



Infecciones quiescentes por *Colletotrichum gloeosporioides* en las diferentes etapas de desarrollo del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) en dos épocas de producción

Quiescent infections by *Colletotrichum gloeosporioides* in the different development stages of the guava fruit (*Psidium guajava* L.) in two production seasons

Infecções quiescentes por *Colletotrichum gloeosporioides* nos diferentes estágios de desenvolvimento da goiaba (*Psidium guajava* L.) em duas épocas de produção

Clemencia Guédez^{1*} y Dorian Rodríguez²

¹Laboratorio de Fitopatología y Control Biológico “Carlos Díaz Polanco”, Universidad de Los Andes, Núcleo Rafael Rangel, Trujillo, Venezuela. Código postal: 3150. Correo electrónico: clemencia.guedez@gmail.com, . ²Postgrado de Fitopatología, Agronomía, Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado”. Cabudare, Lara, Venezuela. Código postal: 3023. Correo electrónico: dorianalcides@gmail.com, .

Resumen

El hongo *Colletotrichum gloeosporioides* es causante de la antracnosis, una de las enfermedades postcosecha *más importante en frutos de guayaba*. Con el objetivo de detectar infecciones quiescentes causadas por este patógeno en yemas florales (YF) y frutos de guayaba en dos épocas de producción, se seleccionaron trece plantas y cincuenta YF por planta organizadas bajo un diseño en bloques al azar con tres tratamientos: YF cubiertas inoculadas, YF cubiertas no inoculadas y YF descubiertas no inoculadas (testigo). Se inocularon semanalmente diez YF con 3 mL de suspensión conidial de *C. gloeosporioides* por YF, identificadas con cintas de colores.semana⁻¹.fecha⁻¹. Transcurrida una semana de la inoculación se recolectaron cinco YF por tratamiento, se trasladaron al laboratorio donde fueron lavadas, desinfectadas, incubadas en cámara húmeda y sembradas en el medio PDA para detectar la presencia del hongo, las cinco YF restantes quedaron en la planta hasta la cosecha. Las infecciones quiescentes se manifestaron en todas las

Recibido: 24-08-2020 • Aceptado: 22-04-2021.

*Autor de correspondencia. Correo electrónico: clemencia.guedez@gmail.com

etapas de desarrollo del fruto, con mayor incidencia entre las 6 y 13 semanas con diferencias significativas ($p < 0,001$) entre infecciones por semanas. El hongo se desarrolló con mayor incidencia en cámara húmeda (69,79 %) con apariencia de una masa mucilaginosa anaranjada y en PDA (51 %) con presencia de crecimiento micelial. La época de producción fue determinante en la detección de infecciones quiescentes, con mayor porcentaje entre abril y agosto (69,10 %) cuando se presentaron. Estos resultados demuestran que *C. gloeosporioides* infecta las flores y frutos inmaduros de guayaba y la enfermedad se manifiesta en frutos maduros. **Palabras clave:** antracnosis, infecciones latentes, yemas florales, frutos inmaduros.

Abstract

The fungus *Colletotrichum gloeosporioides* is the cause of anthracnose, one of the most important postharvest diseases in guava fruits. The objective of detect quiescent infections caused by this pathogen in flower buds (YF) and guava fruits in two production seasons, thirteen plants and fifty YF per plant were selected, organized under a randomized block design with three treatments: YF inoculated covers, YF covered not inoculated and YF uncovered not inoculated (control). Ten YF were inoculated weekly with 3 mL of conidial suspension of *C. gloeosporioides* by YF and were identified with colored ribbons. $\text{week}^{-1}.\text{date}^{-1}$. One week after the inoculation, five YF were collected per treatment, which were transferred to the laboratory where they were washed, disinfected, incubated in a humid chamber and sown in the PDA medium, to detect the presence of the fungus, the remaining five YF were left in the plant until harvest. Quiescent infections manifested in reproductive organs of all ages, with the highest incidence between 6 and 13 weeks with significant differences ($p < 0.001$) between infections/weeks. The fungus developed more frequently in the humid chamber (69.79 %) with the appearance of an orange mucilaginous mass and in the PDA (51 %) with the presence mycelial growth. The production season was decisive in the detection of quiescent infections, with the highest percentage between april and august (69.10 %) when the highest rainfall occurred. These results demonstrated that *C. gloeosporioides* infects guava flowers and unripe fruits and the disease manifests itself in ripe fruits.

Keywords: anthracnose, latent infections, flower buds, unripe fruits.

Resumo

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* é o causador da antracnose, uma das mais importantes doenças pós-colheita da goiaba. Para detectar infecções quiescentes por esse patógeno em botões de flores (YF) e goiaba em duas safras, foram selecionadas treze plantas e cinquenta YF por planta, dispostas em blocos ao acaso com três tratamentos: YF coberto inoculado, YF coberto não inoculado e descoberto YF descoberto (controle). Dez YF foram inoculados semanalmente

com 3 mL de suspensão de conídios de *C. gloeosporioides* por YF, identificados com fitas coloridas. Semana⁻¹.data⁻¹. Após uma semana de inoculação, cinco YF foram coletados para seu tratamento, transferidos para o laboratório de onde foram lavados, desinfetados, incubados em câmara úmida e semeados no meio do PDA, para detecção da presença do fungo, os cinco restantes foram plantados YF na planta de colheita. As infecções inativas manifestaram-se em todas as fases de desenvolvimento dos frutos, com maior incidência entre 6 e 13 semanas, com diferenças significativas ($p < 0,001$) entre infecções⁻¹.semanas⁻¹. O fungo se desenvolveu com maior incidência em câmara úmida (69,79 %) com aparecimento de massa mucilaginosa alaranjada e em PDA (51 %) com presença de crescimento micelial. O período de produção foi decisivo na detecção das infecções inativas, com maior percentual entre abril e agosto (69,10%) quando ocorreram. Estes resultados mostram que *C. gloeosporioides* infecta flores e frutos imaturos de goiaba e a doença se manifesta em frutos maduros.

Palavras-chave: antracnose, infecções latentes, botões florais, frutos imaturos.

Introducción

La guayaba (*Psidium guajava* L.) se encuentra entre las diez frutas más importantes en Venezuela, y se consume como fruta fresca y procesada (Aular y Casares, 2011). Esta fruta es afectada por enfermedades postcosecha que representan un grave problema porque reducen la calidad y la cantidad de frutas para su comercialización, lo que genera pérdidas económicas.

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz. & Sacc., es uno de los principales hongos que afectan a los frutos de guayaba en postcosecha debido a la severidad del daño que ocasiona (Cannon *et al.*, 2012; Phoulivong *et al.*, 2010). Las especies de *Colletotrichum* son consideradas patógenos quiescentes de gran importancia que causan la enfermedad de la antracnosis en una amplia gama de hospederos en regiones tropicales (Junqueira *et al.*, 2004; Piccinin *et*

Introduction

Guava (*Psidium guajava* L.) is among the ten most important fruits in Venezuela, and is consumed as fresh and processed fruit (Aular and Casares, 2011). This fruit is affected by post-harvest diseases that represent a serious problem because they reduce the quality and quantity of fruits for commercialization, which generates economic losses.

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz. & Sacc., is one of the main fungi affecting guava fruits in postharvest due to severity of damage it causes (Cannon *et al.*, 2012; Phoulivong *et al.*, 2010). *Colletotrichum* species are highly important quiescent pathogens that cause anthracnose disease in a wide range of hosts in tropical regions (Junqueira *et al.*, 2004; Piccinin *et al.*, 2005). Latent or quiescent infections in fruits caused by this fungus manifest after harvest, this inactivity of the fungus can last

al., 2005). Las infecciones latentes o quiescentes en frutos causadas por este hongo se manifiestan después de la cosecha, esta inactividad del hongo puede durar meses y manifestarse en el momento de la madurez del fruto (Prusky *et al.*, 2006; Adikaram *et al.*, 2015).

Este hongo afecta a los frutos de guayaba en sus diferentes estados fenológicos, permaneciendo quiescentes por largos períodos de tiempo dentro del tejido hasta que los frutos están próximos a la maduración, momento en el cual comienzan a manifestarse los síntomas, los cuales se caracterizan por lesiones circulares y oscuras, que en condiciones de alta humedad pueden estar acompañadas de una masa mucilaginosa de esporas de color anaranjada (Soares *et al.*, 2008; Moraes *et al.*, 2015).

El proceso de infección de estos hongos comienza inmediatamente después que los conidios se adhieren y germinan en el epicarpio o cutícula del fruto, el tubo germinativo desarrolla un apresorio que emite una punta de infección que rompe y penetra la cutícula del fruto inmaduro y posterior a la penetración permanece inactiva durante meses hasta la maduración del fruto. En estos casos, el evento de penetración del hongo puede pasar desapercibido por el hospedero o al contrario puede provocar en el fruto una respuesta de defensa rápida que resulta en la inducción de moléculas de defensa que limitarán el avance de la infección (Prusky y Lichter, 2007).

El tiempo que transcurre entre la inactividad de la infección de *C. gloeosporioides* en frutos inmaduros

for months and manifest itself at the time of fruit maturity (Prusky *et al.*, 2006; Adikaram *et al.*, 2015).

This fungus affects guava fruits in their different phenological stages, remaining quiescent for long periods of time within the tissue until the fruits are close to maturation, at which time the symptoms begin to appear, which are characterized by lesions. circular and dark, which in high humidity conditions may be accompanied by a mucilaginous mass of orange spores (Soares *et al.*, 2008; Moraes *et al.*, 2015).

The infection process of these fungi begins immediately after the conidia adhere and germinate in the epicarp or cuticle of the fruit, the germ tube develops an appressorium that emits a point of infection that breaks and penetrates the cuticle of the immature fruit and subsequent to the penetration remains inactive for months until fruit ripening. In these cases, the penetration event of the fungus may go unnoticed by the host or, on the contrary, it may provoke a rapid defense response in the fruit that results in the induction of defense molecules that will limit progression of the infection (Prusky and Lichter, 2007).

The time that elapses between the inactivity of *C. gloeosporioides* infection in immature fruits until activation in mature fruits is due to physiological and biochemical changes that occur during ripening that are detected by the pathogen (Prusky and Lichter, 2007; Adikaram *et al.*, 2015).

Quiescence may be due to several factors: (i) nutritional differences

hasta la activación en frutos maduros es debido a cambios fisiológicos y bioquímicos que ocurren durante la maduración que es detectada por el patógeno (Prusky y Lichter, 2007; Adikaram *et al.*, 2015).

La quiescencia puede deberse a varios factores: (i) diferencias nutricionales entre el fruto inmaduro y el fruto maduro con respecto al desarrollo del hongo; (ii) cambios metabólicos asociados con la maduración y alteraciones en el patrón de respiración del fruto; (iii) deficiencia en el hongo de enzimas pectinolíticas para invadir frutos inmaduros, (iv) presencia de compuestos tóxicos en frutos inmaduros que no se encuentran en frutos maduros (Adikaram *et al.*, 2015). Romero *et al.* (2017), sostienen que la detección de infecciones latentes en frutos de olivo (*Olea europaea* subsp. *europaea* L.) es útil para la toma de decisiones en el manejo de la enfermedad antes de la aparición de los primeros síntomas.

La detección de las infecciones quiescentes en frutos de guayaba es de gran importancia para determinar el momento de aplicar el control, debido a que es un evento que pasa desapercibido al examen visual en campo y se manifiesta en frutos maduros con las consecuentes pérdidas económicas para los productores, por lo que el objetivo de esta investigación fue determinar en qué etapa del desarrollo del fruto se inicia la infección por *C. gloeosporioides* en guayaba (*Psidium guajava* L.) en dos épocas de producción.

between the immature fruit and the mature fruit with respect to the development of the fungus; (ii) metabolic changes associated with ripening and alterations in the respiration pattern of the fruit; (iii) deficiency in the fungus of pectinolytic enzymes to invade immature fruits, (iv) presence of toxic compounds in immature fruits that are not found in mature fruits (Adikaram *et al.*, 2015). Romero *et al.* (2017), argue that the detection of latent infections in olive fruits (*Olea europaea* subsp. *europaea* L.) is useful for making decisions in the management of the disease before the appearance of the first symptoms.

The detection of quiescent infections in guava fruits is of great importance to determine the moment to apply the control, because it is an event that goes unnoticed on visual examination in the field and manifests itself in mature fruits with the consequent economic losses for the producers, so the objective of this research was to determine at what stage of fruit development the infection by *C. gloeosporioides* begins in guava (*Psidium guajava* L.) in two production seasons.

Materials and methods

Experiment location

The study was carried out in a guava plantation located in the Baralt municipality, state of Zulia, Venezuela (09°36'02"N, 70°58'33"W), with a rainfall of 1,320 mm, a temperature of 27 °C and relative humidity of 77 % annual average (Sánchez *et al.*, 2009). Quiescent infections were determined

Materiales y métodos

Ubicación del ensayo

El estudio se realizó en una plantación de guayabo ubicada en el municipio Baralt, estado Zulia, Venezuela (09°36'02" N, 70°58'33" O), con una precipitación de 1.320 mm, temperatura de 27 °C y humedad relativa de 77 % promedio anual (Sánchez *et al.*, 2009). Las infecciones quiescentes se determinaron en dos épocas de mayor producción de frutos de guayaba en la zona, de septiembre a diciembre del primer año y de abril a agosto del segundo año. La plantación de 13 años de edad, produce frutos de guayaba tipo Criolla Roja, con meso y endocarpio rojo, establecida a una distancia entre planta y entre hileras de 7 m x 7 m.

Patógeno y preparación del inóculo

El hongo *C. gloeosporioides* se obtuvo de frutos de guayaba con síntomas de antracnosis procedentes de la plantación, y actualmente integra la colección de hongos del laboratorio de fitopatología y control biológico "Dr. Carlos Díaz Polanco, Núcleo Rafael Rangel de la Universidad de los Andes. El inóculo se preparó a partir del hongo incubado en cajas de Petri con medio de cultivo PDA por 12 días, agregando agua destilada estéril (ADE) y a través de un raspado con espátula de vidrio se removió el micelio con los conidios, la suspensión resultante se filtró a través de doble capa de gasa estéril, y utilizando la cámara de Neubauer se ajustó a la concentración de 1.10^6 conidios.mL⁻¹ con ADE.

in two seasons with the highest production of guava fruits in the area, from September to December of the first year and from April to August of the second year. The 13-year-old plantation produces guava fruits of the Criolla Roja type, with red meso and endocarp, established at a distance between plants and between rows of 7 m x 7 m.

Pathogen and inoculum preparation

The fungus *C. gloeosporioides* was obtained from guava fruits with anthracnose symptoms from the plantation, and is currently part of the fungus collection of the "Dr. Carlos Díaz Polanco, Rafael Rangel Nucleus of the Universidad de los Andes. The inoculum was prepared from the fungus incubated in Petri dishes with PDA culture medium for 12 days, adding sterile distilled water (ADE) and through scraping with a glass spatula, the mycelium with the conidia was removed, the resulting suspension was filtered through a double layer of sterile gauze, and using the Neubauer chamber, the concentration of 1,106 conidia.mL⁻¹ was adjusted with ADE.

Vegetal material

Thirteen trees with a high number of flowers and stage 1 flower buds were selected, based on their appearance and uniform size, in each plant 50 flower buds were chosen, of which 35 were covered with white paper bags attached to the branch in the top with tape and 15 remained uncovered labeled with tape. The number of flower buds selected was greater than that used for each treatment due to the risk of their fall. The classification

Material vegetal

Se seleccionaron 13 árboles con un alto número de flores y yemas florales estadio 1, basados en su apariencia y tamaño uniforme, en cada planta se eligieron 50 yemas florales, de las cuales 35 se cubrieron con bolsas de papel blanco sujetas a la rama en la parte superior con cinta pegante y 15 permanecieron descubiertas rotuladas con una cinta. El número de yemas florales seleccionadas fue mayor al utilizado para cada tratamiento por el riesgo de caída de las mismas. La clasificación de los estados fenológicos del fruto de la guayaba se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Laguado *et al.* (2002); y para esta investigación se incluyeron desde yemas florales hasta frutos maduros.

Inoculación de flores y cada estado fenológico del fruto

La selección de las yemas florales se realizó a comienzo de la floración, se marcaron y/o cubrieron las que conformarían los tratamientos (YF, flores, frutillos y frutos cubiertos inoculados, YF, flores, frutillos y frutos cubiertos no inoculados y YF, flores, frutillos y frutos descubiertos no inoculados). La primera inoculación de las yemas florales se realizó una semana después de la selección de éstas, aplicando 3 mL de la suspensión conidial del hongo por yema floral utilizando un atomizador manual de 200 mL. Las inoculaciones se realizaron por 15 semanas y cada semana se inocularon 10 yemas florales o frutos (tratamiento YF o frutos cubiertos inoculados). Asimismo, se seleccionaron y marcaron 10 YF o frutos cubiertos no inoculados y 10 YF o frutos descubiertos no inoculados.

of the phenological states of the guava fruit was carried out according to the methodology proposed by Laguado *et al.* (2002); and for this research, from flower buds to mature fruits were included.

Inoculation of flowers and each phenological state of the fruit

The selection of flower buds was carried out at the beginning of flowering, those that would make up the treatments were marked and/or covered (YF, flowers, inoculated covered fruits, YF, flowers, non-inoculated covered fruits and fruits and YF, flowers, fruits and uncovered fruits not inoculated). The first inoculation of the flower buds was carried out one week after their selection, applying 3 mL of the conidial suspension of the fungus per flower bud using a 200 mL manual atomizer. The inoculations were carried out for 15 weeks and each week 10 flower buds or fruits were inoculated (YF treatment or inoculated covered fruits). Likewise, 10 YF or non-inoculated covered fruits and 10 YF or uncovered non-inoculated fruits were selected and marked.

Seven days after each inoculation, 5 flower buds or fruits were collected from each of the treatments for a total of 15, placed in plastic bags and taken to the laboratory for incubation. The same number of flower buds or fruits per treatment were left on the plant until harvest (week 16), to determine the incidence and severity of the disease.

Sample processing

The flower buds, berries and fruits collected were taken to the laboratory

Siete días después de cada inoculación se recolectaron 5 yemas florales o frutos de cada uno de los tratamientos para un total de 15, colocadas en bolsas plásticas y llevadas al laboratorio para su incubación. Igual número de yemas florales o frutos por tratamiento fueron dejados en la planta hasta la cosecha (semana 16), para determinar la incidencia y la severidad de la enfermedad.

Procesamiento de muestras

Las yemas florales, frutillos y frutos recolectados fueron llevados al laboratorio en bolsas plásticas, se lavaron con agua corriente por 5 min, se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio al 3 % por 2 min, luego se lavaron con agua destilada estéril (ADE) y secaron con papel absorbente estéril. De las cinco yemas florales o frutos cosechados cada semana, dos se dividieron longitudinalmente en cuatro partes, de cada cuadrante se tomaron secciones de epicarpio de 4 x 4 mm, aproximadamente, y se colocaron en cajas de Petri con PDA, se incubaron hasta que aparecieron las colonias características de *C. gloeosporioides*, que fueron identificadas utilizando las claves de Barnett y Hunter (1986) y Hyde *et al.* (2009); igualmente se colocaron tres yemas florales o frutos en cámara húmeda (contenedor de aluminio de 15 cm x 10 cm con papel absorbente humedecido) hasta observar las estructuras del hongo; ambas evaluaciones bajo condiciones de temperatura ambiente (27 °C ≈ 1 °C), 12 horas luz

in plastic bags, washed with running water for 5 min, disinfected by immersion in 3 % sodium hypochlorite for 2 min, then washed with sterile distilled water (ADE) and blotted with sterile absorbent paper. Of the five flower buds or fruits harvested each week, two were divided longitudinally into four parts, from each quadrant epicarp sections of approximately 4 x 4 mm were taken and placed in Petri dishes with PDA, they were incubated until they appeared. the characteristic colonies of *C. gloeosporioides*, which were identified using the keys of Barnett and Hunter (1986) and Hyde *et al.* (2009); likewise, three flower buds or fruits were placed in a humid chamber (aluminum container of 15 cm x 10 cm with moistened absorbent paper) until the structures of the fungus were observed; both evaluations under ambient temperature conditions (27 °C ≈ 1 °C), 12 hours light and 12 hours dark. Daily evaluations were carried out until the presence of signs of the fungus was detected, which made it possible to determine the presence of quiescent infections.

The fruits left on the plant each week were collected in their entirety at 16 weeks, harvesting fruits from one week to 16 weeks of inoculation, they were transferred to the laboratory, immersed in a 2 % hypochlorite solution, for 3 min, washed under running water, air dried and placed in a dry place on cardboard sheets. Observations to determine the presence of characteristic symptoms or signs of the disease were made daily for 10 days.

y 12 horas oscuridad. Se realizaron evaluaciones diarias hasta detectar la presencia de signos del hongo que permitieron determinar la presencia de infecciones quiescentes.

Los frutos dejados en la planta cada semana, fueron recolectados en su totalidad a las 16 semanas, cosechando frutos de una semana hasta 16 semanas de inoculación, fueron trasladados al laboratorio, sumergidos en una solución de hipoclorito al 2 %, por 3 min, lavados con agua corriente, secados al aire y colocados en un lugar seco sobre láminas de cartón. Las observaciones para determinar la presencia de síntomas o signos característicos de la enfermedad se realizaron diariamente por 10 días.

Análisis estadístico

El estudio en campo se realizó bajo un diseño de bloques al azar, con tres tratamientos: yemas florales cubiertas inoculadas, yemas florales cubiertas no inoculadas y yemas florales descubiertas no inoculadas (testigo), con 10 repeticiones por tratamiento, la unidad experimental fue cada estado fenológico del fruto de guayaba.

Las infecciones quiescentes se determinaron por el número yemas, flores, frutillos o frutos con presencia de signos (masa mucilaginosa en frutos inmaduros) en cámara húmeda o crecimiento micelial en PDA. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de medias Tukey entre los tratamientos, con el programa estadístico SPSS 19 para Windows (IBM Corporación Released, 2010).

Statistical analysis

The field study was carried out under a randomized block design, with three treatments: inoculated covered flower buds, non-inoculated covered flower buds and non-inoculated exposed flower buds (control), with 10 repetitions per treatment, the experimental unit was each state phenological of the guava fruit.

Quiescent infections were determined by the number of buds, flowers, berries or fruits with the presence of signs (mucilaginous mass in immature fruits) in a humid chamber or mycelial growth in PDA. The data were subjected to an analysis of variance (ANOVA) and Tukey's mean test between treatments, with the statistical program SPSS 19 for Windows (IBM Corporation Released, 2010).

Results and discussion

Quiescent infections in different phenological stages of the fruit

A greater presence of quiescent infections was evidenced in green fruits aged between 6 and 13 weeks, with infection values from 58.33 to 77.72 % in the entire green fruit stage (figure 1), with significant differences ($p < 0.001$) between infections per weeks. These observations correspond to stages I and II, between 42 and 91 days, and according to the growth dynamics of the "Criolla Roja" type guava fruit proposed by Laguado *et al.* (2002), stages I and II range from 7 to 91 days, with rapid fruit growth kinetics in stage I that notably decreases in stage II.

Resultados y discusión

Infecciones quiescentes en diferentes estados fenológicos del fruto

Se evidenció mayor presencia de infecciones quiescentes en los frutos verdes con edades comprendidas entre las 6 y 13 semanas, con valores de infección desde 58,33 a 77,72 % en toda la etapa de fruto verde (figura 1), con diferencias significativas ($p < 0,001$) entre infecciones por semanas. Estas observaciones corresponden con las etapas I y II, entre los 42 y 91 días, y según la dinámica de crecimiento del fruto de guayaba tipo “Criolla Roja” propuesta por Laguado *et al.* (2002), la etapa I y II abarca desde los 7 hasta 91 días, con una cinética de crecimiento rápido del fruto en la etapa I que disminuye notablemente en la etapa II.

Infections by *C. gloeosporioides* appeared from the flower buds (16.67 %) (figure 1) and throughout the growth phase of the guava fruit, as well as postharvest, which indicates that pathogen control strategies should start before flowering in order to eliminate the inoculum that survives in mummified leaves, branches and fruits. Fischer *et al.* (2017), pointed out that due to the wide distribution of quiescent infections in fruits that start from flowering, preventive management should be implemented considering disease monitoring and the elimination of residues from the previous harvest.

The incidence percentage of quiescent infections was higher for the inoculated covered flower buds treatment with 81 %, followed by the bare flower buds and non-inoculated

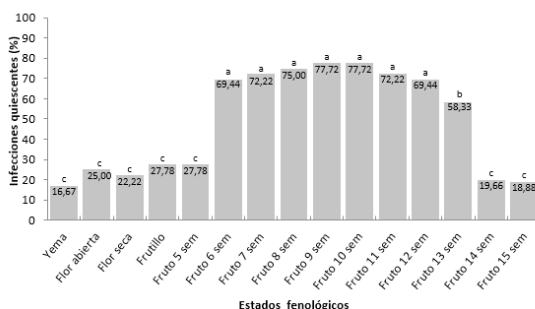


Figura 1. Porcentaje de infección por *Colletotrichum gloeosporioides* en diferentes etapas de desarrollo del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) en el municipio Baralt, estado Zulia, Venezuela. Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas según Tukey (T).

Figure 1. Percentage of infection by *Colletotrichum gloeosporioides* in different stages of development of the guava fruit (*Psidium guajava* L.) in the Baralt municipality, state of Zulia, Venezuela. Means with different letters present significant differences according to Tukey (T).

Las infecciones por *C. gloeosporioides* aparecieron desde las yemas florales (16,67 %) (figura 1) y a lo largo de la fase de crecimiento del fruto de guayaba, así como en postcosecha, lo que indica que las estrategias de control del patógeno deben comenzar antes de la floración con la finalidad de eliminar el inóculo que sobrevive en hojas, ramas y frutos momificados. Fischer *et al.* (2017), señalaron que debido a la amplia distribución de infecciones quiescentes en frutos que se inician desde la floración, debe implementarse un manejo preventivo considerando un monitoreo de la enfermedad y la eliminación de residuos de la cosecha anterior.

El porcentaje de incidencia de infecciones quiescentes fue mayor para el tratamiento yemas florales cubiertas inoculadas con un 81 %, seguido de los tratamientos yemas florales descubiertas y yemas florales cubiertas no inoculadas con un 54 % y 46 %, respectivamente (figura 2). La presencia de infecciones quiescentes en yemas florales y frutos verdes que no fueron inoculados indica que posiblemente fueron infectados al inicio de su formación, o por el inóculo que pudo estar presente en las hojas y tallos que se cubrieron con las bolsas junto a las yemas.

Estos resultados coinciden con lo expresado por Michailides *et al.* (2010), quienes reportan que la incidencia de las enfermedades postcosecha depende de la presencia de infecciones quiescentes que se inician en campo, de la presencia de propágulos del hongo durante el desarrollo del fruto, de la eficacia de los tratamientos

covered flower buds with 54 % and 46 %, respectively (Figure 2). The presence of quiescent infections in flower buds and green fruits that were not inoculated indicates that they were possibly infected at the beginning of their formation, or because of the inoculum that could be present in the leaves and stems that were covered with the bags next to the buds.

These results coincide with those expressed by Michailides *et al.* (2010), who report that the incidence of postharvest diseases depends on the presence of quiescent infections that start in the field, the presence of propagules of the fungus during fruit development, the effectiveness of postharvest treatments and the conditions storage and marketing. Therefore, it can be said that the high incidence of anthracnose disease in ripe guava fruits is due to early infection in flowers and immature fruits, so monitoring of the disease and elimination of harvest residues should be considered (Fischer *et al.*, 2017).

Soares *et al.* (2008) indicated that quiescent infections have epidemiological importance because they occur in different phenological stages of the fruit in the field and lead to an increase in infection in mature fruit in pre-harvest and post-harvest. Likewise, Moraes *et al.* (2013) found that *Colletotrichum* species infected guavas in different phenological stages in the absence of wounds, remaining quiescent before maturation.

Moraes *et al.* (2015) found that *C. gloeosporioides* has the ability to survive in immature guava fruits at

postcosecha y de las condiciones de almacenamiento y comercialización. Por tanto, se puede decir que la alta incidencia de la enfermedad antracnosis en frutos maduros de guayaba, se debe a la infección temprana en flores y frutos inmaduros por lo que debe considerarse el monitoreo de la enfermedad y la eliminación de residuos de cosecha (Fischer *et al.*, 2017).

different ages of 10, 35, 60, 85 and 110 days after petal fall with conidia germination and appressor formation higher than 80 %.

Incubation methods

Quiescent infections in flowers and fruits manifested after 16 days of incubation in a humid chamber, through the signs of the pathogen

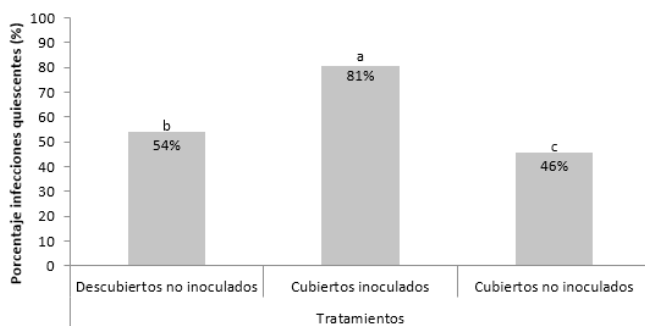


Figura 2. Porcentaje de infección de *Colletotrichum gloeosporioides* en las diferentes etapas de desarrollo del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) para los diferentes tratamientos durante 16 semanas de evaluación, en el municipio Baralt, estado Zulia, Venezuela. Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas según Tukey (T).

Figure 2. Percentage of *Colletotrichum gloeosporioides* infection in the different development stages of the guava fruit (*Psidium guajava* L.) for the different treatments during 16 weeks of evaluation, in the Baralt municipality, state of Zulia, Venezuela. Means with different letters present significant differences according to Tukey (T).

Soares *et al.* (2008) indicaron que las infecciones quiescentes tienen importancia epidemiológica porque ocurren en diferentes estados fenológicos del fruto en campo y conllevan al aumento de la infección

corresponding to a mucilaginous mass of orange or salmon color in the epicarp of the reproductive organ (figure 3), as well as to the evidence of mycelial growth from the fruit tissues after three days of incubation in the

en el fruto maduro en precosecha y postcosecha. Así mismo, Moraes *et al.* (2013) encontraron que las especies de *Colletotrichum* infectaron guayabas en diferentes estados fenológicos en ausencia de heridas permaneciendo quiescente antes de la maduración.

Moraes *et al.* (2015) encontraron que *C. gloeosporioides* tiene la habilidad de sobrevivir en frutos inmaduros de guayaba en diferentes edades de 10, 35, 60, 85 y 110 días después de la caída de los pétalos con una germinación de conidios y formación de apresorios superior al 80 %.

Métodos de incubación

Las infecciones quiescentes en flores y frutos se manifestaron después de 16 días de incubación en cámara húmeda, a través de los signos del patógeno correspondiente a una masa mucilaginosa de color anaranjado o salmón en el epicarpio del órgano reproductivo (figura 3), así como a la evidencia de crecimiento micelial a partir de los tejidos del fruto después de tres días de incubación en el medio de cultivo PDA. El tiempo de observación del patógeno depende de las condiciones de incubación y posiblemente está relacionado a la interacción patógeno-flores/fruto o patogénesis. En los frutos el patógeno después de la penetración al tejido, lo coloniza y se reproduce para luego manifestarse en una masa de conidios de color naranja debido a las condiciones de alta humedad, como modo de sobrevivencia, y por tratarse del fruto completo tarda varios días

PDA culture medium. The observation time of the pathogen depends on the incubation conditions and is possibly related to the pathogen-flower/fruit interaction or pathogenesis. In the fruits, the pathogen, after penetrating the tissue, colonizes it and reproduces itself and then manifests itself in a mass of orange conidia due to high humidity conditions, as a way of survival, and because it is the complete fruit, it takes several days in colonizing plant material; while in the culture medium the structures of the fungus come into direct contact with the nutrients and the growth is rapid and visible.

The method of incubation of flower buds and green fruits played a very important role in the detection of quiescent infections, 69.79 % of flower buds and fruits presented quiescent infections in a humid chamber and 51 % when they were incubated in culture medium PDA (figure 4). Fischer *et al.* (2017), detected a 93 % incidence of *Colletotrichum* in immature guava fruits in a humid chamber after the ninth day of incubation. The high percentage of reproductive structures of the fungus in a humid chamber is possibly due to the fact that the entire flower bud or fruit was incubated, while only sections of the plant material were sown in PDA culture medium, so that the quiescent infection point could not have been in the sections of the vegetable that came into contact with the growing medium.

Field study

In the plantation, no "anthracnose" symptoms were manifested during the stage from flower buds to 16-week-old

en colonizar el material vegetal; mientras que en el medio de cultivo las estructuras del hongo entran en contacto directo con los nutrientes y el crecimiento es rápido y visible.

fruits, at harvest time, however, the disease was observed in guava fruits stored after harvest in all treatments, confirming that the pathogen was present in the plantation and the

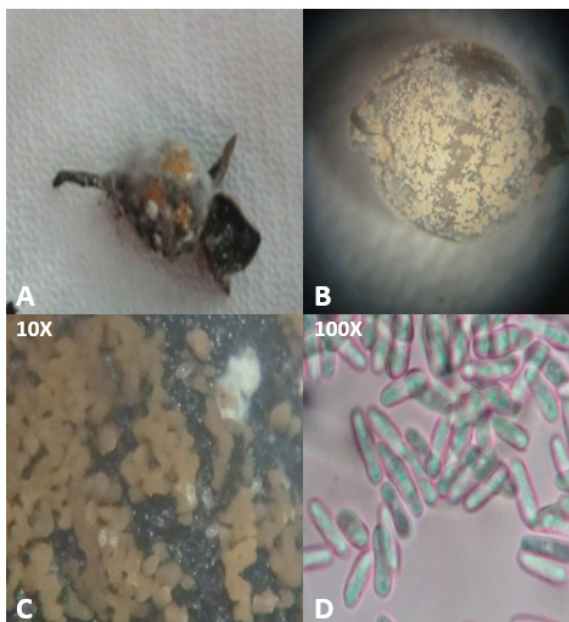


Figura 3. Frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) de 7(A) y 10(B) semanas de edad con presencia de una masa mucilaginosa de color salmón sobre el epicarpio (A, B y C). Conidios de *Colletotrichum gloeosporioides* proveniente de la masa mucilaginosa (D).

Figure 3. Guava fruits (*Psidium guajava* L.) 7 (A) and 10 (B) weeks old with the presence of a salmon-colored mucilaginous mass on the epicarp (A, B and C). *Colletotrichum gloeosporioides* conidia from the mucilaginous mass (D).

El método de incubación de yemas florales y frutos verdes jugó un papel muy importante en la detección de infecciones quiescentes, el 69,79 % de las yemas florales y frutos presentaron infecciones quiescentes en cámara húmeda y el 51 % cuando se incubaron

infection possibly occurred in the early stages of fruit development, remaining inactive or quiescent until ripening.

These results coincide with previous studies carried out by Prusky *et al.* (2013), who pointed out

en medio de cultivo PDA (figura 4). Fischer *et al.* (2017), detectaron un 93 % de incidencia de *Colletotrichum* en frutos de guayaba inmaduros en cámara húmeda después del noveno día de incubación. El alto porcentaje de estructuras reproductivas del hongo en cámara húmeda, posiblemente se debe a que se incubó la yema floral o fruto completo, mientras que en medio de cultivo PDA sólo se sembró secciones del material vegetal, por lo que el punto de infección quiescente pudo no haber estado en las secciones del vegetal que entró en contacto con el medio de cultivo.

that *C. gloeosporioides* has the ability to infect immature avocado fruits (*Persea americana* L.) in the field, which remains quiescent until its activation at maturity and manifests as dark spots on ripe fruits. Quiescent infections by *C. gloeosporioides* can be the product of stress or natural defenses of the tomato fruit (González *et al.* 2013; Alkan *et al.* 2015); and when the physiological (maturity) and biochemical (presence of sugars) conditions of the guava fruit change, the activation of the pathogen and progression of the disease occur (Bruce Da Silva and Michereff, 2013).

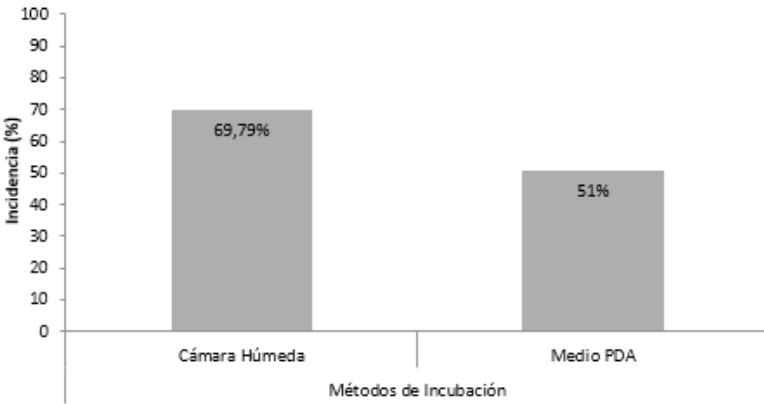


Figura 4. Porcentaje de infecciones causadas por *Colletotrichum gloeosporioides* en todos los estados fenológicos: YF, flores, frutillos y frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) incubados en cámara húmeda y medio de cultivo PDA, municipio Baralt, estado Zulia, Venezuela.

Figure 4. Percentage of infections caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in all phenological stages: YF, flowers, berries and guava fruits (*Psidium guajava* L.) incubated in a humid chamber and PDA culture medium, Baralt municipality, state of Zulia, Venezuela.

Estudio en campo

En la plantación no se manifestaron síntomas de “antracnosis” durante la etapa comprendida desde yemas florales hasta frutos de 16 semanas de edad, momento de la cosecha, sin embargo, la enfermedad se observó en frutos de guayaba almacenados después de la cosecha en todos los tratamientos, lo que confirma que el patógeno estaba presente en la plantación y la infección ocurrió posiblemente en etapas tempranas del desarrollo del fruto, permaneciendo inactiva o quiescente hasta la maduración.

Estos resultados coinciden con estudios previos realizados por Prusky *et al.* (2013), quienes señalaron que *C. gloeosporioides* tiene la capacidad de infectar frutos de aguacate (*Persea americana* L.) inmaduros en campo, el cual permanece quiescente hasta su activación en la madurez y se manifiesta como manchas oscuras en frutos maduros. Las infecciones quiescentes por *C. gloeosporioides* pueden ser producto de estrés o defensas naturales del fruto de tomate (González *et al.* 2013; Alkan *et al.* 2015); y cuando cambian las condiciones fisiológicas (madurez) y bioquímicas (presencia de azúcares) del fruto de guayaba, se produce la activación del patógeno y avance de la enfermedad (Bruce Da Silva y Michereff, 2013).

Época de producción

La época de producción influyó en la presencia de infecciones quiescentes en todos los estados fenológicos evaluados ($p < 0,001$) con un 69,10 % en la época de abril-agosto y un

Production season

The production season influenced the presence of quiescent infections in all the phenological stages evaluated ($p < 0.001$) with 69.10 % in the April-August period and 15.14 % in the September-December period (figure 5). This result is due to the fact that in the April-August period there was greater precipitation, which suggests that the fungus used liquid water for its dispersion and germination of the conidia. This has already been demonstrated in avocado, in which they found that conidia of *Colletotrichum* sp. survived during the winter on green leaves and branches, which led to a greater infection in the field, manifesting itself in mature fruits with a high incidence of the disease (Sharma *et al.*, 2017). Likewise, Bruce Da Silva and Michereff (2013) indicated that the main source of inoculum are the conidia of *Colletotrichum* spp. that survive on branches and leaves; and in conditions of high humidity they are dispersed to the immature fruits through splashes of rainwater.

The main means of dissemination of *C. gloeosporioides* is through the splashing and dragging of the conidia to other organs of the plant by raindrops, causing new infections, which represents a favorable condition for the fungus, which has been evidenced in fruit trees such as mango (*Mangifera indica* L.) and blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) (Huerta *et al.*, 2009; López *et al.*, 2013). Conidia of *C. gloeosporioides* are spread mainly by raindrops, causing new infections; It is common for this fungus to infect

15,14 % en la época de septiembre-diciembre (figura 5). Este resultado se debe a que en la época de abril-agosto hubo mayor precipitación, lo que sugiere que el hongo utilizó el agua líquida para su dispersión y germinación de los conidios. Esto ya ha sido demostrado en aguacate, en los cuales encontraron que conidios de *Colletotrichum* sp. sobrevivieron durante el invierno en hojas y ramas verdes que conllevó a una mayor infección en campo manifestándose en frutos maduros con alta incidencia de la enfermedad (Sharma *et al.*, 2017). Así mismo, Bruce Da Silva y Michereff (2013) indicaron que la principal fuente de inóculo son los conidios de *Colletotrichum* spp. que sobreviven en ramas y hojas; y en condiciones de alta humedad se dispersan a los frutos inmaduros a través de salpicaduras de agua de lluvia.

El principal medio de diseminación de *C. gloeosporioides* es a través del salpique y arrastre de los conidios a otros órganos de la planta por gotas de lluvia, causando nuevas infecciones, lo cual representa una condición favorable para el hongo, que se ha evidenciado en frutales como el mango (*Mangifera indica* L.) y la mora (*Rubus glaucus* Benth.) (Huerta *et al.*, 2009; López *et al.*, 2013). Los conidios de *C. gloeosporioides* se diseminan principalmente por gotas de lluvia, lo que causa nuevas infecciones; es común que este hongo infecte frutos inmaduros en plantaciones y permanezca inactivo hasta después de la cosecha, activándose durante la maduración (Agrios, 2005).

immature fruits in plantations and to remain inactive until after harvest, activating during ripening (Agrios, 2005).

The average temperature in both seasons was higher than 28 °C and humidity exceeded 87 %, optimal environmental conditions for infection by *Colletotrichum* in guava fruits. This coincides with Ventura and Hinz (2002) who indicated that the optimal conditions for the growth and sporulation of *Colletotrichum musae* in banana fruits (*Musa* spp.) Were between 27 and 30 °C. In contrast to the results obtained, Barkai (2001) found that the effect of temperature (higher than 26 °C) is very important in the development of the disease in tropical fruits, being the most limiting variable in the infection process of *C. gloeosporioides* in fruits of milky (*Carica papaya* L.), mango (*Mangifera indica* L.) and guava (*Psidium guajava* L.), which depends on the development phase of the disease, being susceptible between the germination phase of the conidia and the tissue penetration phase.

Conclusions

Quiescent *Colletotrichum gloeosporioides* infections were detected in all the phenological stages evaluated: buds, flowers, berries and guava fruits, with a higher incidence in green fruits aged 6 to 13 weeks, after an incubation period of 4 days in PDA médium and 15 days in a humid chamber.

The guava production season was a determining factor in detecting

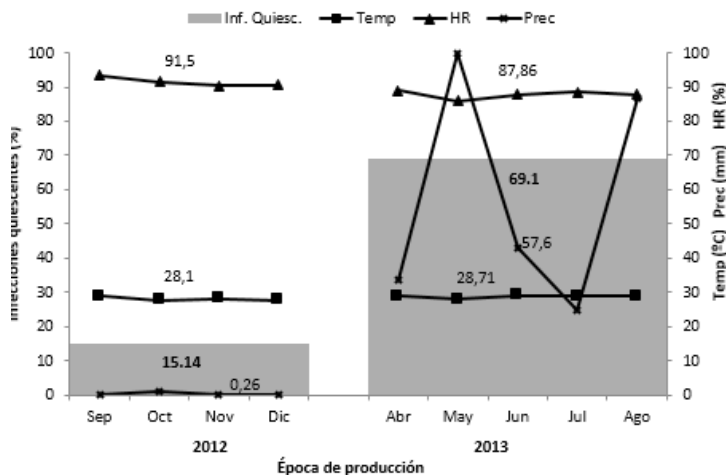


Figura 5. Porcentaje promedio de infecciones quiescentes de *Colletotrichum gloeosporioides* en los estados fenológicos (yemas, flores, frutillos y frutos) evaluados y el promedio mensual de la temperatura y la humedad relativa en las dos épocas de producción, municipio Baralt, estado Zulia, Venezuela. Temp.=Temperatura; Prec.= Precipitación; HR= Humedad relativa.

Figure 5. Average percentage of quiescent infections of *Colletotrichum gloeosporioides* in the phenological stages (buds, flowers, berries and fruits) evaluated and the monthly average of temperature and relative humidity in the two production seasons, Baralt municipality, state of Zulia, Venezuela. Temp. = Temperature; Prec = Precipitation; RH = Relative humidity.

El promedio de temperatura en ambas épocas fue superior a los 28 °C y la humedad superó el 87 %, condiciones ambientales óptimas para la infección por *Colletotrichum* en frutos de guayaba. Lo cual coincide con Ventura y Hinz (2002) quienes señalaron que las condiciones óptimas para el crecimiento y esporulación de *Colletotrichum musae* en frutos de banana (*Musa* spp.) estuvieron entre 27 y 30 °C. En contraste con

a higher presence of quiescent infections, and corresponded with the time of greatest rainfall.

End of English Version

los resultados obtenidos, Barkai (2001) encontró que el efecto de la temperatura (superior a 26 °C) es muy importante en el desarrollo de la enfermedad en frutos tropicales, siendo la variable más limitante en el proceso

de infección de *C. gloeosporioides* en frutos de lechosa (*Carica papaya* L.), mango (*Mangifera indica* L.) y guayaba (*Psidium guajava* L.), lo cual depende de la fase de desarrollo de la enfermedad, siendo susceptible entre la fase de germinación de los conidios y la fase de penetración al tejido.

Conclusiones

Las infecciones quiescentes de *Colletotrichum gloeosporioides* se detectaron en todos los estados fenológicos evaluados: yemas, flores, frutillos y frutos de guayaba, con mayor incidencia en frutos verdes con edades entre 6 a 13 semanas, luego de un período de incubación de 4 días en medio PDA y 15 días en cámara húmeda.

La época de producción de guayaba fue un factor determinante para detectar mayor presencia de infecciones quiescentes, y correspondió con la época de mayor precipitación.

Literatura citada

Adikaram, N., Ch. Karunayake, G. Sinniah, I. Komala-Vithanage and D. Yakandawala. 2015. Fungal quiescence in fruit: an attempt to avoid toxic substances?. *J. Mycopathol. Res.* 53(1): 1-7.

Agrios, G. 2005. *Plant Pathology*. 5th Edition, Elsevier Academic Press, Amsterdam, 952 p.

Alkan, N., G. Friedlander, D. Ment, D. Prusky and R. Fluhr. 2015. Simultaneous transcriptome analysis of *Colletotrichum gloeosporioides* and tomato fruits response reveals novel fungal-fruit arm and defense strategies. *New Phytologist*. 205(2): 801-815.

Aular, J. y M. Casares. 2011. Consideraciones sobre la producción de frutas en Venezuela. *Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal*. 33: 187-198.

Barkai, R. 2001. *Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables*. Edit. Elsevier Science BV. 394 p.

Barnett, H. and B. Hunter. 1986. *Ilustred genera of imperfect fungi*. Burgess Publishing Company. Minnesota, USA. 241 p.

Bruce Da Silva, C. and S. Michereff. 2013. Biology of *Colletotrichum* spp. and epidemiology of the anthracnose in tropical fruit trees. *Rev. Catinga*. 26(4): 130-138.

Cannon, P., U. Damm, P. Johnston and B. Weir. 2012. *Colletotrichum* – Current status and future directions. *Stud. Mycol.* 73: 81–213.

Fischer, I., A. Soares, M. Arruda and L. Amorim. 2017. Temporal progress and spatial patterns of quiescent diseases in guava influenced by sanitation practices. *Scientia Agric.* 74(1): 68-76.

González, G., M. Ansorena, G. Viacava, S. Roura and J. Ayala-Zavala. 2013. Plant essential oils as antifungal treatments on the postharvest of fruit and vegetables. p. 429-446. *In: Mehdi Razzaghiand Mahendra Rai* (Eds). *Antifungal metabolites from plants*. Academic Edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Huerta, G., F. Holguín, J. Benítez y J. Toledo. 2009. Epidemiología de la antracnosis *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc.] en mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataulfo en el Soconusco, Chiapas, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 27(2): 93-105.

Hyde, K., L. Cai, P. Cannon, J. Crouch, P. Crous, U. Damm, P. Johnston, Z. Liu, E. McKenzie, H. Prihastuti, R. Shivas, P. Taylor, B. Weir, Y. Yang and K. Zhang. 2009. *Colletotrichum*-names in current use. *Fungal Diversity*. 39: 147-183.

- IBM Corporación Released. 2010. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Armonk, IBM Corp., NY.
- Junqueira, N., R. Da Costa, A. Carneiro, V. Vargas, J. Peixoto e L. Junqueira. 2004. Efeito do óleo de soja no controle da antracnose e na conservação da manga cv. Palmer em pós-colheita. Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal. 26(2): 222-225.
- Laguado, N., M. Marín, L. Arenas, F. Araujo, C. Castro y A. Rincón. 2002. Crecimiento del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) del tipo Criolla Roja. Rev. Fac. Agron. (LUZ).19: 273-283.
- López, J., J. Castaño, M. Marulanda y A. López. 2013. Caracterización de la resistencia a la antracnosis causada por *Glomerella cingulata* y productividad de cinco genotipos de mora (*Rubus glaucus* Benth.) Acta Agron. 62(2): 174-185.
- Michailides, T., D. Morgan and Y. Luo. 2010. Epidemiological assessments and postharvest disease incidence (Chapter 6). 2: 69-88. In: D. Prusky and M.L. Gullino (Eds). Postharvest Pathology in the 21st Century.
- Moraes, S., T. Osama, A. Francisco, N. Sidnei and N. Massola. 2013. Histopathology of *Colletotrichum gloeosporioides* on guava fruits (*Psidium guajava* L.). Rev. Bras. Frutic. 35(2): 657-664.
- Moraes, S., M. Escanferla and N. Massola. 2015. Prepenetration and penetration of *Colletotrichum gloeosporioides* into guava fruit (*Psidium guajava* L.): effects of temperature, wetness period and fruit age. J. Phytopathol.163: 149-159.
- Piccinin, E., S. Pascholati e R. Di Piero. 2005. Guava diseases: Doenças da goiabeira (*Psidium guajava* L.). p. 401-405. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A., eds. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4ed. Ceres, São Paulo, SP, Brazil.
- Phoulivong, S., L. Cai, H. Chen, E. McKenzie, K. Abdelsalam, E. Chukeatirote and K. Hyde. 2010. *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits. Fungal Diversity. 44: 33-43.
- Prusky, D., I. Kobiler, M. Akerman and I. Miyara. 2006. Effect of acidic solutions and acidic prochloraz on the control of postharvest decay caused by *Alternaria alternata* in mango and persimmon fruits. Postharvest Biol. Technol. 42: 134-41.
- Prusky, D. and A. Lichter. 2007. Activation of quiescent infections by postharvest pathogens during transition from the biotrophic to the necrotrophic stage. Microbiol. Lett. 268: 1-8.
- Prusky, D., N. Alkan, T. Mengiste and R. Fluhr. 2013. Quiescent and necrotrophic lifestyle choice during postharvest disease development. Annu. Rev. Phytopathol. 51: 155-176.
- Romero, J., C. Agusti, A. Trapero and A. Santa Barbara. 2017. Detection of latent infections caused by *Colletotrichum* sp. in olive fruit. J. Appl. Microbiol. 124(1): 1-15.
- Sánchez, A., E. Suárez, M. González, Y. Amaya, C. Colmenares y J. Ortega. 2009. Efecto del ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de acodos aéreos de guayabo (*Psidium guajava* L.) en el municipio Baralt, Venezuela. Evaluación preliminar. Revista UDO Agrícola. 9 (1): 113-120.
- Sharma, G., M. Maymon and S. Freeman. 2017. Epidemiology, pathology and identification of *Colletotrichum* including a novel species associated with avocado (*Persea americana*) anthracnose in Israel. Sci. Rep. 7: 1-16.
- Silva, C. y S. Michereff. 2013. Biology of *Colletotrichum* spp. and epidemiology of the anthracnose in tropical fruit trees. Rev. Caatinga. 26: 130-138.
- Soares, A., S. Lourenco and L. Amorim. 2008. Infection of guava by *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum acutatum* under different temperatures and wetting periods. Trop. Plant. Pathol. 33(4): 265-272.
- Ventura, J. y R. Hinz. 2002. Controle das doenças da bananeira. p. 839-938. In: Zambolim L, Vale FXR, Monteiro AJA, Costa H (Eds.) Controle de doenças de plantas. Fruteiras. Vol. 2. Viçosa MG.