

Prohibida la reproducción total o parcial sin la autorización expresa de los autores.



**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOCONTROL DE LEVADURAS
FILÓSFERICAS EN EL CRECIMIENTO *IN VITRO* Y DESARROLLO *IN PLANTA*
DEL HONGO FITOPATÓGENO *Colletotrichum* spp. (ANTRACNOSIS) EN
Solanum betaceum (TOMATE DE ARBOL)**

Jorge Eduardo Castro García

19100069

Jinneth Milena Franco Defelipe

19100066

**UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS Y APLICADAS
TECNOLOGÍA EN HORTICULTURA**

2017



**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOCONTROL DE LEVADURAS
FILÓSFERICAS EN EL CRECIMIENTO *IN VITRO* Y DESARROLLO *IN PLANTA*
DEL HONGO FITOPATÓGENO *Colletotrichum* spp. (ANTRACNOSIS) EN
Solanum betaceum (TOMATE DE ARBOL)**

Jorge Eduardo Castro García

Jinneth Milena Franco Defelipe

**Trabajo presentado como requisito para obtener el título de Tecnólogo en
Horticultura.**

Director.

**Bsc. Msc. Hugo Enrique Rivera Arévalo- Universidad Militar Nueva Granada
Docente Ocasional.**

**UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS Y APLICADAS
TECNOLOGÍA EN HORTICULTURA**

2017

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOCONTROL DE LEVADURAS FILÓSFERICAS EN EL CRECIMIENTO *IN VITRO* Y DESARROLLO *IN PLANTA* DEL HONGO FITOPATÓGENO *Colletotrichum* spp. (ANTRACNOSIS) EN *Solanum betaceum* (TOMATE DE ARBOL)

Jinneth Milena Franco Defelipe¹, Jorge Eduardo Castro García², Pedro Adolfo Jiménez Morales³, Hugo Enrique Rivera Arévalo^{4*}

^{1,2}Estudiante de quinto semestre del programa curricular Tecnología en Horticultura, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Campus Nueva Granada, Cajicá, Cundinamarca, Colombia.

³Profesor Titular, Laboratorio de Fitopatología y Programa de Biología Aplicada, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Campus Nueva Granada, Cajicá, Cundinamarca, Colombia.

⁴Profesor Ocasional del programa Tecnología en Horticultura, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Campus Nueva Granada, Cajicá, Cundinamarca, Colombia. *Autor para correspondencia: hugo.rivera@unimilitar.edu.co

RESUMEN

El cultivo de Solanum betaceum (tomate de árbol) es un producto importante del sector de la agricultura colombiana, dado al crecimiento de sus exportaciones. Sin embargo, su producción es altamente afectada por la antracnosis causada por Colletotrichum spp., la cual, es generalmente tratada con productos de síntesis química. En este trabajo se estudió el control y desarrollo in vitro, órgano desprendido e in planta de cuatro aislamientos de levaduras (Aislamiento 6, EM-1, Galactomyces candidum y Meyerozima guilliermondii) contra tres especies de Colletotrichum (C. asianum, C. tamarilloi y C. theotrombicola) en S. betaceum. En las pruebas in vitro las cuatro levaduras inhibieron el crecimiento entre 30-40%, a excepción de EM-1, la cual tuvo 10% de inhibición con diferencias significativas. En órgano desprendido e in planta con previa aplicación de tres levaduras, hubo control efectivo en el desarrollo de la antracnosis contra Colletotrichum spp., mostrando diferencias significativas entre cada tratamiento y su respectivo control. Se evidenció el potencial de las levaduras empleadas para controlar el desarrollo de la antracnosis en S. betaceum.

Palabras clave: Control biológico, *Colletotrichum* spp., levaduras filósfericas, *Solanum betaceum*.

INTRODUCCIÓN

Solanum (Cyphomandra) betaceum (tomate de árbol) también conocido como tamarillo es un fruto de alto consumo a nivel mundial (Acosta *et al.* 2015) y puede ser consumido en numerosas formas (Prohens y Nuez 2000). Adicionalmente, a pesar del potencial del cultivo y de la utilidad de su fruto, el tomate de árbol aún se encuentra en proceso de domesticación; según Portilla (2014) el cultivo de *S. betaceum* en Colombia es una alternativa promisoriosa para los agricultores, sin

embargo, el aumento en la producción y rendimiento del cultivo está limitado por la escasa disponibilidad de híbridos o variedades mejoradas que ayuden a resolver sus problemas fitosanitarios (Tabares y Velásquez 2003).

Solanum betaceum pertenece a la familia *Solanaceae* (Acosta 2011; Fuentes 2008) y es una planta de climas templados y fríos; se puede adaptar a temperaturas entre los 13 °C y los 24 °C (Amaya *et al.* 2006) y; se desarrolla en altitudes entre los 1000 y los 3000 m.s.n.m. (Tabares y Velasquez 2003). La producción empieza entre los 18 y 24 meses después de la siembra y es altamente productivo durante los primeros 4 o 5 años del cultivo (Amaya *et al.* 2006; Prohens y Nuez 2000; Tabares y Velasquez 2003).

La precosecha, cosecha y poscosecha de tomate de árbol para fines de exportación, se ven afectados por plagas como pulgones (*Myzuz* sp.) y mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) o por enfermedades causadas por hongos como *Phytophthora infestans*, *Fusarium solani*, entre otros, las cuales limitan el rendimiento y disminuyen la calidad del producto final (Acosta *et al.* 2015; León 2004). En ese sentido, una de las enfermedades que más limita la producción de tomate de árbol es la antracnosis, también llamada “Ojo De Pollo”, causada por un complejo de especies del género *Colletotrichum* que afecta físicamente hojas, ramas y frutos (Ríos 2010).

Esta enfermedad está distribuida a escala mundial principalmente en zonas templadas y de clima cálido (Montero *et al.* 2010; Orozco 2006; Ríos 2010). Por lo anterior según Ríos (2010), el control de la enfermedad abarca el 45 % de los costos de producción totales y, pese al esfuerzo, la antracnosis deja pérdidas que alcanzan el 50% de la cosecha. Ello, sin considerar el daño ambiental y ecológico que causa el uso de fungicidas de síntesis química (Fernandez y Matute 2010; Jimenez *et al.* 2001; Orozco *et al.* 2006; Rios 2010).

Teniendo en cuenta lo anterior, el control biológico es una alternativa estudiada recientemente para controlar hongos fitopatógenos, valiéndose de los diversos mecanismos de acción de especies fúngicas antagonistas, por ejemplo: la inducción de resistencia en el hospedero, el parasitismo de fitopatógenos, la producción de compuestos difusibles fungiestáticos y fungicidas, competencia por espacio y nutrientes, entre otros (Punja y Utkhede 2003). En ese sentido, existen evidencias del control biológico de microorganismos contra hongos fitopatógenos, por ejemplo Macedo y colaboradores (2011) realizaron un estudio con aislamientos de bacterias, encontrando ocho aislamientos altamente efectivos para controlar *Colletotrichum* spp. Por su parte, Fernandez y Matute (2010) evaluaron la capacidad de hongos endófitos para inhibir el desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* en *Solanum betaceum* y, encontraron, que varias cepas de endófitos fueron efectivas para controlar *in planta* los síntomas de *C. gloeosporioides*.

En la actualidad se han hecho varios experimentos utilizando levaduras con capacidad de contrarrestar el desarrollo de enfermedades causadas por diferentes hongos fitopatógenos (Lutz *et al.* 2013; Punja y Utkhede 2003), tal es el caso de Campos y colaboradores (2016), quienes estudiaron levaduras con efectos altamente inhibitorios *in vitro* sobre especies de *Colletotrichum* spp.; otras levaduras inducen resistencia a la antracnosis en plantas susceptibles como el aguacate y el chili o, deforman el crecimiento de los tejidos del hongo (Chanchaichaovivat *et al.* 2007; Chanchaichaovivat *et al.* 2008; Nantawanit *et al.* 2010; Zhou *et al.* 2016). Por todo lo anterior, el presente trabajo evaluó el efecto de aislamientos de levaduras sobre el crecimiento de *C. asianum*, *C. tamarilloi* y *C. theobromicola*, mediante la evaluación de producción de compuestos difusibles en agar *in vitro*, desarrollo de la antracnosis en hoja e *in planta*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal.

Las plántulas de *Solanum betaceum* (tomate de árbol) fueron obtenidas del Invernadero de Fitopatología de la Universidad Militar Nueva Granada, Campus Nueva Granada, Cajicá, Cundinamarca, Colombia. Se escogieron las plantas con mejores condiciones fisiológicas: vigor y turgencia de tallo y hojas y, sin ningún tipo de contaminación por fitopatógenos. La edad aproximada de las plántulas fue de 8 a 10 semanas después de la siembra y con mínimo de 6 hojas verdaderas, con el fin de asegurar que sea la edad más cercana al trasplante a campo (Amaya *et al.* 2006).

Levaduras y patógenos.

Cuatro aislamientos de levaduras fueron obtenidos del cepario del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Militar Nueva Granada, Campus Nueva Granada, Cajicá, Cundinamarca, Colombia. El Aislamiento 6 (A6) fue utilizado por Castell y Escallón 2009 y fue aislado de uchuva y evaluada para contrarrestar la enfermedad causada por *Alternaria* sp. Las especies *Meyerozyma guilliermondii* y *Galactomyces candidum* fueron aisladas de tomate de árbol y probadas contra algunas especies de *Colletotrichum* con resultados de control positivos.

Las levaduras fueron mantenidas en congelamiento a -70° C y se reactivaron haciendo una siembra masiva en PDA casero con posterior incubación por 7 días a 25° C. Después de obtener numerosas colonias, se procedió a observarlas al microscopio con el fin de identificar la homogeneidad morfológica de las células de las levaduras y descartar posibles contaminantes en la muestras inicialmente sembradas.

Los aislamientos de los hongos fitopatógenos fueron obtenidos del cepario del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Militar Nueva Granada, Campus Nueva Granada, Cajicá, Cundinamarca, Colombia. Las cepas CMB 4 y CME 2 de

la especie *Colletotrichum asianum* fueron aisladas de plantas de mango y las especies *Colletotrichum theotrombicola* (CMA 14) y *Colletotrichum tamarilloi* (CTj 1) fueron aisladas de tomate de árbol. Partiendo de cultivos esporulados, se realizó una siembra de cada uno de los hongos en PDA casero, poniendo un plug de 5 mm² en el centro de la caja de Petri y se llevó a incubación durante 7 días a 25° C.

Efecto de compuestos difusibles en agar de las levaduras sobre el crecimiento in vitro de Colletotrichum spp.

Para evaluar la inhibición del crecimiento radial de *Colletotrichum spp.*, se siguió el procedimiento descrito por Medina y colaboradores (2016) con modificaciones: se utilizó medio PDA casero y un cultivo de levadura crecido durante 7 días a 25° C con el cual se hacen dos estrias paralelas y separadas por 3.5 cm con respecto al centro de la caja de Petri. Después del secado se pone un plug de 10 mm² de *Colletotrichum spp.* en el centro de la placa, previamente crecido durante 7 días a 25 °C. Se incuba la placa por 7 días a 25°C y, se mide en mm la generación o no de halo de inhibición. Se hicieron tres repeticiones, junto con su respectivo control, el cual fue sin levadura. Para evaluar el porcentaje de inhibición se midió el crecimiento radial de las colonias con la siguiente fórmula:

$$\%IR = \frac{C - T}{C}$$

Donde:

%IR= porcentaje de inhibición radial

C = control (placa sin estrias de levadura)

T = tratamiento (placa cocultivada)

Efecto de aislamientos de levaduras sobre el desarrollo de Colletotrichum spp. en órgano desprendido (hoja) e in planta.

Partiendo de los cultivos de cada levadura seleccionada en medio sólido, se tomó una muestra de colonia y se realizó una nueva siembra, utilizando caldo de papa como medio líquido, dejándolo en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente (≈15°C). El crecimiento en medio líquido fue cuantificado con la cámara de Neubauer y se hicieron las diluciones correspondientes, en caso de ser necesario para alcanzar una concentración entre 1,0*10⁶ células/mL y 9,0*10⁶ células/mL en la suspensión, con el fin de garantizar una cantidad mínima de células capaces de colonizar los tejidos y ejercer control.

Para la elaboración de la suspensión de conidias de *Colletotrichum spp.* se siguió el protocolo usado en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Militar Nueva Granada, Campus Nueva Granada, Cajicá, Cundinamarca, Colombia: a partir de un cultivo esporulado del hongo en PDA casero se realizó un lavado con 3 mL de agua destilada estéril (ADE) y se inoculó, pasando un asa de Drijalsky (rastrillo) por la superficie de la placa en repetidas ocasiones; el procedimiento se

repitió tres veces y la suspensión resultante se recolectó en un vaso precipitado de 200 mL previamente esterilizado. La suspensión fue también cuantificada con la cámara de Neubauer para lograr una concentración de 4.3×10^5 conidias/mL en la suspensión.

El experimento en órgano desprendido (hoja) de *S. betaceum*, fue concebido como un diseño completamente aleatorizado y se realizó asperjando la suspensión de levadura (concentrada a $4,3 \times 10^6$ células/mL para el caso de *G. candidum*, $5,2 \times 10^6$ células/mL para *M. guilliermondii* y $5,4 \times 10^6$ células/mL para el Aislamiento 6 (A. 6)), sobre el haz de la hoja y luego se aplicaron 10 μ L de suspensión de conidias de cada fitopatógeno en 6 puntos diferentes de cada hoja. El experimento se realizó con tres repeticiones y como tratamiento control se inocularon hojas únicamente con la suspensión *Colletotrichum* spp. sin aplicación previa de suspensión de levaduras.

Para el experimento *in planta* se usó un diseño completamente aleatorizado. Se hizo una aspersión con la suspensión de levadura a una concentración de 10^6 células/mL (a $5,7 \times 10^6$ células/mL para el caso de *G. candidum*, $4,8 \times 10^6$ células/mL para *M. guilliermondii* y $4,9 \times 10^6$ células/mL para el Aislamiento 6 (A. 6)) en la totalidad de la plántula. Luego de unos minutos se inoculó cada hoja en 8 puntos diferentes con 10 μ L de la suspensión de conidias de *Colletotrichum* spp. a una concentración de 10^5 conidias/mL. El experimento se realizó con tres repeticiones y como tratamiento control se utilizaron plántulas inoculadas con el hongo y asperjadas previamente con ADE. Las plantas fueron recubiertas con plástico durante 24 horas para mantener la humedad y facilitar el crecimiento de los hongos y las levaduras sobre el filoplano.

Los resultados en órgano desprendido e *in planta* fueron clasificados en una escala de severidad de 0 a 4 de acuerdo con el grado de crecimiento de las lesiones causadas por el hongo en el tejido foliar de *S. betaceum*. En dicha escala, 0 corresponde a ningún tipo de lesión visible; 1 entre 0% y 25%; 2 entre 25% y 50%; 3 entre 50% y 75% y; 4 entre 75% y 100%.

Análisis estadístico

En todos los experimentos de tipo cuantitativo y de variables categóricas se usó un análisis de varianza, considerando un diseño completamente aleatorizado, implementado con previo cumplimiento de parametricidad. Se usaron los estadísticos Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Cramer-von Mises y Anderson-Darling para evaluar distribución normal y, para homogeneidad de varianza se implementó la prueba estadística Levene (Montgomery 2010); los dos supuestos de parametricidad se usaron con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

Una vez evidenciada la parametricidad, se usaron pruebas de comparación de medias tipo LSD, Duncan, Tukey y Scheffe (Montgomery 2010), sin embargo, la

prueba de rangos múltiples de Duncan (Montgomery 2010) fue la seleccionada para comparar las medias de todos los tratamientos de cada experimento; las pruebas se usaron con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el comando de programación PROC GLM, empleando el software estadístico S.A.S. versión 9.4, licenciado y auspiciado por la Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, sede Bogotá.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las pruebas *in vitro* se estableció que las cuatro levaduras utilizadas producen compuestos difusibles en agar capaces de afectar en diferente medida el crecimiento radial de *Colletotrichum* spp. seleccionadas. En la Figura 1 se observa la inhibición del crecimiento de las diferentes especies del hongo fitopatógeno por la acción de las levaduras. En todos los hongos probados la levadura benéfica EM-1 tuvo un importante efecto sobre el crecimiento inicial, causando alteración en la morfología y color de la colonia, sin embargo, posteriormente los cuatro aislamientos de *Colletotrichum* evaluados, lograron superar la barrera inicialmente creada y expandieron su micelio hasta casi hacer contacto con las estrías, por lo que no se realizaron pruebas *in planta* ni en órgano desprendido con esta levadura.

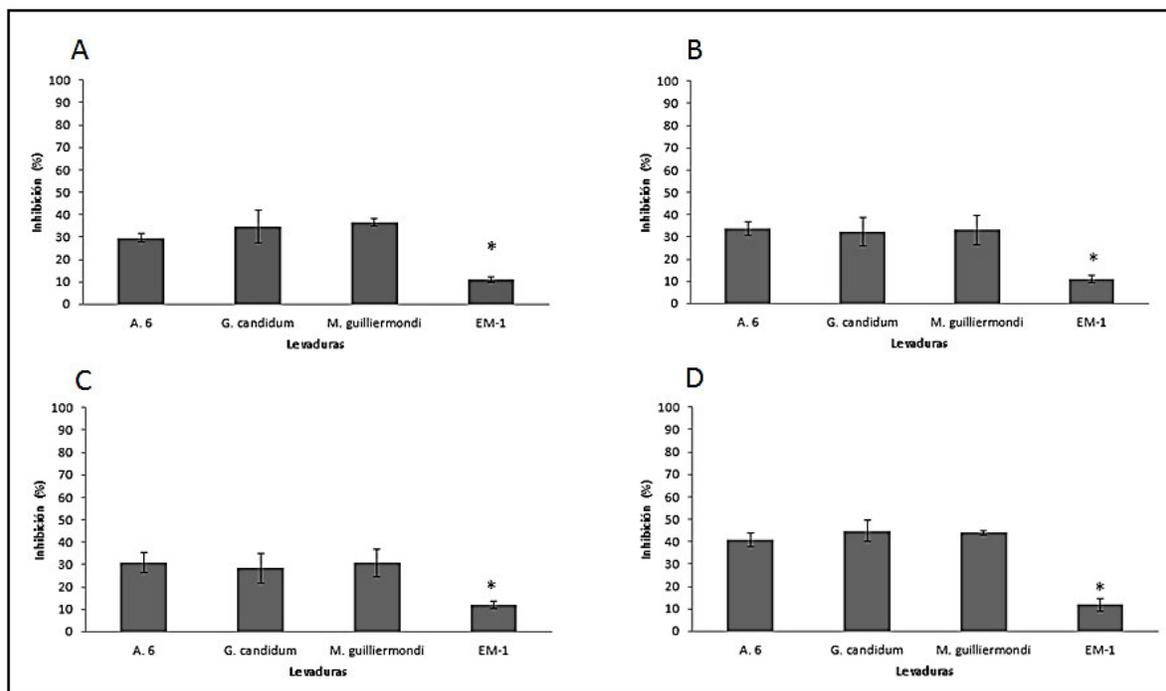


Figura 1. Porcentaje de biocontrol (%) de metabolitos difusibles en agar *in vitro* de cuatro levaduras contra *Colletotrichum* spp. Se implementó prueba de rangos múltiples de Duncan a un nivel de significancia de $p < 0.05$. El asterisco representa diferencias significativas, comparando todos los tratamientos EM entre ellos. **A.** *Colletotrichum asianum* CMB 4; **B.** *Colletotrichum tamarilloi*; **C.** *Colletotrichum asianum* CMA 14; **D.** *Colletotrichum theotrombicola*.

Según Corte y colaboradores (2005) *Meyerozyma guilliermondii* ha sido clasificada dentro de los géneros *Pichia* y *Candida*, estos géneros agrupan levaduras que producen compuestos difusibles capaces de afectar el crecimiento de *Colletotrichum* spp., degradando las paredes celulares del hongo. Con los resultados de la Figura 1, se observa una gran efectividad de esta levadura frente a los cuatro aislamientos de especies de *Colletotrichum* usados.

El aislamiento 6 (A. 6) probado por Castell y Escallón 2009 *in vitro* contra *Alternaria* sp., mostró resultados positivos para inhibición del crecimiento radial en PDA para dicho hongo, sin embargo, también fue efectivo contra *Colletotrichum* spp., por lo que se presume que sus compuestos difusibles en agar pueden afectar la fisiología de varias especies de fitopatógenos, tal es el caso de levaduras como *Pseudozyma tsukubaensis* (Kulakovskaya y Kulakovskaya 2014). *Galactomyces candidum* ha sido aislado comúnmente en la filosfera y el filoplano de varios tipos de frutales, produce una serie de compuestos que recubren la superficie de la planta (Vadkertiová *et al.* 2012); este tipo de compuestos pueden contrarrestar el crecimiento de *Colletotrichum* spp. como se observó en las pruebas *in vitro* (Figura 1).

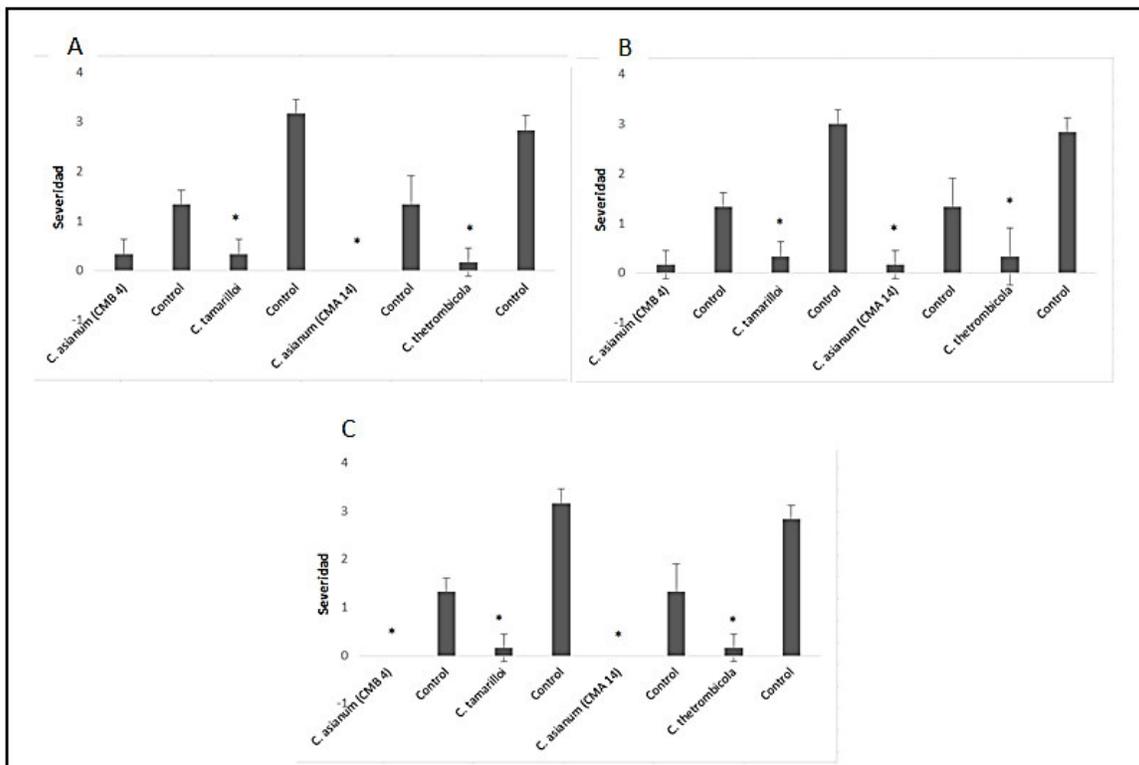


Figura 2. Efecto de tres levaduras sobre el crecimiento de cuatro aislamientos de *Colletotrichum* spp., en órgano desprendido. Se implementó prueba de rangos múltiples de Duncan a un nivel de significancia de $p < 0.05$. El asterisco representa diferencias significativas únicamente entre el tratamiento control y tratamiento experimental en la tercera repetición. **A.** Aislamiento 6; **B.** *Galactomyces candidum*; **C.** *Meyerozyma guilliermondii*.

Como se observa en la Figura 2, las cepas CMB 4 y CMA 14 de *Colletotrichum asianum* no causaron lesiones de alta severidad en las hojas de *S. betaceum*. Al respecto, este hongo es uno de los agentes causales de la antracnosis, sin embargo, ha sido reportado como patógeno principalmente de cultivos de mango (Krishnapillai *et al.* 2014), lo cual podría representar la baja virulencia en *S. betaceum*. El efecto causado por parte de las levaduras en el crecimiento y desarrollo del hongo fue un control altamente efectivo; los resultados de cada tratamiento con respecto al control, presentaron diferencias significativas con las levaduras *G. candidum* y *M. Guilliermondii*.

C. tamarilloi ha sido también reportado como agente causal de antracnosis en mango (Ismali *et al.* 2015), sin embargo la severidad de las lesiones que causa en tomate de árbol (Figuras 2 y 3) lo convierten en un patógeno capaz de afectar a varios frutales. Las lesiones en las hojas que no fueron asperjadas con levaduras alcanzaron más del 75% de desarrollo de enfermedad, los tres aislamientos de levaduras utilizados lograron reducir el desarrollo de enfermedad a un porcentaje menor a 25% con diferencias significativas (Figura 2).

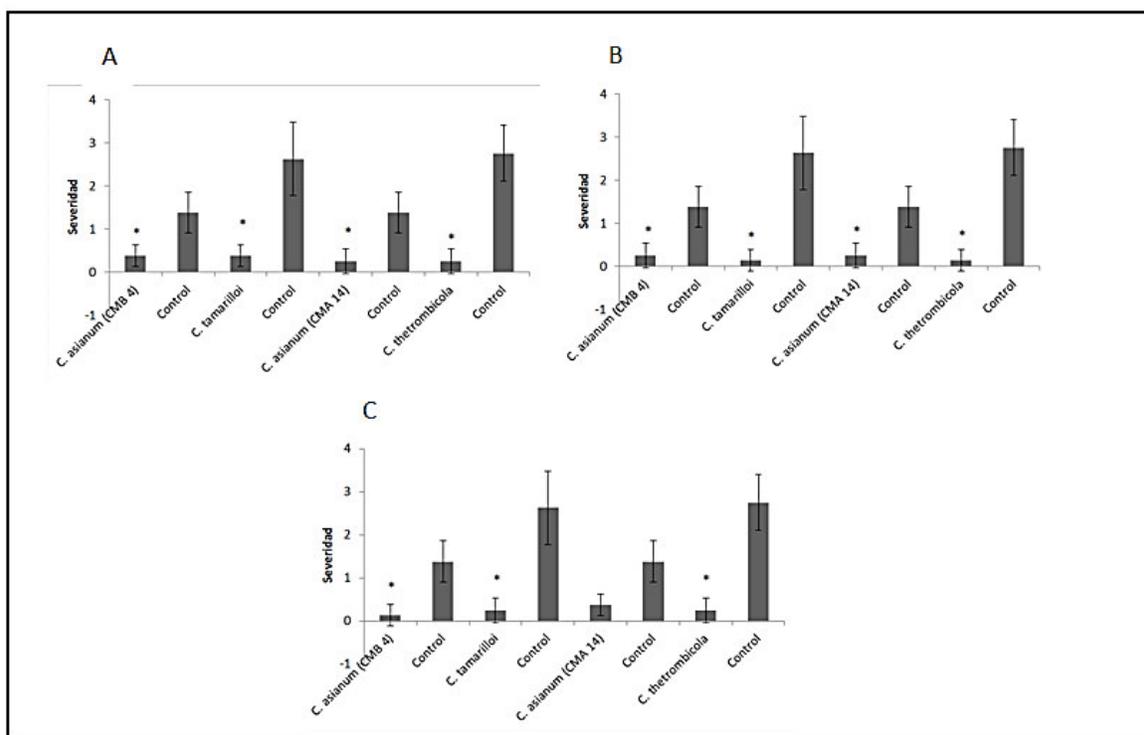


Figura 3. Efecto de tres levaduras sobre el crecimiento de cuatro aislamientos de *Colletotrichum* spp., *in planta*. Se implementó prueba de rangos múltiples de Duncan a un nivel de significancia de $p < 0.05$. El asterisco representa diferencias significativas únicamente entre el tratamiento control y tratamiento experimental en la tercera repetición. **A.** Aislamiento 6; **B.** *Galactomyces candidum*; **C.** *Meyerozyma guilliermondii*.

La antracnosis ha sido estudiada en diferentes especies de plantas y se ha encontrado un complejo de especies del género *Colletotrichum* que intervienen en su aparición. *Colletotrichum theotrombicola* es una especie que se ha reportado como agente causal de antracnosis en diferentes especies de plantas como *Coffea arabica*, *Fragaria* sp., *Stylosanthes* sp. y *T. cacao* (James *et al.* 2014). La severidad de lesión en *S. betaceum* supera el 75% en las hojas no tratadas con levaduras, no obstante, en las hojas que fueron tratadas con la suspensión de levaduras la severidad se redujo a menos del 25%, presentado diferencias significativas entre los controles y los respectivos tratamientos Figura 2.

En las pruebas realizadas *in planta* (Figura 3), la severidad de las lesiones disminuyeron para *C. tamarilloi* y *C. theotrombicola* con respecto a la respuesta en tratamientos control que se presentaron en órgano desprendido, bajo condiciones medioambientales controladas. Para el caso de las dos cepas de *C. asianum* el porcentaje de severidad fue similar en ambas pruebas.

Según Phoulivong (2012) el complejo de especies de *Colletotrichum* como agente causal de antracnosis en frutas tropicales como el tomate de árbol ha sido un área de estudio aún en crecimiento, no solo en la búsqueda para caracterizar cada una de las especies implicadas, sino también por la posibilidad de controlar la enfermedad con agentes biológicos. En ese sentido el presente trabajo de investigación, presenta evidencia experimental de la capacidad de control biológico de las levaduras filosféricas seleccionadas para controlar *in vitro*, órgano desprendido e *in planta*, a cuatro aislamientos de especies de *Colletotrichum* spp., involucradas en la expresión de la antracnosis en *S. betaceum*. Sin embargo, es necesario adelantar más evidencia para evaluar cuáles son los mecanismos de acción que primordialmente, determinan este control. Con relación a ello, en este trabajo se evidenció el efecto de la producción de metabolitos secundarios y competencia por espacio y nutrientes por parte de las levaduras.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al grupo del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Militar Nueva Granada, Campus Nueva Granada, Cajicá, Cundinamarca, por su colaboración en la realización de este proyecto; a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá por el apoyo para el uso del software estadístico SAS para la realización de los análisis estadísticos. A nuestras familias y al personal de la Tecnología en Horticultura de la Universidad Militar Nueva Granada por su apoyo.

REFERENCIAS

1. Acosta Quezada, P. G. (2011). Caracterización morfológica y molecular del tomate de árbol, *SolanumbetaceumCav.(Solanaceae)*. Departamento De Biología Vegetal. Universidad Politécnica De Madrid. Madrid, España. 321
2. Acosta-Quezada, P. G., Raigón, M. D., Riofrío-Cuenca, T., García-Martínez, M. D., Plazas, M., Burneo, J. I., .Prohens, J. (2015). Diversity for chemical composition in a collection of different varietal types of tree tomato (*Solanumbetaceum cav.*), an andean exotic fruit. *Food Chemistry*, 169, 327-335. doi:http://ezproxy.umng.edu.co:2106/10.1016/j.foodchem.2014.07.152
3. Amaya, J., Hashimoto, J., &Julca, J. (2006). Tomate de árbol (*Cyphomandrabetaceasend.*). Primera edición. Trujillo, Perú. Gerencia Regional de Recursos y Gestión del Medio Ambiente
4. Campos-Martínez, A., Velázquez-del Valle, M. G., Flores-Moctezuma, H. E., Suárez-Rodríguez, R., Ramírez-Trujillo, J. A., & Hernández-Lauzardo, A. N. (2016). Antagonistic yeasts with potential to control *Colletotrichumgloeosporioides* (penz.) penz. &sacc. and *Colletotrichumacutatum* J.H. simmonds on avocado fruits. *Crop Protection*, 89, 101-104. doi:http://ezproxy.umng.edu.co:2106/10.1016/j.cropro.2016.07.001
5. Chanchaichaovivat, A., Panijpan, B., &Ruenwongsa, P. (2008). Putative modes of action of *Pichiaguilliermondii* strain R13 in controlling chilli anthracnose after harvest. *Biological Control*, 47(2), 207-215. doi:http://ezproxy.umng.edu.co:2106/10.1016/j.biocontrol.2008.07.018
6. Chanchaichaovivat, A., Ruenwongsa, P., &Panijpan, B. (2007). Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: Potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotrichumcapsici*). *Biological Control*, 42(3), 326-335. doi:http://ezproxy.umng.edu.co:2106/10.1016/j.biocontrol.2007.05.016
7. Corte, L., di Cagno, R., Groenewald, M., Roscini, L., Colabella, C., Gobbetti, M., &Cardinali, G. (2015). Phenotypic and molecular diversity of meyerozymaguilliermondii strains isolated from food and other environmental niches, hints for an incipient speciation. *Food Microbiology*, 48, 206-215. doi:http://dx.doi.org.ezproxy.unal.edu.co/10.1016/j.fm.2014.12.014
8. Fernández, E. D., & Matute, S. V. (2010). Control biológico de la Antracnosis causada por *Colletotrichumgloeosporioides* (Penz. y Sacc.) en Tomate de Árbol (*SolanumbetaceumCav.*) mediante hongos endófitos antagonistas. *La Granja. Revista de Ciencias de la Vida*, 11(1).
9. Fuentes, J. (2008). Manual del cultivo de tomate de árbol. Iniap–Promsa Quito, 89 p
10. Ismail, A. M., Cirvilleri, G., Yaseen, T., Epifani, F., Perrone, G., &Polizzi, G. (2015). Characterisation of *Colletotrichum* species causing anthracnose disease of mango in Italy. *Journal of PlantPathology*, 97(1), 167-171.
11. James, R. S., Ray, J., Tan, Y. P., &Shivas, R. G. (2014). *Colletotrichumsiamense*, *C. theobromicola* and *C. queenslandicum* from

- several plant species and the identification of *C. asianum* in the Northern Territory, Australia. *Australasian Plant Disease Notes*, 9(1), 1-6.
12. Jiménez, J. J., Bernal, J. L., del Nozal, M. J., Toribio, L., & Arias, E. (2001). Analysis of pesticide residues in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with electron capture and nitrogen–phosphorus detection. *Journal of Chromatography A*, 919(1), 147-156. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00632-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00632-X)
 13. Krishnapillai, N., & Wilson Wijeratnam, R. S. (2014). First Report of *Colletotrichum asianum* causing anthracnose on Willard mangoes in Sri Lanka. *New Disease Reports*, 29(1), 2044-0588.
 14. Kulakovskaya, E & Kulakovskaya T. (Eds.), (2014). Extracellular glycolipids of yeasts (pp. iv) Academic Press. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-420069-2.00008-X>
 15. León J, Viteri P, Cevallos G (2004). Manual del cultivo de tomate de árbol (Manual No.61). Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina, Programa de Fruticultura, Granja Experimental Tumbaco, Quito, Ecuador, 51 pp.
 16. Lutz, M. C., Lopes, C. A., Rodriguez, M. E., Sosa, M. C., & Sangorrín, M. P. (2013). Efficacy and putative mode of action of native and commercial antagonistic yeasts against postharvest pathogens of pear. *International Journal of Food Microbiology*, 164(2–3), 166-172. doi:<http://ezproxy.umng.edu.co:2106/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.04.005>
 17. Macedo Castillo, A., Martínez Hernández, A., & Lara Reyna, J. (2012). Rizobacterias aisladas del trópico húmedo con actividad antagónica sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, evaluación cuantitativa e identificación molecular. *Revista Mexicana De Fitopatología*, 30(1), 11-30.
 18. Myint, T., Dykhuizen, M. J., McDonald, C. H., & Ribes, J. A. (2015). Post operative fungal endophthalmitis due to *geotrichum candidum*. *Medical Mycology Case Reports*, 10, 4-6. doi:<http://dx.doi.org.ezproxy.unal.edu.co/10.1016/j.mmcr.2015.11.001>
 19. Montero Tavera, V., Morales García, J. L., González Chavira, M. M., López, A., Luis, J., Corona Torres, T., & Gálvez Mariscal, A. (2010). Diversidad genética, patogénica y morfológica del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) de Michoacán, México. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 1(2), 159-174.
 20. Montgomery, D., C. 2010. Diseño y análisis de experimentos. Segunda edición. Limusa Wiley, México.
 21. Nantawanit, N., Chanchaichavivat, A., Panijpan, B., & Ruenwongsa, P. (2010). Induction of defense response against *Colletotrichum capsici* in chili fruit by the yeast *Pichiaguilliermondii* strain R13. *Biological Control*, 52(2), 145-152. doi:<http://ezproxy.umng.edu.co:2106/10.1016/j.biocontrol.2009.10.011>
 22. Orozco Santos, M., & Santos, M. O. (2006). Patogenicidad, variabilidad morfológica y genética de *Colletotrichum acutatum* s. stricto de cítricos en México. Tesis de Doctorado para obtener el grado en Biotecnología

- Microbiana. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Colima. Universidad de Colima. 105 p.
23. Orozco-Santos, M., Medina-Urrutia, V.M., Robles-González, M., Orozco-Romero, J., Pérez-Zamora, O., Velázquez-Monreal, J.J., Timmer, L.W. y Guzmán-González, S. (2006). Biología y manejo integrado de antracnosis del limón mexicano en el trópico seco de México. SAGARPA, INIFAP, CIRPAC. Campo Experimental Tecomán. Folleto Técnico Núm. 2. 73 p.
 24. Paredes, K., Pastor, F. J., Capilla, J., Sutton, D. A., Mayayo, E., Fothergill, A. W., & Guarro, J. (2015). Therapies against murine candida guilliermondii infection, relationship between in vitro antifungal pharmacodynamics and outcome. *Revista Iberoamericana De Micología*, 32(1), 34-39. doi:<http://dx.doi.org.ezproxy.unal.edu.co/10.1016/j.riam.2013.10.008>
 25. Portilla Benavides, A. E. (2014). Comportamiento agronómico y adaptabilidad de híbridos f1 de Tomate de árbol *Cyphomandrabetacea* (cav.) Sendth en la región Alto Andina de Nariño, Colombia. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Colombia.
 26. Phoulivong, S., McKenzie, E. H. C., & Hyde, K. D. (2012). Cross infection of *Colletotrichum* species; a case study with tropical fruits. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 2(2), 99-111
 27. Prohens, J., & Nuez, F. (2000). The tamarillo (*Cyphomandrabetacea*): A review of a promising small fruit crop. *Small Fruits Review*, 1(2), 43.
 28. Punja, Z. K., & Utkhede, R. S. (2003). Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. *Trends in Biotechnology*, 21(9), 400-407. doi:[http://ezproxy.umng.edu.co:2106/10.1016/S0167-7799\(03\)00193-8](http://ezproxy.umng.edu.co:2106/10.1016/S0167-7799(03)00193-8)
 29. Ríos Madril, M. I. (2010). Control biológico de la Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en el ecotipo: amarillo puntón, mediante hongos endófitos antagonistas. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Universidad Politecnica Salesiana. Azuay, Ecuador. 104p
 30. Tabares, C Y Velasquez, J. 2003. Estudio de la vida de anaquel del tomate. Tesis de maestría. Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales.
 31. Vadkertiová, R., Molnárová, J., Vránová, D., & Sláviková, E. (2012). Yeasts and yeast-like organisms associated with fruits and blossoms of different fruit trees. *Canadian journal of microbiology*, 58(12), 1344-1352.
 32. Zhou, Y., Zhang, L., & Zeng, K. (2016). Efficacy of *Pichia membranaefaciens* combined with chitosan against *Colletotrichum gloeosporioides* in citrus fruits and possible modes of action. *Biological Control*, 96, 39-47. doi:<http://ezproxy.umng.edu.co:2106/10.1016/j.biocontrol.2016.02.001>

