos de *C. lindemuthianum*, clasificados en cinco razas (3, 6, 7, 38 y 73), se analizaron 156 familias derivadas del cruce entre la línea SEL1308 (con resistencia a las 5 razas) y el cultivo de Michigan (riñón MDRK rojo oscuro, susceptible a todas excepto la raza 73); la segregación de respuesta en las razas 3 y 7 mostraron genes dominantes, por su lado las razas 6 y 38, brindan dos genes dominantes e independientes que confieren resistencia, en la raza 73 se implicó la región LG PV08, correspondiente a las emisiones de Co-4 y Co-17, incluyendo la resistencia de Co-42 y SEL1308, con genes de resistencia situados al principio de la LG PV08, los resultados obtenidos revelaron la presencia de 7 genes que codifican proteínas típicas de resistencia (R-proteínas) en posición física subyacente de la región de Co-17.

Sousa et al (2014), en su investigación relacionan el mapeo genético del alelo de resistencia Co-52 a *C. lindemuthianum*, vinculando MSU 7-1 que es una línea de reproducción de frijol común que contiene el Co-5 de frijol común, estableciendo análisis fenotípicos de una población F2 derivada de la variedad México 222 (S) × MSU 7-1 (R), la cual fue inoculada con la raza 64 del hongo, la segregación reveló una proporción de 3R:1S la cual indica que sólo Co-5-2 confiere resistencia a la raza 64r una vez que el gen Co-7 ha sido derrotado por esta raza, se encontró que Co-52 estuvo presente en el marcador molecular G 2333 y ausente en los otros cultivares, identificando que el alelo y marcador están ligados físicamente en la configuración de resistencia presente en el MSU 7-1 y G 2333, estos cultivares pueden ser controlados con gran eficacia mediante el marcador

molecular G12333250, brindando como respuesta que la relación de marcadores moleculares y la confirmación de Co-5-2 expresa resistencia y determina la selección asistida por marcadores, así mismo es útil para programas de resistencia a la antracnosis en frijol.

Aroche (2006) relaciona pérdidas superiores al 40 % en la especie de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) debido al hongo *Colletotrichum lindemuthianum*; relacionando la herramienta de selección asistida con marcadores moleculares (MAS) y el uso de marcadores moleculares SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) como líneas eficientes en la selección de genes de resistencia, identificando marcadores en variedades comerciales y genotipos diferenciales que sirven de base para el desarrollo de variedades resistentes, así mismo se llevaron a cabo evaluaciones fenotípicas de identificación de tres genes de resistencia, determinando la presencia o ausencia de los mismos y la inoculación con tres aislamientos provenientes de la región con presencia de genes Co-2 y Co-42, concluyendo que la integración de estos genes con variedades resistentes pueden ser herramientas en programas de mejoramiento. Continuando con los avances, México ha desarrollado investigaciones claras y contundentes con el propósito de dar un contexto y solución a la problemática de *Colletotrichum* sp. en frijol. Vargas y colaboradores (2008), en su investigación indican que el Banco Nacional de Germoplasma Vegetal de México (<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/bangev-uach.html>) representa una gran fuente de recurso genético, de la cual se seleccionaron 200 accesiones que forman la colección de frijol común, para promover la tecnología en mejoramiento; en esta accesión, se identificaron fuentes de resistencia a *C. lindemuthinum* que abre las oportunidades de encontrar más genes intrínsecos de resistencia para dar soluciones a la problemática en torno al hongo.

10.2 Estudios en caracterización de interacciones químicas y moleculares.

Coelho (et. al) 2016, caracterizaron aislamientos de *C. lindemuthianum*, a partir de 65 razas de diferentes regiones de Brasil por su secuenciación estableciendo 17 aislamientos, estas razas fueron seleccionadas en los estados de Mato Grosso, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina y São Paulo. En las secuencias de los aislamientos 8, 9, 12, 14 y 15, se evidenció la presencia de dos polimorfismos de un solo nucleótido en la región ITS1 (Espaciadores Internos Transcritos, por sus siglas en inglés) en la misma posición, los análisis descubrieron el nucleótido SNP (Single Nucleotide Polymorphism, pronunciado snip) en la región 2, evidenciando mayor diferencia genética entre los aislamientos 11 y 3, los aislamientos 11 y 10 mostraron una diferencia de 0.772, los aislamientos el 7 y 2 fueron los más similares con un valor de 0,002 de distancia genética, los resultados del estudio se basaron en la obtención de el árbol filogenético a partir de las secuencias de la SU1 y SU2, revelando la formación de dos grupos, así como la alta variabilidad molecular entre aislamientos de raza 65 de *C. lindemuthianum*.

Frias y colaboradores (2016), en su investigación vinculan la resistencia genética a *C. lindemuthianum* en el cultivar andino Jalo Pintado 2 de Frijol común, teniendo en cuenta la herencia y un test de alelismo, en condiciones de invernadero. El cruce de la población F2 de jalo Pintado 2' (R) × Cornell 49-242 (S), inoculado con la raza 73 de *C. lindemuthianum* y ajustando la proporción de 3R: 1S, demostró la acción de un gen dominante en el cultivar; en las pruebas de alelismo se encontró que el gen '2' de Jalo Pintado es independiente de las caracterizaciones: Co-1, OC-2, OC-3, OC-34, OC-4, OC-42, OC-43, OC-5, OC-6, OC-11, OC-12, OC-13, OC-14, OC-15 y OC-16, el cual es también independiente de los genes presentes en los cultivos de Paloma, Perla y Amendoim Cavallo. Los autores proponen el Co-18 como acrónimo para designar el nuevo gen de resistencia a la antracnosis.

Rao & Nandineni (2017) secuenciaron el genoma y realizaron un análisis de genómica comparativa, en la cual identificaron una línea de genes de

patogenicidad en el hongo *Colletotrichum truncatum* del pimiento. Estos genes codifican proteínas secretadas, efectores y enzimas que degradan la pared celular. Teniendo en cuenta que el genoma nuclear de *C. truncatum* no tiene homología con el genoma mitocondrial de otras especies de *Colletotrichum* sp, se identificaron 13,724 genes, donde el 74% del total de proteínas indicaron poca o ninguna evidencia de apoyo para estas anotaciones. Asimismo, relacionan que para el genoma de *C. truncatum*, la predicción de genes fue altamente fiable, DEA reconoce dominios en un gran número de proteínas que apuntan hacia la alta calidad del borrador de la secuencia del genoma de *C. truncatum*. Como conclusión, la genómica comparativa fue consistente con los hallazgos previos que muestran la expansión de algunas clases de genes potencialmente involucrados en la patogenia de la enfermedad, en particular de proteínas secretadas y efectores, así como enzimas carbohidrato-activas (CAZimas, por sus siglas intermedias en inglés), proteasas y síntesis de genes asociados con especies de *C. truncatum*, cuando se compara con otros hongos fitopatógenos.

Bhadauria y colaboradores en el 2017, analizaron la interacción entre los genes de lenteja y la resistencia a *Colletotrichum lentis*, a partir de este análisis desarrollaron una biblioteca de plásmido cDNA con la lenteja susceptible, generando un total de 11,094 etiquetas de secuencia expresada, representando 3,488 unigenes, dando como resultado el mapeo de *C. lentis* y *L. culinaris*, los autores concluyen que hay una compleja interacción molecular entre la resistencia a las enfermedades y las proteínas efectoras compatibles durante la interacción del patógeno y la planta, específicamente cuando esta última genera mecanismos de defensa. El transcriptoma de los hongos en fase necrotrófica contenían casi el 20 % (2.418) de los 12.086 genes de *C. lentis*, la mayoría de hongos unigenes 95 % (1.833) pertenecen al género *Colletotrichum* sp, siendo transferidos probablemente horizontalmente de otras especies, para colonizar nuevas líneas.

Por su lado, Espinosa y colaboradores (2013) describen el gen defensina de la especie *Arabidopsis thaliana* como portador de resistencia a *C. lindemuthinum* en frijol común transgénico. Citando a varios autores, como Thevissen *et al* 1996; Bohlmann 1994 y Lay & Anderson 2005, relacionan que este gen codifica para un péptido catiónico básico de 45 a 54 aminoácidos, ricos en cisteína y 5 KDa de tamaño, con poder antimicrobiano de amplio espectro, de acción directa en las membranas de microorganismo, con gran afinidad en la unión de células a través de la membrana plasmática de las hifas de los hongos vivos; la defensina posee una homología mayor al 85% en líneas transgénicas de *Phaseolus vulgaris* L. Los autores determinaron que la flor de Mayo Anita, expresa el gen defensina PDF1.2 que se expresa bajo el control del promotor CaMV-35S dando a las plantas de frijol resistencia al patógeno, lo cual se evidencia con la reducción significativa de lesiones y la proliferación de esporas en los tratamientos T0, T1 y T3 en comparación con las plantas no transformadas, los resultados obtenidos por los autores evidencian que la expresión génica del gen PDF1.2, con pruebas de PCR cuantitativa (Q-PCR), muestra plantas consideradas resistentes o tolerantes y expresan un nivel similar de expresión transcripcional, siendo resistentes al patógeno a diferencia de las plantas susceptibles, las cuales no mostraron presencia del gen PDF1.2.

Oliveira y colaboradores (2017), muestran la identificación de aislados de *Colletotrichum* sp. de Chile *Capsicum chinense* en el Amazonas, mediante caracterización molecular a través del uso de la PCR en lugar de sondas radiactivas para visualizar los polimorfismos (PCR-RFLP), (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) ERIC-PCR y (Inter Simple Sequence Repeat) ISSR, se realizaron análisis filogenéticos para el cribado morfológico de aislamientos similares, usando matrices combinadas de diferentes regiones moleculares, como: la actina (ACT), gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) para los tres aislamientos INPA (2066, 2286 y 1858), y superóxido dismutasa (SOD2) para el INPA 2066; algunos de estos resultados mostraron diferentes especies de *Colletotrichum* sp. asociadas con *C. chinense*, a nivel

secuencial las cepas mostraron similitud con *Colletotrichum siamense* y *C. brevisporum* en valores cercanos al 99% y 96% de identidad, respectivamente. El aislamiento de INPA 2286 formó un clado monofilético compatible (inferencia bayesiana, IB = 0,87) con tres cepas de *C. scovillei* y el INPA 1858 formó otro con dos aislamientos de *C. brevisporum* (BI = 1). Los autores relacionan este estudio como el primer informe de antracnosis en frutos de pimiento (*C. annuum L.*) en Brasil, evidenciando que los marcadores moleculares fueron capaces de distinguir los aislamientos de *Colletotrichum* sp. estudiados, y los resultados fueron confirmados por el análisis filogenético en las tres especies diferentes de *Colletotrichum*.

En Ecuador se vinculan investigaciones a nivel morfológico, patológico y molecular del hongo. Alarcón (2012) relaciona la descripción morfológica típica de la especie, identificando con prueba de benomil, la probabilidad de la especie *C. acutatum*, con un 73,34 % y el restante de *C. gloeosporoides*. A nivel genético, se encontró una relación directa de los géneros con las secuencias ITS1 de los productos PCR, estas secuencias en *C. acutatum* alcanzaron un promedio de 596 nucleótidos, de los cuales 578 se encontraron en sitio conservado, 96 en sitio variable y 54 parsimoniosos informativos, los cuales muestran mayor variabilidad dentro de la secuencia comparada, mostrando una homología del 100% con la secuencia del Genbank EF464594, el estudio se basó en las especies de Cholo y tomate de árbol, resultando esta última especie como la más susceptible al hongo.

En su tesis doctoral, Amil (2013) utiliza la fresa como modelo para identificar mecanismos de defensa ante la infección por *Colletotrichum*, modelo que posteriormente sirvió para formular una propuesta de microarreglos utilizando marcadores de secuencia expresada (ESTs, por sus siglas en inglés). Esto permitiría identificar con certeza los genes candidatos involucrados y potencialmente útiles para contrarrestar al patógeno; el proceso de evaluación de la defensa de la planta se llevó a cabo utilizando *Fragaria x ananassa*, una línea

más susceptible que la otra, se cuantificaron fitohormonas tras la infección y se encontró que 4 de ellas ácido abscísico (ABA), ácido indol-3-acético (IAA), ácido jasmónico (JA) y ácido salicílico, eran importantes en la reacción contra el ataque, estimulando a la planta para una defensa efectiva. Los resultados obtenidos mostraron diferencias, la línea más susceptible incrementó los niveles de SA y JA, en contraste con el otro cultivar, el cual disminuyó el contenido de SA y muy ligeramente incrementó la concentración de JA, indicando que los incrementos de SA y JA podrían guiar a una respuesta de defensa ineficiente en contraste con la especie menos susceptible, los niveles basales bajos de SA podrían correlacionarse con diferencias en la susceptibilidad de los dos cultivares, identificando la inducción de genes clave en el control de rutas importantes de señalización dependientes de SA y JA, mostrando que estas rutas promueven la resistencia a *C. acutatum*. Adicionalmente, Amil en su documento identifica mecanismos moleculares que promueven la defensa a *C. acutatum*, detectando la modificación en el sistema de sensores que genera el reconocimiento e identificación del invasor por los receptores específicos de tipo PRR y R, así como la activación de una variedad de mecanismos de transducción de señal basados en proteínas de unión a calcio, fósforo, ubiquitina y factores de transcripción dependientes de compuestos hormonales específicos, que generan la transición hacia la respuesta de defensa (plant growth-to-defense transition) y producen un impacto en la síntesis de nuevas proteínas y componentes del sistema secretor para contrarrestar la infección. Todos estos componentes representan un modelo de pasos consecutivos llevados a cabo por la célula en respuesta de defensa contra *C. acutatum*. Concluyendo los análisis desarrollados por este autor, identificaron cinco miembros de la familia de proteínas Neuropilina NPR1-like en fresa (*Fragaria x ananassa*), los cuales son importantes y claves en la resistencia a patógenos mediada por SA en *Arabidopsis* y en otras plantas, la modulación del nivel de expresión de los genes Neuropilina NPR1-like es atractiva para incrementar la resistencia en fresa, los genes FaRIB413, FaACTIN, FaEF1 α y FaGAPDH2 son recomendados como referencias óptimas para la cuantificación relativa de expresión génica, así mismo los genes FaWRKY70 y

FaWRKY33, podrían mediar la regulación mutua entre las rutas de señalización dependientes de SA y JA, como se ha mostrado en otras plantas modelo, al igual que actuar como importantes factores claves en el control de la respuesta de defensa en especie.

10.3 Estudios en aplicación de interacciones químicas y moleculares.

Akinbode, & Ikotun 2008 plantean el análisis de la especie *Vigna unigiculata* L. (frijol) como hospedero del hongo *Collectotrichum destructivum*, generando lesiones en el cinto, tallo y pecíolos, es predominante en el suroeste de Nigeria, los autores relacionan la reducción de la infección con tratamientos de benomil perjudiciales para el medio ambiente, propiciando el desarrollo de investigaciones en el área con extractos vegetales, usaron 3 extractos, *Moringa oleifera* - *Annona muricata* y *Vernonia amygdalina* con diferentes tiempos de exposición (horas de remojo) evidenciando la reducción a *C. destructivum* en relación a la incidencia sobre las semillas tratadas, algunos de los resultados demostraron la reducción significativa del 18,6 % en semillas tratadas con un 10 % de los extractos durante 18 h, el control total se obtuvo con el tratamiento de semillas de frijol al 20 % y 30 % de extracto a 18 y 12 h, a nivel foliar *M. oleifera* redujo la incidencia a 7,8 % y 0,5 % en el 20 % de extracto con 12 y 18 horas de remojo, el extracto crudos de *V. amygdalina* no evidenció reducción en la incidencia de la enfermedad en concentraciones bajas en contraposición con las concentraciones altas, las cuales evidencian reducciones significativas del patógeno, estos análisis evidencian que *M. oleifera* y *A. muricata* son superiores al control químico.

Gonçalves y colaboradores (2007), realizan en su investigación el control genético de las especies *Michelite*, Perry médula renal, Cornell 49-242 y G 2333, todas las poblaciones de F1s fueron evaluadas en relación a la raza 89, exceptuando el cultivar G 2333 gracias a su alelo resistente, obteniendo como

resultado menor resistencia en la raza 31, por su lado los genes AB 136 y PI 207262 padres son adecuados en programas de mejoramiento con el fin de obtener resistencia en la raza 31, las especies *Michelite*, Perry médula renal y Cornell 49-242 no son recomendadas por la concentración de alelos recesivos, además son susceptibles a la raza 31; la relación de las razas 31 y 89 evidencian la posibilidad de avances genéticos según el tipo de selección y la proporción de aditivo de la variación genética que podrían transmitirse a la siguiente generación, lo cual hace que la proporción del aditivo sea un factor importante en la expresión del rasgo de resistencia a *C. lindemuthianum* en las razas 31 y 89.

Maracahipes et. al (2017), en su investigación relacionan los componentes de resistencia al hongo *Colletotrichum gloeosporioides* en genotipos de ají y pimiento *Capsicum* sp., desarrollando un diseño experimental de bloques completamente al azar (3 repeticiones con 4 frutos maduros y 4 verdes relacionando 88 tratamientos), con accesiones del Banco Activo de Germoplasma de la Universidad del Estado de Mato Grosso. El estudio se desarrolló con una suspensión de esporas de 106 células por mL de inóculo para cada fruto, con un control negativo utilizando agua ultra pura y fue llevado a cabo en cámaras húmedas. Se realizaron mediciones de diámetro y longitud en lesiones por 11 días, algunos de los resultados obtenidos para genotipos (G), etapa de fruta (F) e interacción (G x F) fueron significativos ($P < 0,05$), evidenciando diferencias entre las magnitudes de las correlaciones genotipo según etapa de fruta.

Gichimu y colaboradores (2014) relacionan el gen Ck-1 de café Robusta (*Coffea canephora* Pierre) como uno de los principales genes de resistencia a la enfermedad de la cereza del café (CBD, por sus siglas en inglés). En los análisis desarrollados se utiliza el microsatélite Sat 235 para evaluar la ocurrencia del gen CK-1 en la cepa Ruiru 11 y sus genotipos parentales (café robusto resistente, *C. arabica* no resistente, caturra, Ruiru 11, 34 parientes de Ruiru 11 y 14 genotipos parentales con diferentes reacciones a CBD), estableciendo un diseño completamente al azar con tres repeticiones. La inoculación se desarrolló a las 6

semanas con suspensión conidial de *C. kahawae* estandarizado de $2,0 \times 10^6$ esporas mL⁻¹. Los resultados encontrados se basan en evidenciar que todos los parentales de la cepa Ruiru 11 tienen el gen CK-1, por ende, desarrollan resistencia al CDB, en contraste con la muestra Rume sudán que no es resistente, lo que muestra que el microsatélite Sat 235 es útil y de gran potencial.

Berumen et al. (2015) le atribuyen al quitosán o quitosano (polisacárido lineal compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de β - D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina) con propiedades antimicrobianas, y lo establecen como inductor de resistencia en plantas, especialmente en frutos de mango, algunas de las observaciones hechas por los autores dan como resultado que el quitosano presenta un buen control contra *Colletotrichum* sp, desarrollando vacuolización del citoplasma en micelio y esporas, así como degradación de estructuras tan importantes como la membrana plasmática y la pared celular. En relación a los procesos *in vitro*, el quitosano inhibió la germinación de esporas, la elongación del tubo germinativo y el crecimiento micelial de *Colletotrichum* sp. para los tratamientos aplicados a los frutos en poscosecha, el quitosano a concentraciones de 1.0 % y 1.5 % inhibió por completo a *Colletotrichum* sp. comparado con el control, el quitosano al 1.0 % aumentó la actividad enzimática y la expresión del gen que codifica para la peroxidasa, esto puede ser un mecanismo de acción en frutos de mango, con este proceso se genera una cadena de comunicación celular que impide el desarrollo del hongo. Gutiérrez et al. (2017) evalúan la respuesta del quitosano a nivel *in vitro* sobre *Colletotrichum* sp. al igual que el efecto sobre la frecuencia y la calidad de la fruta tropical, el estudio inició con el aislamiento del hongo en tres especies de fruta (guanábana, mango y plátano), este último evidenció la sensibilidad de la cepa a diferentes concentraciones de quitosano, mostrando limitación en germinación y desarrollo del patógeno. Algunos de los resultados encontrados en almacenamiento (10 días) mostraron que los controles en las tres especies de fruta tuvieron una afectación considerable, el tratamiento con quitosano al 1.0% estableció una inhibición del 80 % a 100 %, el proceso de maduración no tuvo diferencias

significativas en relación a la presencia de quitosano, la enzima peroxidasa (POD) y polifenol oxidasa (PFO) fueron observadas en frutos de mango cv. 'Tommy Atkins, obteniendo que la actividad de las enzimas es mayor en los tratamientos con quitosano y la concentración de 1.0% fue capaz de inducir expresión de los genes de POD y PFO hasta las 24 h, concluyendo que el efecto del quitosano es efectivo para el control *Colletotrichum* sp. *in vitro*.

Hindorf & Omondi (2010) hicieron un análisis de las enfermedades mitóticas más importantes en Etiopía, encontrando a *Colletotrichum kahawae* como el causante de CBD. Se identificó en ciudades como Bonga con un 40,0 % de frecuencia y en Yayu con un 26,3 %, y con menos frecuencia en ciudades como Harena (18,6 %) y Berhane-Kontir (6,0 %), lo que evidencia un desarrollo de programas de reproducción con el fin de mitigar la incidencia de la enfermedad y brindando un mejoramiento en la especie con la utilización exitosa de genes mayores designados SH que se utilizan solos o en combinaciones; las investigaciones concluyeron que la variedad de café arábica demostró resistencia a CBD a través de análisis moleculares en cepas (4,7,24,50) de Etiopía, encontrando que las variedades resistentes tienen el potencial para reducir los costos de producción y ofrecer mejores enfoques de manejo ambiental de la enfermedad.

11. Estrategias biotecnológicas para mitigar el efecto del hongo a nivel nacional.

Las investigaciones en torno al hongo *Colletotrichum* sp. a nivel nacional son bastantes representativas, ya que de ellas depende en parte el futuro del agro y

de la productividad de sus cultivos, algunas de las variedades más afectadas por el hongo son: el café, el frijol, el ñame y algunos frutales como el mango el tomate de árbol y la mora, entre otros.

11.1 Estudios realizados en diferentes especies de Café.

Romero (2013) evidenció que la variedad Híbrido de Timor (HdeT) de café presenta resistencia al hongo *Colletotrichum kahawae* dado su carácter tetraploide y su elevada compatibilidad con la especie arábica, así mismo relaciona que esta especie es importante y de gran valor porque es uno de los productos con más exportación en Colombia y es uno de los símbolos del país. Por otro lado, Guzmán & Moncada (2012) desarrollaron la evaluación de marcadores SSR (Repetición de Secuencias Discretas) ligados a la resistencia de *Colletotrichum kahawae* en *Coffea arábica*, este fitopatógeno se asocia a la CBD con afectación en flores y frutos maduros, validando la asociación entre la resistencia a CBD y 15 microsatélites reportados previamente para detectar marcadores útiles en la selección asistida, los microsatélites se evaluaron preliminarmente utilizando un genotipo susceptible (cv. Caturra) y un grupo diverso de 21 genotipos resistentes los cuales pueden ser portadores de los genes T (Híbrido de Timor), R (Rume Sudán) y K (variedad comercial K7). Posteriormente, se usaron 64 genotipos para validar la asociación entre los microsatélites candidatos con resistencia a CBD, se evaluaron en el Centro de Investigaciones de las Royas del Cafeto en Portugal, se encontró que tres de los 15 microsatélites (FR34- 6ctg, CMA276 y Sat227) son portadores de los genes T y R; adicionalmente en los microsatélites CMA276 y Sat227, se detectaron bandas asociadas a un alelo de resistencia presente en genotipos silvestres de *C. arábica*. Según los autores, estos microsatélites serán útiles en la selección precoz de genotipos portadores de resistencia a CBD.

Loureiro *et al* (2011) identificaron al hongo *Colletotrichum kahawae* como agente causal de pérdidas en el fruto de café (CDB), donde además relacionaron 6 sistemas enzimáticos e isoenzimáticos (isoenzimas esterasas, ácido, fosfatasa alcalina, malato deshidrogenasa, peroxidasa y superóxido dismutasa) que se sirven para evaluar la variación genética entre 12 cepas, con aislamientos de diferentes orígenes geográficos, distintos niveles de agresividad y aislamientos de *C. gloeosporioides* de bayas verdes. Este estudio permitió evidenciar con los perfiles de bandas diferencias en las dos especies, y revelar la existencia de la variabilidad intraespecífica de *C. kahawae* en los aislados. La enzima fosfatasa alcalina fue la más discriminativa, concluyendo que esta cepa es la más virulenta sobre el género *Caturra*, por su lado *C. gloeosporioides* no es virulento sobre la especie *C. kahawae*, mostrando mayor incidencia en tejido con poca virulencia en la especie, es una especie con gran grado de virulencia sobre el género *Caturra*, específicamente para CDB.

11.2 Estudios realizados en diferentes especies de Ñame.

Pérez y colaboradores (2011), iniciaron el proceso de identificación de las características por las cuales el hongo es tan efectivo con algunas especies; los autores determinaron que la producción de compuestos en las plantas como reacción de defensa a patógenos corresponden a fenoles, que son tóxicos y generan oxidación; terpenos, que apoyan el rompimiento de la membrana; alcaloides, que pueden intercalarse en la doble cadena ADN o penetrar la membrana plasmática, combinándola y precipitando las proteínas protoplasmáticas; y lectinas y polipéptidos, que forman canales iónicos en la membrana microbiana. En los estudios desarrollados a extractos de propóleos se detectaron compuestos fenólicos como flavonoides, alcaloides y taninos, explicando con ellos un poco la acción antifúngica ejercida en el control de *C. gloeosporioides*. Los metabolitos secundarios son posibles responsables del efecto antifúngico, estos compuestos fenólicos pertenecientes al grupo de los

tetranotriterpenos se obtuvieron de la planta *Melia azederach* conocida comúnmente como cinamomo o árbol del paraíso.

Este mismo año, Pérez y colaboradores continuaron sus investigaciones evaluando la actividad antifúngica *in vitro* de *Melia azederach* sobre aislados de *Colletotrichum* spp. a partir de extractos etanólicos de hojas utilizando el método de extracción por Soxhlet. La actividad se evaluó sobre 4 aislados (C040 - C853 - C279 y C507), de *Colletotrichum* evidenciando que los aislados con mayor susceptibilidad fueron C040 y C853 con respecto a C279 y C507. El *screening* fitoquímico realizado en *M. azederach* indicó presencia de metabolitos secundarios de tipo terpenos, esteroides, alcaloides, saponinas, taninos y antocianinas; los autores relacionan esta investigación como el primer análisis en Colombia sobre el efecto *in vitro* del extracto vegetal de esta especie de planta sobre los crecimientos del hongo *Colletotrichum* sp. limitante en cultivos de ñame en regiones caribeñas de Colombia para el control del patógeno por medio natural.

Tres años más tarde, se continuó la evaluación de cepas con actividad antimicrobiana *in vitro* utilizando otras especies, como *Mascagnia macrodena* (DC) Mied. Se encontraron cepas con mayor susceptibilidad a los extractos de este género de plantas, como C040. C279, C853 y C507 evidenciaron mayor resistencia (Perez et al. 2013). Los hongos presentaron mayor susceptibilidad al extracto total etanólico, seguido de la fracción acetato de etilo a concentraciones de 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, respectivamente. El diseño experimental indicó que no hay diferencias significativas entre la actividad inhibitoria del extracto de *M. macrodena* con respecto a fracciones, en contraste con las concentraciones las cuales expresaron diferencia significativa para concentración y cepas, mostrando mayor índice de inhibición en el extracto total etanolico y menor actividad en las fracciones de éter de petróleo y acetato de etilo, así mismo los resultados de la caracterización cualitativa o *screening* fitoquímico evidencian la presencia de

metabolitos secundarios, taninos y alcaloides, que son puentes en la mitigación del desarrollo del hongo en el hospedero.

Giraldo y colaboradores (2016) caracterizaron la especie ñame a nivel molecular con la técnica la técnica DNA Amplification Fingerprinting (DAF), estableciendo 42 aislamientos provenientes de plantas contaminadas por el hongo, se amplificaron 16 marcadores DAF implementando iniciadores tipo decámetro para determinar polimorfismos. Como resultado de la amplificación se tuvieron 391 bandas, todas polimórficas, el coeficiente de Sørensen-Dice identificó cinco grupos con 0.30 % de similitud y el índice de diversidad genética fue de 0.28, datos que según los autores reflejan un alto grado de diversidad genética, esto puede ser consecuencia de eventos y condiciones como: el intercambio de germoplasma, la condición heterotática, las mutaciones y el alto potencial de dispersión de los conidios, que le permiten mantener la viabilidad bajo condiciones adversas.

11.3 Estudios realizados en diferentes especies de Frutales.

Osorio et al. (2012) realizaron experimentos exploratorios para evaluar 14 antagonistas potenciales de *C. gloeosporioides*, usando 6 extractos vegetales y 10 fungicidas, evaluando la inhibición de germinación de esporas, crecimiento de micelio y desarrollo de síntomas en frutos desprendidos; algunos de los resultados obtenidos mostraron que ocho fungicidas redujeron la germinación de las esporas en un 80-100 %, diferente a los extractos vegetales que no evidenciaron una reducción significativa en las muestras, como conclusión este tipo de experimentos se pueden utilizar en la identificación de sustancias con actividad antagonista, propiciando la reducción de las lesiones del hongo en frutos de mango.

Lobo y colaboradores (2000) evaluaron la resistencia de *C. gloeosporioides* en frutos de tomate de árbol (*Cyphomandra (Solanum) betacea (betaceum) Cav. Sendt.*). En el estudio, se incluyeron 4 poblaciones de la especie cultivada *C. betacea* cada una de diferente tipo: rojo común, amarillo, partenocárpico y mora-tamarillo, una especie cultivada *C uniloba* y una especie relacionada *C. materna*; se cosechó por 6 meses cada 15 días, todos los materiales recibieron control químico, con excepción del tomate *C. uniloba* 6975073, en esa última, no se presentaron síntomas del hongo durante la evaluación, opuesto a los demás materiales los cuales tuvieron porcentajes de enfermedad entre 57.64 % y el 98.82 %. Como resultado del estudio, se obtuvo material híbrido interespecífico entre el material resistente y una accesión de *C. betacea*.

Gómez (2002) evaluó el extracto de fique *Fucraea* Sp como inhibidor de *C gloeosporioides*, en cultivos de tomate de árbol (*Solanum betacea Cav*) desarrollando un extracto de hojas a través de procesos de filtrado con el fin de asegurar la desinfección total, a esta adicionó PDA, posteriormente estableció 21 tratamientos para la evaluación micelial, distribuidos así: T1=0 %, T2=0.1 %, T3=0.2 %, T4=0.3 %, T5=0.4 %, T6=0.5 %, T7=0.6 %, T8=0.7 %, T9=0.8 %, T10=0.9 %, T11=1.0%, T12=1.2 %, T13=1.4 %, T14=1.6 %, T15=1.8 %, T16=2.0%, T17=5.0 %, T18=10 %, T19=15 %, T20=20 %, T21=25 %; y 12 tratamientos para la evaluación conidial, distribuidos así: T1=0 %, T2=1.0 %, T3=5.0 %, T4=10 %, T5=15 %, T6=20 %, T7=25 %, T8=30 %, T9=35 %, T10=40 %, T11=45 %, T12=50 %, y como testigo un tratamiento con control químico de Mancozeb; concluyendo, el extracto de fique inhibe el desarrollo micelial del fitopatógeno en concentraciones superiores al 5 % del medio, y en relación a la germinación conidial de *C. gloeosporioides* que se ve limitado en concentraciones superiores al 1 %.

Rojas & Zamora en el año 2010, publicaron una investigación en la cual hablan de las características de las defensinas, sus beneficios y la relación con cultivos representativos en Colombia, citaron a Oliveira y Moreira, los cuales relacionaron

la defensina RsAFP2 de rábano como especie capaz de inhibir el desarrollo de hongos patógenos como *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*, *Nectria haematococca*, *B. cinerea*, *V. dahliae* y *Mycosphaerella fijiensis*, en concentraciones de 1 a 3 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Adicionalmente, se identificó la presencia de la defensina en la variedad tomate (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*), comprobándose su resistencia al tizón tardío. Concluyen en su investigación que los hallazgos pueden sentar bases para la generación de resistencia al tizón tardío en variedades susceptibles de tomate, y en otras especies susceptibles a diversas enfermedades de difícil control como *Colletotrichum* sp, a través de la utilización de transgénesis.

Marulanda y colaboradores (2007) mostraron los procesos para identificar y caracterizar molecularmente las especies *C. gloeosporoides* y *C. acutatum* del género *Colletotrichum* sp., provenientes de cultivos de mora de castilla de la región de Antioquia, estableciendo una caracterización morfológica y aislamientos con marcadores ITS, se realizaron pruebas preliminares con los cebadores ITS1 e ITS2, las cuales fueron positivas en todas las muestras, los análisis de homología de las secuencias indicaron que un 89.5 % son compartidas con proteínas funcionales, evidenciando que los métodos actuales de selección y búsqueda de resistencia, se basan en el aprovechamiento de las bases de datos y en la genómica comparativa, debido a que se ha demostrado que los genomas de las plantas muy cercanas filogenéticamente, comparten regiones altamente conservadas, la autora relaciona que esta información, sumada a las pruebas de patogenicidad, será de gran utilidad para la selección de genotipos, accesiones y/o variedades de mora con tolerancia o resistencia a *Colletotrichum*.

Otros avances a nivel Colombia, en la Vereda Betania, municipio de Guática, Risaralda a 2160 m.s.n.m, López, Castaño, Marulanda & López (2014) se evaluaron cinco cultivares de mora (*Rubus glaucus* Benth) por su resistencia a la antracnosis y excelente índice de productividad específicamente la especie *C. gloeosporioides*, los tratamientos fueron inoculados diez meses después del

establecimiento con diferentes cepas del hongo a una concentración de 1.2×10^6 conidios por mL de agua; algunos de los resultados en relación a las tres evaluaciones fueron: incidencia en tallo (UTP-8 y UTP-7) con 21 y 17.6 t/ha; severidad con escala de 1 a 9 (UTP-1) con una productividad de 14.3 t ha^{-1} , los tratamientos UTP-2 y UTP-4 (testigos) obtuvieron rendimientos de 9.8 t ha^{-1} y 7.9 t ha^{-1} , incidencias de 79.8 % y 99,4 % y severidad de 45.6 % y 50 %, mostrando mayor tasa de desarrollo del hongo UPT-2. Los genotipos UTP-1, UTP-7 y UTP-8 no presentaron síntomas de la enfermedad, los autores concluyen que hay una incidencia directa entre la enfermedad y la producción de las plantas, así, severidades superiores al 20 % pueden causar hasta 93 % de reducción en la producción.

11.4 Estudios realizados en otras especies.

Guerrero (2012) hizo una evaluación de aceites esenciales de la especie *Lippia organoides* (orégano de monte) para el control de *Colletotrichum* sp. en cultivo de ají cayena *Capsicum annum*, el orégano de monte ha mostrado inhibición al hongo en placas a nivel de laboratorio, por lo que despierta interés en evaluar la acción del aceite en relación al patógeno, para el estudio se evaluaron 6 concentraciones de aceite (473.5, 236.75, 121.2, 60.6, 30.3 y 0.0 mg L⁻¹), utilizando un diseño al azar con cinco repeticiones; las dosis 473.5, 236.75, y 0.00 mg L⁻¹ se evaluaron en condición de invernadero, inoculando 120 plantas. El análisis de varianza, prueba de Tukey, análisis de regresión, y el paquete estadístico SAS Versión 9.3, mostraron los siguientes resultados: el crecimiento del testigo fue de 3.310 cm, equivalente con las concentraciones 30,3, 60.6, 121.2 y 236.75 mg L⁻¹, a diferencia de la concentración 473.5 mg L⁻¹ con 1.997 cm, alcanzando valores finales del 80% en la inhibición del crecimiento del hongo a nivel *in vitro*, en relación a la mortalidad de plantas la concentración 473.5 mg L⁻¹ obtuvo solo un 11.8 %; concluyendo la concentración y la combinación de aceites esenciales pueden ser insumos para mejores controles, es importante resaltar

que el aceite pierde sus propiedades después de 3 días, posiblemente por su volatilización.

Santacruz (2013), en su investigación estableció la identificación molecular de tres especies del hongo *Colletotrichum* spp (*C. gloesporioides*, *C. acutatum* y *C. capsici*), responsable de la pérdida en frutos de ají y pimentón *Capsicum* spp. a través del uso de cebadores específicos ITS4, CgInt (*C. gloesporioides*), Calnt2 (*C. acutatum*) y CcaPF/CcaPR (*C. capsici*) y haciendo uso de las técnicas RAMs (Random. Amplified Microsatellites por sus siglas en inglés) evaluó la diversidad genética de las poblaciones, los resultados del análisis de la anterior técnica mostraron diferencias genéticas entre los aislamientos, evidenciando con ello la diversidad fenotípica y genética del complejo *Colletotrichum*.

Garzón et al (2007), hicieron uso de selección asistida con marcadores de resistencia a antracnosis en frijol común, usaron como parental resistente el cultivar Mesoamericano G2333 para incorporarlo a frijoles volubles comerciales de Colombia (genes Co-5 y Co-42), con resistencia a *C. lindemuthianum*, se obtuvo la progenie RC1F1 provenientes del cruce entre G2333 y siete parentales volubles tipo Bola roja y Rojo provenientes de zonas como Cundinamarca y Boyacá. La selección RC1F1 se realizó con los marcadores moleculares SAB3, SAS13 y SCAR; en la evaluación genotípica se amplificaron 608 plantas con SAB3 y 603 con SAS13, con una segregación en cada marcador ajustada a la razón 1:1. Un total de 299 plantas RC1F1 se amplificaron con ambos SCAR, ajustándose a la razón esperada ($\chi^2 = 1,11$, $P = 0,78$) y confirmando la segregación independiente, las plantas fueron seleccionadas para continuar el programa de mejoramiento, ya que se espera que porten los genes Co-5 y Co-42, como resultado se implementó la selección asistida por marcadores para antracnosis y se aceleró la introducción y piramidación de genes de resistencia en frijol de importancia económica en Colombia.

Garzón (2012) en su tesis identificó genes de resistencia homólogos (RGH) a *C. lindemuthianum* para la especie de frijol (*Phaseolus vulgaris*) con la combinación de 544 cebadores, diseñados a partir de secuencias conservadas y resistentes en el dominio NBS (dominio de transducción de señal) y genes RGH (resistance gene homologs) de la especie *Medicago truncatula* conocida comúnmente como carretón, del orden leguminoso. La amplificación se realizó en ADN total genotipo Andino G19833 del Perú con resistencia. Encontrando 403 secuencias de tipo NBS de estas 306 presentaron un ORF no interrumpido por ende se consideran genes RGH, a partir de estas se realizó el análisis filogenético. La evaluación fenotípica de un locus de un carácter cuantitativo (QTL) se realizó en condiciones de campo e invernadero evaluando 11 razas, identificando QTL asociados con resistencia a antracnosis, los cuales explicaron varianzas fenotípicas entre 9 % y 89 %, las conclusiones de esta investigación se vinculan a la saturación del mapa genético de la población de los genotipos G2333 x G19839, con hábitos de crecimiento voluble; se confirmó el marcador SCAR SBB14, para programas de selección asistida y mejorar la eficiencia del marcador SAS13; se identificaron regiones resistentes provenientes del genotipo G19839, estas sería una nueva fuente de resistencia a partir del acervo genético Andino.

12. Discusión y Análisis

12.1 Estrategias biotecnológicas potencialmente útiles en el contexto colombiano.

En Colombia se ha reconocido e identificado una serie de genes de diversas especies que expresan niveles de resistencia a *Colletotrichum* sp, una investigación importante en el tema fue la desarrollada por la doctora Garzón (2012), en la cual identifica genes de resistencia homólogos (RGH) a *C. lindemuthianum*, desarrollando el mapeo de un gran número de marcadores RGH-SSR (o BMr) que pueden ser utilizados para la identificación de genes de resistencia a otros patógenos. Este es un buen inicio en el proceso de mejora y preservación de especies susceptibles al hongo, no obstante, no se ha avanzado en el tema de reconocimiento o creación de plataformas de estudio que propongan y analicen de manera genética el alcance de los extractos, y en si el contenido de los mismos para tener la certeza sobre cuál es el gen o compuesto químico que genera la resistencia, generando pérdidas en producción.

Los avances a nivel biotecnológico tienen un gran paralelo entre el panorama nacional y mundial, encontrándose a nivel mundial desarrollos de productos transgénicos como el desarrollado por Espinosa et al (2013), la identificación de transcriptomas (Bhadauria et al. 2017), y los mapeos genéticos (Sousa, et al. 2014), de especies importantes que permiten no sólo identificar la procedencia, sino también condiciones específicas del gen en relación a la planta brindando

una línea nueva de investigación, la cual involucra el desarrollo de más avances en el área.

Dentro de los estudios encontrados se puede confirmar que una de las variedades más importantes el frijol y no solo en Colombia, si no alrededor del mundo, se han adelantado investigaciones en relación a la selección asistida con marcadores de resistencia, no obstante, países como México, Estados Unidos, Nigeria, Brasil y Australia, son superiores en el tema, sus investigaciones establecen fuertes estudios a nivel cromosómico, identificando nuevas regiones en alelos, desarrollando mapeos genéticos en alelos de resistencia como Co-5-2 a *C. lindemuthianum* en la línea MSU 7-1 de frijol común y test de alelismo, concluyendo que las investigaciones en frijol en Colombia se pueden encaminar a desarrollar evaluaciones en el contexto cromosómico, y vincular estudios específicos en relación a la resistencia a través del estudio de las regiones de los alelos.

Etiopia ha desarrollado avances en la identificación de cepas resistentes al hongo, estableciendo la utilización de genes mayores designados como sh, que se utilizan solos o en combinaciones, estos llevan insertados la condición de resistencia al hongo *C. kahawae*, demostrando resistencia en las accesiones de los genes, estos avances pueden llegar a ser útiles en la implementación de controles de mitigación al hongo en Colombia.

En Colombia, se evidencia la falencia de investigación en contextos que superen la brecha de caracterización, identificación y descubrimiento de cepas con resistencia a *Collectotrichum* sp. identificando que se deben desarrollar más avances en el área, e involucrar más procesos biotecnológicos con el fin de mitigar e impactar directamente el alcance del hongo, algunos de los pasos que se tienen que dar en Colombia se vinculan a la identificación de investigaciones y estudios a nivel mundial y a la aplicación de técnicas de biología molecular de última generación, para iniciar a fortalecer el campo experimental. Como lo

relacionan diversos autores, el uso de estos genes que expresan resistencia puede ser el primer paso para mitigar el impacto del hongo en condiciones de campo y el inicio de una nueva línea de preservación de las especies a través de la investigación.

Los avances biotecnológicos en relación al hongo *Collectotrichum sp* son importantes ya que como se ha relacionado, este hongo es el causante de pérdidas en producción del 75 % Aprox, como lo relaciona Cerón y Buitrago (2006), encontrándolo tanto en Colombia como a nivel mundial, reportándose casos en los 5 continentes; En Colombia se reportan casos en cultivos del orden Agrícola y Forestal (Agrios, 2005).

Como se ha venido relacionando, el avance de las investigaciones en torno a procesos fisiológicos, bioquímicos y moleculares a nivel mundial ha tenido un gran impacto y desarrollo, la figura 7 evidencia el número de estudios por variedad encontrados en el presente trabajo, así mismo en la figura 8 se evidencia un nivel más bajo de investigación a nivel nacional en torno al tema.

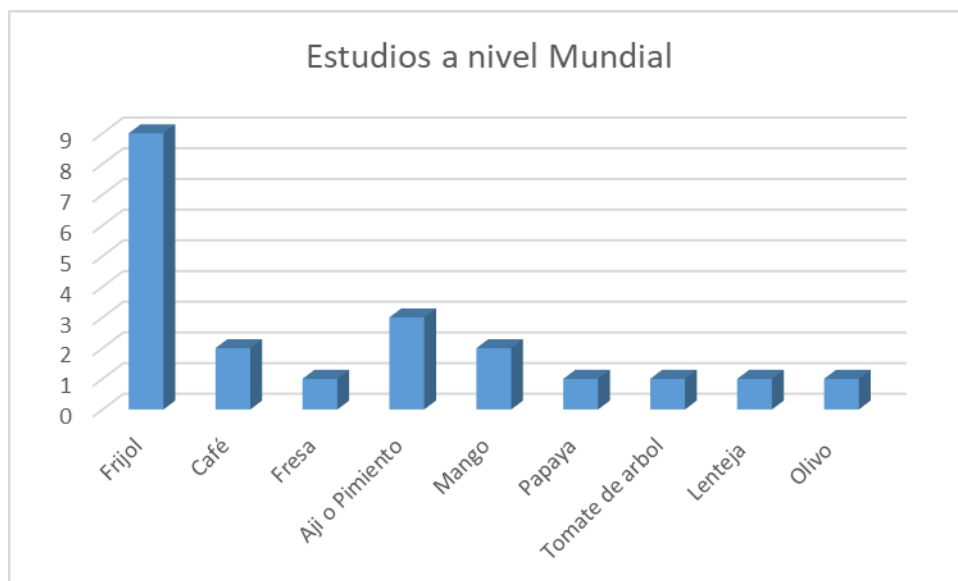


Figura 6. Relación de estudios por especie a nivel mundial (Mayorga 2018).

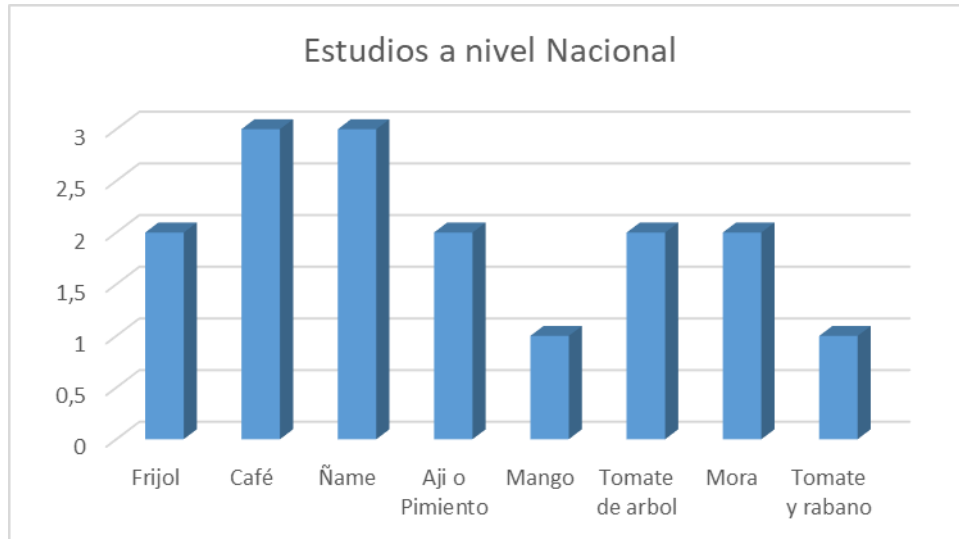


Figura 7. Relación de estudios por especie a nivel nacional (Mayorga 2018).

13. Conclusiones

Se hizo una revisión documental de más de 50 fuentes tanto a nivel mundial como nacional, las cuales relacionan los avances biotecnológicos para contrarrestar el desarrollo y alcance del hongo fitopatógeno *Colletotrichum sp.*

Las investigaciones indexadas a nivel mundial de los efectos del hongo *Colletotrichum sp* en el sector agrario, evidenciaron que el fitopatógeno se reporta en continentes como América, África y Oceanía, no obstante, se tiene el reporte de la existencia del hongo en los 5 continentes, siendo más dañino en regiones tropicales, debido a que las características ambientales de estas, proporcionan condiciones específicas para su desarrollo, así mismo se evidencia que las investigaciones en el orden mundial están por encima de las encontradas a nivel nacional.

En Colombia no se evidencia según la revisión documental, desarrollos específicos de plataformas para la identificación de inmunidad en especies y la cuantificación de la expresión génica en interacción planta-patógeno y respuesta de defensa en la especie, ya que las investigaciones se han enfocado en identificar extractos de diversas especies que limitan el desarrollo de *Colletotrichum sp.* evidenciando que las investigaciones se encamina a la caracterización, identificación y descubrimiento de cepas con resistencia a *Collectotrichum sp.*

Algunos de las propuestas para la mitigación del hongo *Collectotrichum* sp. a nivel nacional, deben encaminarse hacia las investigaciones de la caracterización y aplicación de los genes y compuestos químicos resistentes, y el hongo, a través de herramientas biotecnológicas tales como los microsatelites, las lecturas de genes “transcriptoma”, la identificación cromosómica a través del mapeo genético de alelos, con el fin de identificar a futuro los genes específicos que se podrían establecer en un proceso transgénico.

Como resultado de la revisión se destaca la importancia de algunos genes como: El gen NPR1 en Papaya Cariaca *Papaya* L y fresa *Fragaria x ananassa* – gen Ck-1 en café - Co-2, Co-17, co18, Co-42 - Co-52 en frijol común, Co-18 en frijol Jalo pintado 2, defensina de la especie *Arabidopsis thaliana* y la síntesis de compuestos fenólicos y fitohormonas como: el etileno, SA, JA, que han sido el eslabón de muchas propuestas y avances en el estudio de la resistencia del patógeno en relación con la planta a nivel mundial.

14. Bibliografía

- Agrios, G.N. (2005). Plant pathology. 5 ed. California, US, Elsevier Academic Press. 922 p.
- Anhuaman, M.E. (2010). El reino Fungi-Hongo. Ciencia y ambiente. Recuperado de: <http://www.monografias.com/trabajos82/reino-fungi-hongo/reino-fungi-hongo2.shtml>
- Akinbode, O, A & Ikotun, T. (2008) Efficacy of certain plant extracts against seed-borne infection of *Colletotrichum destructivum* on cowpea (*Vigna unguiculata*). African Journal of Biotechnology Vol. 7 (20), pp. 3683-3685. Ibadan, Nigeria. Recuperado de: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/59411/47707>
- Alarcón, M, A, L (2012). Caracterización morfológica y molecular de *Colletotrichum* spp. asociadas a la antracnosis de *lupinus mutabilis* (chocho) y *solanum betacea* (tomate de árbol) en tres provincias del Ecuador. Carrera de Ingeniería en Biotecnología. ESPE. Sede Sangolquí. Recuperado de: <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/5270>
- Amil, R, F. (2013) Molecular Mechanisms of Strawberry Plant Defence against *Colletotrichum acutatum*. (Tesis de PhD). Universidad de Barcelona. Córdoba, Barcelona. Recueperado de: <file:///D:/Monografia/mecanismos%20de%20defensa%20de%20Fresa%20a.pdf>
- Arguedas, M. y Cots, J. (2012). La antracnosis (*Colletotrichum* spp.) en viveros forestales. *Revista Forestal Mesoamericana Kuru*, Costa Rica. 9(22), 60-64
- Aroche A, E, G. (2006) Caracterización fenotípica y molecular de la resistencia a la antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) en frijol común. (tesis pregrado) Escuela Agrícola Panamericana. Tegucigalpa. Honduras. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/11036/5291>
- Berumen, V, G; Coronado, P, L, D; Ochoa, J, V, A; Chacon, L, M, A & Guitierrez, M, P. (2015). Effect of chitosan on the induction of disease resistance against *Colletotrichum* Sp. in mango (*Mangifera indica* L.) cv. Tommy Atkins (PDF Download Available). Investigacion y ciencia de la universidad Autonoma de Aguascalientes. No 66 (16-21) Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/291708394_Effect_of_chitosan_on_the_induction_of_disease_resistance_against_Colletotrichum_sp_in_mango_Mangifera_indica_L_cv_Tommy_Atkins

- Bhadauria, V; Vijayan, P; Wei, Y & Banniza, S. (2017) Transcriptome analysis reveals a complex interplay between resistance and effector genes during the compatible lentil-Colletotrichum lentis interaction. Scientific report. 7, 42338; doi: 10.1038/srep42338. Recuperado de: <https://www.nature.com/articles/srep42338>
- Cannon, P, F; Damm, U; Johnston, P, R; & Weir, B, S. (2012). Colletotrichum – current status and future directions. Studies in Mycology 73: 181–213. Recuperado de: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3458418/pdf/simycol_73_1_004.pdf
- Cerón, L. y Buitrago G. (2006). Crecimiento y desarrollo de Colletotrichum gloeosporioides f. alatae durante su cultivo en medios líquidos. Acta Biológica Colombiana 11(1), 99-109.
- Cerón, R, L; Higuera, M, B; Sánchez, N, J; Bustamante, S y Buitrago, G. (2006). Crecimiento y desarrollo de Colletotrichum gloeosporioides f alatae Durante su cultivo en medios líquidos. Acta biológica colombiana, 11 (1), 99-109
- Cepero de García, M, C; Restrepo, R, S; Franco-Molano, A, E; Cardenas, T, M & Vargas, E, N. (2012) Biología de hongos. Bogota, Colombia: Ediciones UniaAndes.
- Chavarriga, D. (2011). Protección fitosanitaria forestal. ICA. 1ra Ed. Divergraficas Ltda. Colombia.
- Coelho, M; Gonçalves, V, M; Lopes, S, L; Barion, A, N, M; Felipin, A, R; Galván, M, Z (2016). Characterization of race 65 of Colletotrichum lindemuthianum by sequencing ITS regions. Acta Scientiarum: Agronomy. Vol.38(4), pp.429-438. Recuperado de: <http://www.periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/30586/pdf>
- Contreras, C.A. (2006). Caracterización y pruebas de patogenicidad cruzada entre aislamientos de Colletotrichum spp. Obtenidos de frutos de lulo (Solanum quitoense Lam), tomate de árbol (Solanum betacea Sendt), granadilla (Passiflora ligularis Juss), mango (Mangifera indica L) y tallos de mora (Rubus glaucus Benth) con síntomas de antracnosis. (tesis de pregrado) Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia.
- Corporación Colombiana de Investigaciones Agropecuarias, CORPOICA & Asociación Hortifrutícola de Colombia, ASOHOFrucol (2013). Modelo tecnológico para el cultivo de mango en el valle del Alto Magdalena en el departamento del Tolima. Recuperado de: <https://sioc.minagricultura.gov.co/DocumentosContexto/S1462-MANGO%20ASOHOFrucol%20ICA%20CORPOICA.pdf#search=colletotrichum>
- Correa, G; Lavalett, L; Galindo, M. P & Afanador, L. (2007) Uso de métodos multi variantes para la agrupación de aislamientos de Colletotrichum spp. Con base En características morfológicas y culturales. Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín. Vol.60, No.1. p. 3671-3690.
- Espinosa, H, E; Quintero, J, A; Sánchez, G, B, M; Acosta, G, J, A & Mora, A, M, A (2013). Resistencia a Colletotrichum lindemuthianum en frijol común transgénico, expresando el gen defensina de Arabidopsis thaliana. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 4(7), 1027-1042. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013000700005&lng=es&tlng=es.
- Frias, A, T, A; Gonçalves, V, M, C; Nanami, S, Y, D; Castro, A, L, S; Vidigal, F, P & Lacanallo, F, G (2016). Genetic resistance to Colletotrichum lindemuthianum in the Andean cultivar Jalo Pintado 2 of common vean. Universidad Estadual de Maringá. Paraná, Brazil. Agronomy Science and Biotechnology, Vol. 2, (1), PP. 21 – 28. Recuperado de: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132007000400003

- Fondo para el Financiamiento del Sector Agropecuario - FINAGRO. El momento del Agro. Boletín de noticias. Recuperado de: <https://www.finagro.com.co/noticias/el-momento-del-agro>
- Garzón, L, N; Matthew, W, B & Ligarreto, G, A. (2007) Uso de selección asistida con marcadores para resistencia a antracnosis en frijol común. Revista Agronomía Colombiana, V 25 (2) p. 207-214. Recuperado de: http://bdigitalagropecuaria.corpoica.org.co/webclient/MetadataManager?pid=43004&descriptive_only=true
- Garzón, L, N. (2012). Homólogos de genes de resistencia en frijol (*Phaseolus vulgaris*) y su aplicación en resistencia a *Colletotrichum lindemuthianum* (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá Colombia, Recuperado de: <http://www.bdigital.unal.edu.co/9772/1/797047.2012.pdf>
- Guerrero, L, A (2012) Evaluación de aceites esenciales de *Lippia origanoides* en el Control de hongos fitopatógenos (*Fusarium Sp.*, y *Colletotrichum*) en el cultivo de ají cayena *Capsicum annuum* (Tesis de maestría) Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia. Recuperado de: <http://www.bdigital.unal.edu.co/10842/1/7510002.2012.pdf>
- Gutiérrez, B, E & De la Torre, M, F (2016) La co-evolución como sistema de defensa en la interacción planta-patógeno. Encuentros en la biología. Recuperado de: <http://www.encuentrosenbiologia.es/2016/03/la-coevolucion-como-un-sistema-de-defensa-en-la-interaccion-planta-patogeno/>
- Gichimu B. M; Gichuru E. K; Mamati G. E & Nyende A. B (2014) Occurrence of Ck-1 gene conferring resistance to Coffee Berry Disease in *Coffea arabica* cv. Ruiru 11 and its parental genotypes. Scienceweb Publishing. Vol. 2(3), pp. 51-61. ISSN: 2384-731X Recuperado de: <http://sciencewebpublishing.net/jacr/archive/2014/March/pdf/Gichimu%20et%20al.pdf>
- Giraldo, M, N; Bustamante, R, S, L; Pinzón, G, Y, A & Buitrago, H, G. (2016) Caracterización molecular de *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de plantas de ñame de la Costa Atlántica Colombiana utilizando la técnica "DNA Amplification Fingerprinting (DAF)". Revista colombiana de biotecnología. XVIII (1). DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.57720. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v18n1/v18n1a11.pdf>
- Gómez H, J.E. (2002) Evaluación del extracto de fique en el desarrollo in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Penz & Sacc. y *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Medellín (Colombia). 4o. Seminario Nacional sobre Frutales de Clima Frio Moderado. 20-22 Nov 2002. Memorias del 4o. seminario nacional sobre frutales de clima frío moderado Medellín (Colombia) v2002 p. 183-188. Recuperado de: agropecuaria-primotc.hosted.exlibrisgroup.com
- Gonçalves, V, M, C; Pereira, B, L; Vidigal, F, P, S; Gonela, A & Ribeiro, S, A (2007). Genetic control on the performance of common bean differential cultivars to *Colletotrichum lindemuthianum* races. Brazilian Archives of Biology and Technology, 50(4), 579-586. <https://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132007000400003>
- Guzmán, F, A & Moncada, B, M. (2012) Evaluación de marcadores SSR ligados a resistencia a *Colletotrichum kahawae* en *Coffea arabica*. Cenicafé, Colombia. 63(2):7-22. Recuperado de: http://www.cenicafe.org/es/publications/Revista63_2.pdf
- Gutiérrez, M, P; Bautista, B, S; Berúmen, V, G; Ramos, G, A & Hernández, I, A, M. (2017). in vitro response of *Colletotrichum* to chitosan. Effect on incidence and quality on tropical fruit. Enzymatic expression in mango. Acta Agronómica, 66(2), 282-289. <https://dx.doi.org/10.15446/acag.v66n2.53770>

- Hindorf, H & Omondi, C, O. (2010). A review of three major fungal diseases of *Coffea arabica* L. in the rainforests of Ethiopia and progress in breeding for resistance in Kenya. *Journal of Advanced Research*. Ruiru, Kenya. Vol. 2 (2) pp. 109-120. doi.org/10.1016/j.jare.2010.08.006. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123210001050#>
- Jeffries, P. Dodd, C. Jeger, J. Plumbey, A. 1990. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical crops. *Plant Pathology, Review* (39) 343-366.
- López, J, M; Castaño, Z, J; Marulanda, A, M & López, G, A (2014) Characterization of anthracnose resistance caused by *glomerella cingulata* and productivity of five andean blackberry genotypes (*rubus glaucus* benth.). *Acta Agronómica*; Vol. 62, núm. 2 (2013); 174-185 2323-0118 0120-2812. Recuperado de: <http://www.bdigital.unal.edu.co/33306/>
- Loureiro, A; Guerra, G, L; Lidon, F, C; Bertrand, B; Silva, M, C & Várzea, V. (2011). Isoenzymatic characterization of *Colletotrichum kahawae* isolates with different levels of aggressiveness. *Tropical Plant Pathology*, 36(5), 287-293. Caparica, Portugal. doi.org/10.1590/S1982-56762011000500003. Recuperado de: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762011000500003
- Lobo A., M; Medina C, C, & Cardona G, M. (2000). Resistencia de campo a la antracnosis de los frutos (*Colletotrichum gloeosporioides*) en tomate de arbol (*Cyphomandra* (*Solanum*) *betacea* (*betaceum*) Cav. Sendt.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 53(2), 1129-1142. Recuperado de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/24202>
- Maracahipes, A, C; Correa, J, W, S; Teodoro, P, E; Araújo, K, L; Barelli, M, A, A & Neves, L, G. (2017) Correlation study of resistance components in the selection of *Capsicum* genotypes resistant to the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. *Genetics and Molecular Research* 16 (3). Universidad Estadual del Norte. DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16039720>
- Marulanda, M; Isaza, L, V; Ramírez, A. (2007). Identificación de la especie de *Colletotrichum* responsable de la antracnosis en la mora de castilla en la región cafetera. *Scientia et Technica* Año XIII, No 37. Universidad Tecnológica de Pereira. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84937101f>
- Oliveira, C, V, S; Matos, K, S; Albuquerque, D, M, C; Hanada, R, E & Silva, G, F. (2017) Identification of *Colletotrichum* isolates from *Capsicum chinense* in Amazon. *Genetics and Molecular Research*. 16(2). DOI: 10.4238/gmr16029601 Recuperado de: <http://europepmc.org/abstract/MED/28671253>
- Oliveira, R., Moral, J., Bouhmidi, A. y Trapero, A. (2005). Caracterización morfológica y cultural de aislados de *Colletotrichum* spp. Causante de la antracnosis en olivo. *Bol. San. Veg. Plagas* 31, 531-548.
- Osorio, J, A; Martínez, E, P, & Hío, J, C. (2012). Screening of microbial culture filtrates, plant extracts and fungicides for control of mango anthracnose. *Agronomía Colombiana*, 30(2), 222-229. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652012000200009&lng=es&tling= .
- Pérez, C, A; Pérez, K & Chamorro, A, L (2014). Antimicrobial activity of *Mascagnia macrodena* (dc) mied leaf extract on *Colletotrichum gloeosporioides* disease causing fungus of yam. *Revista U.D.C.A actualidad & divulgación Científica*, 17(2), 413-422. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262014000200012&lng=en&tling=en

- Pérez, C., A., Rojas, S., J., Chamorro, A., L., & Pérez, P, K. (2011). Evaluación de la actividad antifúngica de *Melía azederach* sobre aislados de *Colletotrichum* spp. Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA, 3(2), 309-320. Recuperado de: <http://revistas.unisucre.edu.co/index.php/recia/article/view/400>
- Pérez, C., A., Rojas, S., J., Chamorro, A., L., & Pérez, P, K. (2011). Evaluación in vitro de la actividad inhibitoria de extractos vegetales sobre aislados de *Colletotrichum* spp. Acta Agronómica, 60(2), 158-164. Recuperado de: https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/27838/28108
- Ramírez, A. (2008). Aspectos fitosanitarios en plantaciones forestales. Recuperado de: [http://www.elsemillero.net/pdf_memorias/ASPECTOS%20FITOSANITARIOS%20EN%20PLANTACIONES%20FÓRESTALES%20\(2\).pdf](http://www.elsemillero.net/pdf_memorias/ASPECTOS%20FITOSANITARIOS%20EN%20PLANTACIONES%20FÓRESTALES%20(2).pdf)
- Ramírez, A. (2013). Enfermedades infecciosas en arboles urbanos. Simposio internacional, Manejo integral del arbolado urbano, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín y Área metropolitana del valle de aburra. Recuperado de: http://www.metropol.gov.co/ZonasVerdes/Eventos/Enfermedades_Infecciosas.pdf
- Rao S, Nandinini M, R (2017) Genome sequencing and comparative genomics reveal a repertoire of putative pathogenicity genes in chilli anthracnose fungus *Colletotrichum truncatum*. PLoS ONE12(8): e0183567. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183567>
- Rojas, A, A & Zamora, E, H. (2010). Defensinas de plantas y su uso potencial como controladores de plagas en la agricultura. Acta biológica colombiana, 15 (3), 33-46. Recuperado de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/10316/23373>
- Romero, G, G (2013) Desarrollo de marcadores funcionales ligados a la resistencia Genética contra la roya del café. (Tesis de Ph.D). Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia. Recuperado de: https://www.researchgate.net/profile/gladys_romero_guerrero/publication/304197427_desarrollo_de_marcadores_funcionales_ligados_a_la_resistencia_genetica_contra_la_roya_del_cafe/links/5769456308ae7d2478cd7e43/desarrollo-de-marcadores-funcionales-ligados-a-la-resistencia-genetica-contra-la-roya-del-cafe.pdf
- Santacruz, D, C. (2013). Caracterización morfológica, patogénica y molecular de especies de *Colletotrichum* spp. causantes de la antracnosis del fruto de ají y pimentón *Capsicum* spp. en el Valle del Cauca. (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Escuela De Posgrados, Palmira, Colombia.
- Sociedad Española De Fitopatología. SEF (2009) Resistencia del olivo a la antracnosis causada por *Colletotrichum* spp. Boletín informativo. No 66 Recuperado de: www.sef.es
- Sousa, L, L; Cruz, S, A; Vidigal, F, P; Vallejo, A, V; , James, D, K & Gonçalves, V, M, C. (2014). Genetic mapping of the resistance allele Co-5-2 to *Colletotrichum lindemuthianum* in the common bean MSU 7-1 line. Ustralian Journal of Crop Science. AJCS 8(2):317-323. ISSN:1835-2707. Recuperado de: http://www.cropj.com/vidigal_8_2_2014_317_323.pdf
- Trabanco, N; Campa, A & Ferreira, J, J. (2015) Identification of a New Chromosomal Region Involved in the Genetic Control of Resistance to Anthracnose in Common Bean. The plant genome. Vol. 8 (2). Recuperado de: <file:///D:/Monografia/tpg-8-2-plantgenome2014.10.0079.pdf>
- Vargas, V, M, L, P; Muruaga, M, J, S; Pérez, H, P; Gill, L, H, R; Esquivel, E, G; Martínez, D, M, Á; Rosales, S, R & Mayek, P, N. (2008). Caracterización morfoagronómica de la colección núcleo de la forma cultivada de frijol

común del INIFAP. *Agrociencia*, 42(7), 787-797. Recuperado de:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952008000700005&lng=es&tlng=es

Velastegui, F, T. Rommel, G, C y Cabezas, G, F. (2009). Plagas y enfermedades en plantaciones de Teca (*Tectona grandis* L.F) en la zona de Balzar, Provincia de Guayas. *Ciencia y tecnología vol 3* (1). 15 – 22.

Vivanco, J, M; Cosio, E; Loyola, V, M & Flores, H, E. (2005). Mecanismos químicos de defensa en las plantas.

Investigación y ciencia. No 341. Recuperado de: <https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/vivanco-et-al-2005.pdf>