



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**Evaluación del efecto de cuatro nutrientes
en la severidad de antracnosis causada por
Colletotrichum gloeosporioides CEPA 52
en mora (*Rubus glaucus*, Benth.)
bajo condiciones de invernadero**

Luis Gabriel Bautista Montealegre

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Maestría en Ciencias Agrarias

Sede Bogotá

2017

**Evaluación del efecto de cuatro nutrientes
en la severidad de antracnosis causada por
Colletotrichum gloeosporioides CEPA 52
en mora (*Rubus glaucus*, Benth.)
bajo condiciones de invernadero**

Luis Gabriel Bautista Montealegre

Trabajo de investigación presentado como trabajo de grado para optar al título de:
Magister en Ciencias Agrarias con énfasis en Fitopatología

Directora:

Martha Marina Bolaños Benavides, Ph. D.

Codirector:

Gerhard Fischer, Ph. D.

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Maestría en Ciencias Agrarias

Sede Bogotá

2017

DEDICATORIA

A Dios por permitirme vivir; A mi madre por ser fuente de mi existencia, a su ejemplo de humildad y honestidad, a su apoyo y aliento constante durante todas las etapas de mi vida; A mi familia en agradecimiento a su apoyo y entusiasmo en mi formación personal y académica.

Luis Gabriel Bautista Montecalegre

AGRADECIMIENTOS A:

Dra. Martha Marina Bolaños Benavides, investigadora de CORPOICA, por los valores inculcados, su apoyo y consejos, los cuales han contribuido a mi formación personal, académica y profesional.

Dr. Gerhard Fischer, profesor asociado de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, por el conocimiento brindado, asesoría constante y por la confianza depositada en la formulación y desarrollo de esta investigación.

María Clemencia Forero de La-Rotta, Ingeniera Agrónomo, M.Sc. en Fitopatología, quien con su amplio conocimiento en el patosistema de estudio, contribuyó a la formulación y puesta en marcha de la investigación.

Alegría del Socorro Saldarriaga Cardona, Ingeniera Agrónomo, M.Sc. en Fitopatología, e investigadora de CORPOICA, Centro de Investigación La Selva, por su colaboración en la formulación y desarrollo de la investigación.

Erika Patricia Martínez Lemus, Bacterióloga, M.Sc. en Microbiología e investigadora de CORPOICA, Centro de Investigación Tibaitatá, por su colaboración en el desarrollo y seguimiento a la investigación.

Leidy Yibeth Deantonio Florido, Ingeniera Agrónomo, M.Sc. en Fisiología Vegetal, e investigadora de CORPOICA, por brindarme su conocimiento, amistad, apoyo y aliento en los momentos difíciles.

William Andrés Cardona, Ingeniero Agrónomo, M.Sc. en Suelos y Aguas, e investigador de CORPOICA, Centro de Investigación Tibaitatá, por su colaboración en la formulación, desarrollo y seguimiento de la investigación.

Jorge Humberto Argüelles Cárdenas, Ingeniero Agrónomo, M.Sc. en Estadística e investigador de CORPOICA, por su contribución técnica y científica en la formulación y desarrollo de la investigación.

Al equipo del Laboratorio de Microbiología Agrícola de CORPOICA, Centro de Investigación Tibaitatá, por su inmensa colaboración para el desarrollo de la investigación, especialmente a Jaime Esneider Aguirre Rodríguez.

La Corporación Colombiana de Investigación agropecuaria CORPOICA, Centro de Investigación Tibaitatá (Mosquera Cundinamarca), por el financiamiento de la presente investigación, la cual hace parte del proyecto: *Requerimientos nutricionales (N, P, K y Ca) del cultivo de mora (Rubus glaucus B.), determinados y manejo eficiente de la fertilización integrada.*

A todas aquellas personas que de una u otra forma me brindaron su colaboración y apoyo en el desarrollo de la investigación.

RESUMEN

El cultivo de mora en Colombia en 2014 ocupó alrededor 8.015 ha, de las cuales se obtuvieron 61.380 t con un rendimiento promedio de nueve toneladas por hectárea. El complejo de hongos de *Colletotrichum* es considerado como uno de los problemas fitosanitarios más limitantes en la producción de la mora, debido a la generación de pérdidas que pueden llegar a 100% cuando no se aplican medidas preventivas. Con el fin de contribuir al manejo de este problema, se analizó el efecto del nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K) y calcio (Ca) sobre la severidad de *C. gloeosporioides* cepa 52, así como la respuesta fisiológica de plantas de mora castilla. Para evaluar el efecto de los cuatro nutrientes, se empleó un diseño de bloques completos al azar con arreglo compuesto central ortogonal de 25 tratamientos, en busca de ajustar una superficie de respuesta mediante regresión. Se inocularon artificialmente los tallos de las plantas con discos de micelio de 0,5 cm a una concentración de $9,53 \times 10^4$. Semanalmente, se registró la severidad de la enfermedad (%), el índice de contenido de clorofilas (ICC), la altura de las plantas (cm) y el diámetro del tallo (mm). Al final del experimento, se calculó el área foliar (cm^2) y se llevó a cabo un muestreo destructivo, esto último para determinar la concentración de nutrientes en los tejidos. Los resultados obtenidos permitieron verificar el efecto negativo de la cepa 52 sobre el contenido de clorofilas, el desarrollo de las plantas y el incremento del área foliar. Se obtuvo modelos de regresión lineal que demostraron la importancia del N y el Ca para el desarrollo vegetativo inicial de las plantas y su efecto frente a infecciones de la cepa 52. Dosis de 32-35-48-9 g/planta de N, P_2O_5 , K_2O y CaO , respectivamente, aplicadas a plantas de mora castilla mostraron un efecto positivo sobre la antracnosis mediante la reducción en el porcentaje de severidad y la tasa de desarrollo, y permitieron a la vez un mayor índice de contenido de clorofilas. Las plantas que recibieron dosis de 48-12-72-28 g/planta de N, P_2O_5 , K_2O y CaO , respectivamente, desarrollaron mayor área foliar, mientras que dosis de 48-12-72-28 g/planta de N, P_2O_5 , K_2O y CaO , respectivamente, contribuyeron a que las plantas alcanzaran una mayor altura.

Palabras clave: *Rubus glaucus*, *Colletotrichum gloeosporioides*, índice de severidad, nutrición, fisiología.

ABSTRACT

In Colombia, in 2014, the area cultivated with blackberry were 8.015 ha, with a harvest of 61.380 t and an average yield of nine tons per hectare. The complex fungus *Colletotrichum* is considered as the phytosanitary problem more limiting in the blackberry production because the presence fungi generates losses up to 100% when the crop has not preventive measures. To contribute to this problem management, it was analysed the effect of nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), and calcium (Ca) on the severity of *C. gloeosporioides* strain 52 as well as the physiological response of blackberry castilla plants. To evaluate the effect of the four nutrients, it was used a randomized complete block design with central orthogonal arrangement with 25 treatments. This was used to adjust a response surface by regression. It had carried artificial inoculation on the stems of the plants with 0,5 cm mycelial discs at a concentration of $9,53 \times 10^4$ CFU. Weekly, it had registered the severity of the disease (%), chlorophyll content index (CCI), plant height (cm) and stem diameter (mm). At the end of the experiment, it was calculated the leaf area (cm^2), and was performed a destructive sampling, to measure the nutrients concentration in tissues. The obtained results allowed to verify the negative effect of the strain 52 on the chlorophyll content, the development of the plants, and the increase of the leaf area. Linear regression models demonstrated the importance of N and Ca for the initial vegetative development of the plants and their effect on infections of the strain 52. The application of 32-35-48-9 g/plant of N, P_2O_5 , K_2O and CaO, respectively, on blackberry castilla plants, showed a positive effect on anthracnose by reducing the percentage of severity and rate of development and, at the same time, a higher content index of chlorophylls. Plants that received doses of 48-12-72-28 g/plant of N, P_2O_5 , K_2O and CaO, respectively, developed a larger leaf area, while doses of 48-12-72-28 g/plant of N, P_2O_5 , K_2O and CaO, respectively, contributed plants had a greater high.

Key words: *Rubus glaucus*, *Colletotrichum gloeosporioides*, severity index, nutrition, physiology.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	10
2. MARCO TEÓRICO	14
2.1 <i>Rubus glaucus</i>, Benth	14
2.2 Enfermedades del cultivo de mora (<i>R. glaucus</i>, Benth.)	19
2.2.1 Mildew velloso (<i>Peronospora sparsa</i>).....	19
2.2.2 Mildew polvoso (<i>Oidium</i> sp.).....	20
2.2.3 Agalla de la corona (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>).....	21
2.2.4 Pudrición del fruto o moho gris (<i>Botrytis cinerea</i>).....	22
2.2.5 Marchitez y pudrición de las raíces (<i>Verticillium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. y <i>Rosellinia</i> sp.)	23
2.2.6 Roya (<i>Gerwasia lagerheimii</i> [Magnus] Buriticá).	24
2.3 Antracnosis (<i>Colletotrichum</i> spp.)	26
2.3.1 Taxonomía y ciclo biológico	26
2.4 <i>Colletotrichum</i> spp. en el cultivo de mora (<i>R. glaucus</i>, Benth.)	29
2.5 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> cepa 52	32
2.6 Manejo de antracnosis causada por <i>Colletotrichum</i> spp.	34
2.7 Importancia de la nutrición con nitrógeno, fósforo, potasio y calcio en el cultivo de mora	37
2.7.1 Nitrógeno.....	37
2.7.2 Fósforo.....	38
2.7.3 Potasio	38
2.7.4 Calcio	39
2.8 Fertilización en el cultivo de mora	41
2.9 Efecto del nitrógeno, fósforo, potasio y calcio en el manejo de enfermedades	45
2.9.1 Nitrógeno.....	45
2.9.2 Fósforo	48
2.9.3 Potasio	49
2.9.4 Calcio	51

3. METODOLOGÍA.....	54
3.1 Localización e instalación del experimento.....	54
3.2 Tratamientos.....	55
3.3 Evaluación de la enfermedad.....	58
3.4 Evaluación variables fisiológicas.....	67
3.5 Manejo de plántulas.....	68
3.6 Nivel de nutrientes en tejidos de mora.....	69
3.7 Diseño experimental y análisis de datos.....	69
4. RESULTADOS.....	71
4.1 Severidad de la enfermedad.....	71
4.2 Reaislamiento de la cepa 52.....	79
4.3 Prueba biológica.....	80
4.4 Efecto de los nutrientes evaluados.....	82
4.5 Nivel de nutrientes en tejidos de mora.....	85
5. DISCUSIÓN.....	87
6. CONCLUSIONES.....	101
7. RECOMENDACIONES.....	102
8. BIBLIOGRAFÍA.....	103
9. ANEXOS.....	117

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Planta (izquierda), raíces (centro) y hojas (derecha) de mora castilla (Fotos: Bolaños-Benavides, 2016). 15
- Figura 2.** Flor (izquierda), frutos (centro) y semillas extraídas (derecha) de mora castilla (Fotos: Bolaños-Benavides, 2016). 15
- Figura 3.** Síntomas de Mildeo veloso en tallo (izquierda) y frutos (derecha) de mora (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017). 20
- Figura 4.** Síntomas de Mildeo polvoso en hojas (izquierda y centro) (Foto: Autor) y frutos de mora (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017). 21
- Figura 5.** Síntomas de Agalla de la corona en tallo (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017). 22
- Figura 6.** Síntomas de Moho gris en frutos de mora (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017). 23
- Figura 7.** Sintomas Marchitez y pudrición de las raíces (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017). 24
- Figura 8.** Síntomas de roya en hojas (izquierda) y tallos de mora (derecha) (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017). 25
- Figura 9.** Esquema general de la reproducción sexual en la división Ascomycota. T: Tricógina; An: Anteridio; Asc: Ascogonio; Asc I: Ascocarpo inicial; Cr: Báculo (Adaptado de Agrios, 2005). 26
- Figura 10.** Ciclo de la enfermedad de antracnosis causado por *Glomerella cingulata* y *Colletotrichum* spp. en plantas de mora (Adaptado de Agrios, 2005). 27
- Figura 11.** Acérvulos con masas de conidios color naranja-salmón de *Colletotrichum* spp., provenientes de infecciones quiescentes sobre tallos de mora castilla (Fotos: Autor) 28
- Figura 12.** Colonias y estructuras reproductivas de *C. gloeosporioides* (arriba) y *C. acutatum* (abajo) (Fotos: Autor). 30
- Figura 13.** Síntomas de antracnosis en tallos (izquierda y centro) (Fotos: Autor) y frutos (derecha) (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017). 31

Figura 14. Síntomas de deficiencias nutricionales de nitrógeno (a), fósforo (b), potasio (c) y calcio (d) en plantas de mora de castilla (Fuente: Morales - Londoño, 2012).	40
Figura 15. Instalación del experimento en invernadero. Plántulas (izquierda), esterilización del sustrato (centro) y siembra de plántulas en bolsas plásticas (derecha) (Fotos: Autor).	54
Figura 16. Estación meteorológica marca DAVIS “Vintage Pro 2” empleada para el registro de variables climáticas (Fotos: Autor).	55
Figura 17. Preparación de las soluciones nutritivas (Fotos: Autor).	57
Figura 18. Reactivación de la CEPA 52 de <i>C. gloeosporioides</i> (Fotos: Autor)...	59
Figura 19. Proceso de inoculación de tallos de mora castilla con espinas mediante discos de micelio de la cepa 52. Arriba de izquierda a derecha: reactivación y cortes de discos con micelio. Debajo de izquierda a derecha: tallo humedecido con agua destilada, colocación de disco en el tejido y cubrimiento del mismo con cinta parafinada (Fotos: Autor).	59
Figura 20. Conteo de esporas de la cepa 52 en discos de agar en cámara de Neubauer. Arriba: Proceso de disolución de células para observación microscópica. Abajo: células observadas en objetivos 20X y 40X (Fotos: Autor).	60
Figura 21. Diseño de escala de severidad. Izquierda a derecha: daño observado en tallos de mora; figura molde; pesaje de la figura molde; corte simulando las lesiones y digitalización de la imagen (Fotos: Autor).....	61
Figura 22. Medición del área afectada mediante el software ImageJ.....	62
Figura 23. Relación entre el peso del tallo y su área superficial.....	62
Figura 24. Escala diagramática de severidad de cero al 91 por ciento de acuerdo a la relación área foliar y peso de la hoja.	63
Figura 25. Diagrama de severidad de la antracnosis en tallos de mora inoculados con discos de agar (Modificado de López <i>et al.</i> , 2013). 0: Sin lesión aparente o 0% del tejido afectado. 1: 1% del tejido afectado. 3: 5% del tejido afectado. 5: 10% del tejido afectado. 7: 25% del tejido. 9: 50% del tejido afectado. 11: 85% del tejido afectado.	63

Figura 26. Reaislamiento de la cepa 52 a partir de tallos sintomáticos (Fotos: Autor).	65
Figura 27. Características macroscópicas y microscópicas de <i>C. gloeosporioides</i> cepa 52 utilizada en la inoculación de plantas de mora (arriba) y <i>C. acutatum</i> cepa 1164 utilizada como control (abajo) (Fotos: Autor).....	66
Figura 28. Siembra de discos para pruebas de sensibilidad a fungicidas. Arriba medio PDA en mezcla con benomil y abajo medio PDA en mezcla con hidróxido de cobre (Fotos: Autor).	66
Figura 29. Medición de variables fisiológicas sobre las plantas tratadas. a) Altura de la planta. b) Diámetro del tallo. c) Calibrador digital. d) Plantas utilizadas en el experimento (Fotos: Autor).....	67
Figura 30. Cálculo de área foliar mediante el software libre ImageJ.	68
Figura 31. Colecta de material vegetal para análisis de tejido vegetal en laboratorio (Fotos: Autor).	69
Figura 32. Severidad en tallo por la inoculación de <i>C. gloeosporioides</i> en plantas de los tratamientos 23 (izquierda), 22 (centro) y 24 (derecha) a los 122 días (Fotos: Autor).	73
Figura 33. Severidad de <i>Colletotrichum</i> spp., en plantas que recibieron los tratamientos 15 (S T15), 23 (S T23) y 24 (S T24) con respecto a la temperatura (●) y la humedad relativa (■) durante 122 días de experimento.	73
Figura 34. Apariencia de plantas inoculación con <i>C. gloeosporioides</i> en los tratamientos 23 (izquierda), 10 (centro) y 24 (derecha) a los 122 días (Fotos: Autor).	74
Figura 35. Variables observadas durante 122 días de experimento según tratamientos y dosis de N, P ₂ O ₅ , K ₂ O y CaO. Severidad de <i>Colletotrichum</i> spp. (●), UICC (◆), Altura (■) y Diámetro (▲). A: T1 (16-12-24-12), B: T2 (48-12-24-12); C: T3 (16-57-24-12), D: T4 (48-57-24-12), E: T5 (16-12-72-12), F: T6 (48-12-72-12), G: T7 (16-57-72-12), H: T8 (48-57-72-12), I: T9 (16-12-24-28), J: T10 (48-12-24-28).....	75
Figura 36. Variables observadas durante 122 días de experimento según tratamientos y dosis de N, P ₂ O ₅ , K ₂ O y CaO. Severidad de <i>Colletotrichum</i> spp. (●), UICC (◆), Altura (■) y Diámetro (▲). K: T11 (16-57-24-28), L: T12 (48-57-24-28), M: T13 (16-12-72-28), N: T14 (48-12-72-28), Ñ: T15 (16-57-72-28), O: T16 (48-57-	

72-28), P: T17 (9-35-48-20), Q: T18 (55-35-48-20), R: T19 (32-3-48-20), S: T20 (32-66-48-20)..... 76

Figura 37. Variables observadas durante 122 días de experimento según tratamientos y dosis de N, P₂O₅, K₂O y CaO. Severidad de *Colletotrichum* spp. (●), UICC (◆), Altura (■) y Diámetro (▲). T: T21 (32-35-14-20), U: T22 (32-35-82-20), V: Tratamiento 23 (32-35-48-9); W: T24 (32-35-48-31), X: T25 (32-35-48-20)..... 77

Figura 38. Síntomas iniciales en tallo, planta del tratamiento 23 (izquierda) y síntomas en tallo en planta bajo el tratamiento 22 (centro y derecha) (Fotos: Autor). 79

Figura 39. Colonia y características microscópicas de *C. gloeosporioides* aislado del tratamiento 22; y colonia y características microscópicas de *C. gloeosporioides* cepa 52 utilizada en las inoculaciones (Fotos: Autor). 79

Figura 40. Crecimiento de colonias de *Colletotrichum* spp. en en medio PDA+benomil durante cinco días de evaluación. T: *Colletotrichum* spp. aislado en cada tratamiento; C52: Cepa de *C. gloeosporioides* utilizada en las inoculaciones; C1164: Cepa de *C. acutatum* utilizada como testigo. 80

Figura 41. Crecimiento de *Colletotrichum* spp. en en medio PDA+benomil (arriba) e hidróxido de Cu (abajo). De izquierda a derecha: *C. acutatum* cepa 1164, *C. gloeosporioides* cepa 52 utilizada en la inoculación y *C. gloeosporioides* reaislada de tallos de plantas inoculadas (derecha) (Fotos: Autor). 81

Figura 42. Gráfica de contorno para el modelo lineal múltiple del efecto de N, P y Ca sobre el IS de *C. gloeosporioides* cepa 52 en plantas de mora castilla..... 83

Figura 43. Gráfica de contorno para el modelo lineal múltiple del efecto de N y Ca sobre el índice de contenido de clorofilas (ICC) en plantas de mora castilla inoculadas con *C. gloeosporioides* cepa 52..... 83

Figura 44. Gráfica del modelo lineal simple del efecto de N sobre la altura (cm) (izquierda) y el diámetro (mm) (derecha) en plantas de mora castilla inoculadas con *C. gloeosporioides* cepa 52..... 84

Figura 45. Gráfica de contorno para el modelo lineal múltiple del efecto de N y Ca sobre el área foliar (cm²) en plantas de mora castilla inoculadas con *C. gloeosporioides* cepa 52. 84

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Desarrollo del fruto de mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i> , Benth.).	16
Tabla 2. Producción del cultivo de mora en Colombia durante el periodo 2007-2014.	17
Tabla 3. Producción del cultivo de mora por departamento en Colombia en 2014.	17
Tabla 4. Aproximación de los rangos de concentración de los macro y micronutrientes en tejido vegetales.	41
Tabla 5. Cantidad de nutrientes requeridos por una hectárea de mora fresca. ...	42
Tabla 6. Reporte de demanda de macronutrientes en kg/ha por 12 meses según Vayas (2000).	55
Tabla 7. Cálculo de dosis kg/planta durante 12 meses.	55
Tabla 8. Cálculo de dosis g/planta/ha durante 12 meses.	55
Tabla 9. Cálculo de dosis g/planta durante cuatro meses.	56
Tabla 10. Ajuste de dosis al 25%, 50%, 75% y extremos axiales.	56
Tabla 11. Tratamientos en etapa vegetativa.	57
Tabla 12. Índice de severidad (IS), tasa de desarrollo (r) y periodo de incubación de antracnosis en plantas inoculadas con la Cepa 52 de <i>C. gloeosporioides</i> a los 122 ddie.	72
Tabla 13. Correlación entre variables a los 122 ddie.	73
Tabla 14. Índice de severidad (IS), tasa de desarrollo (r), periodo de incubación (PI), índice de contenido de clorofilas (ICC), diámetro, altura y área foliar de plantas inoculadas con la Cepa 52 de <i>C. gloeosporioides</i> a los 122 ddie.	78
Tabla 15. Correlación entre nutrientes absorbidos por las plantas a los 122 DDT.	85

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

Símbolos

Símbolo	Término
<i>N</i>	Nitrógeno
<i>P</i>	Fósforo
<i>K</i>	Potasio
<i>Ca</i>	Calcio
<i>Mg</i>	Magnesio
<i>S</i>	Azufre
<i>B</i>	Boro
<i>Cl</i>	Cloro
<i>Cu</i>	Cobre
<i>Fe</i>	Hierro
<i>Mn</i>	Manganeso
<i>Mo</i>	Molibdeno
<i>Zn</i>	Zinc
<i>P₂O₅</i>	Pentóxido de fósforo
<i>K₂O</i>	Oxido de potasio
<i>CaO</i>	Oxido de calcio
<i>CaCl 2H₂O</i>	Cloruro de calcio dihidratado
<i>NHO₃</i>	Ácido nítrico
<i>KCl</i>	Cloruro de potasio
<i>(NH₄)₂ HPO₄</i>	Difosfato de amonio
<i>MgSO₄ 7H₂O</i>	Sulfato de magnesio heptahidratado
<i>Ca(NO₃)₂ 4H₂O</i>	Nitrato de calcio tetrahidratado
<i>KNO₃</i>	Nitrato de potasio
<i>K₂SO₄</i>	Sulfato de potasio
<i>NaOH</i>	Hidróxido de sodio
<i>PDA</i>	Potato Dextrose Agar
<i>Cu(OH)₂</i>	Hidroxido de cobre

Abreviaturas

Símbolo	Término
<i>ddie</i>	Días después de iniciado el experimento
<i>IS</i>	Índice de severidad
<i>r</i>	Tasa de desarrollo
<i>PI</i>	Periodo de incubación
<i>ICC</i>	Índice de contenido de clorofilas
<i>UICC</i>	Unidades ICC
<i>T</i>	Tratamiento

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de mora (*Rubus glaucus* Benth.) en Colombia ocupó cerca de 8.015 ha en 2014, de las cuales se obtuvo en promedio 61.300 t y un rendimiento de 9,2 t/ha¹, siendo los departamentos de Santander y Cundinamarca los de mayor participación con una producción de 19.238 t y 18.060 t, respectivamente (DANE, 2014). En este contexto, las exportaciones de mora en Colombia han tenido como principal destino a los Estados Unidos (50%), Antillas Holandesas (18%), España (13%), Aruba (6%), Panamá (7%) y Reino Unido (6%) (ERS MIDAS CROPS, 2009); lo cual perfila el cultivo como un producto de importancia en la economía colombiana, y por lo cual el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, dentro de sus políticas agrícolas, ha planeado incrementar las áreas cultivadas así como su producción y rendimiento (MADR, 2006).

Actualmente, el cultivo de mora en Colombia enfrenta limitaciones de tipo fitosanitarias, nutricionales y genética de los materiales, más específicamente en cuanto a la calidad de los frutos (pH, calibre, peso y grados Brix) (Barrero, 2009). Adicionalmente, las demandas de la cadena productiva de la mora incluyen el manejo fitosanitario, fisiología vegetal y nutrición, el manejo sostenible de los recursos naturales como suelos, agua y medio ambiente, y propende por una producción limpia con énfasis en Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), las cuales buscan inocuidad en los productos entregados al consumidor, resguardar la salud de los trabajadores en los cultivos y la protección del medio ambiente entre otras (Monrroy y Reyes, 2013; CORPOICA, 2014; SIEMBRA, 2017).

En el campo fitosanitario, la producción del cultivo de mora se ve amenazada por diversas plagas y enfermedades, entre estas últimas las más limitantes son el mildew veloso causado por *Peronospora sparsa*; la marchitez y pudrición de las raíces causado por el complejo de hongos *Verticillium* sp., *Fusarium* sp. y *Rosellinia* sp.; la agalla de la corona producida por *Agrobacterium tumefaciens*; el mildew polvoso causado por *Oidium* sp.; la pudrición del fruto o moho gris generado por *Botrytis cinerea* y antracnosis causada por *Colletotrichum* spp (Franco, 2001; ICA, 2011).

En lo que se refiere a antracnosis, en Colombia, se han asociado *C. gloeosporioides* y *C. acutatum*, y existen reportes sobre el ataque de *C. boninense* (Saldarriaga y Bernal, 2002; Saldarriaga *et al.*, 2008; 2012; Afanador *et al.*, 2009). El complejo de hongos de *Colletotrichum* es considerado como uno de los más limitantes en la producción de mora, debido a que las pérdidas generadas son de alrededor del 50% y pueden llegar a 100% cuando no se aplican medidas preventivas (Saldarriaga *et al.*, 2008). En cuanto a la sintomatología, las especies de *Colletotrichum* presentan preferencias por los tejidos de la planta, la especie *C. gloeosporioides* se asocia en un mayor grado a lesiones en tallo, presenta una tasa de crecimiento mayor y una alta patogenicidad, mientras que *C. acutatum* se asocia a lesiones en fruto y botones florales (Afanador *et al.*, 2010). De manera general, los síntomas de antracnosis en mora se manifiestan con la presencia de manchas

oscuras de color grisáceo y bordes oscuros en ramas y tallos, donde con el tiempo, aparecen los acérvulos y masas de conidios de color salmón (Forero de La-Rotta *et al.*, 2002; Tamayo, 2003).

El control de la enfermedad se ha fundamentado principalmente en la aplicación de productos químicos. Sin embargo, el uso y el abuso de moléculas químicas ocasiona el rechazo de exportaciones debido a los altos contenidos de trazas (Gaviria *et al.*, 2013) y riesgos de carcinogenicidad (Naranjo, 2011, citado por Gaviria-Hernández *et al.*, 2013). Partiendo de las anteriores consideraciones, se han estudiado métodos de control para el manejo de antracnosis basados en la aplicación de biocontroladores, extractos vegetales (Gaviria-Hernández *et al.*, 2013) y materiales resistentes promisorios (Afanador *et al.*, 2010; López *et al.*, 2013).

En este sentido, uno de los principios del manejo integrado de enfermedades es la protección, este concepto además de considerar la presencia de barreras entre el hospedante y el patógeno, involucra la manipulación de factores medio ambientales y prácticas de manejo de los cultivos como la fertilización apropiada (Castaño-Zapata, 1994).

A pesar de los avances desarrollados en programas de fertilización química y biológica (Díaz *et al.*, 2010; Navas *et al.*, 2010), la evaluación de deficiencias nutricionales en el cultivo de mora (Castaño *et al.*, 2008) y el efecto de diferentes dosis de nitrógeno, fósforo, potasio y calcio, sobre el crecimiento de plántulas de mora (Bolaños-Benavides *et al.*, 2014; Cardona *et al.*, 2016); en Colombia no existen estudios de nutrición que evalúen su influencia en el desarrollo de la antracnosis y su efecto sobre la fisiología de las plantas. Para llevar a cabo este tipo de estudios se debe comprender la disponibilidad de nutrientes en los tejidos, así como su efecto en las infecciones causadas; inicialmente, estos conceptos deben ser estudiados bajo condiciones controladas para posteriormente ser validadas en condiciones de campo (Walters y Bingham, 2007).

La fertilización además de contribuir a la sostenibilidad de la producción, dependiendo del patosistema y tipo de parasitismo influye en la disminución del ataque de enfermedades (Méndez *et al.*, 2007; Viteri *et al.*, 2012; Huber *et al.*, 2012) al causar desequilibrios nutricionales y por ende la ocurrencia de factores de resistencia y/o predisposición (Chaboussou, 1967).

Partiendo de lo anterior, se reporta que la influencia del nitrógeno en la susceptibilidad de enfermedades está relacionada con cambios metabólicos en las plantas, efectos sobre la virulencia de los patógenos y factores abióticos y/o bióticos, especialmente aquellos generados en la rizosfera (Huber y Thompson, 2007).

Por su parte, el fósforo hace parte de moléculas orgánicas de la célula tales como el ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN), adenosin trifosfato

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

(ATP) y fosfolípidos, y está involucrado en muchos procesos metabólicos de las plantas y los patógenos (Dordas, 2009).

Para el caso del potasio, la aplicación de este elemento mejora el vigor de las plantas influyendo positivamente frente al desarrollo de infecciones mediante el incremento de funciones metabólicas que afectan la compatibilidad entre el hospedero, el patógeno y el ambiente; así como el aumento de la producción de compuestos inhibitorios como fenoles, fitoalexinas y auxinas que actúan alrededor de los sitios de infección (Mengel, 2007; Pyo *et al.*, 2010).

Finalmente, diversos hongos invaden los tejidos de las plantas por la producción de enzimas pectolíticas tales como poligalacturonasa que disuelven la lamela media, a pesar de esto, la actividad de esta enzima puede ser inhibida cuando aumenta la concentración de calcio en los tejidos, a la vez que contribuye en la formación de barreras físicas protectoras a la penetración de dichos organismos (Fallahi *et al.*, 1997; Spann y Schumann, 2010).

Acorde con lo mencionado, actualmente se evidencia la necesidad de generar opciones de manejo integrado de antracnosis que contribuyan a la solución de la problemática fitosanitaria del cultivo de mora, todo esto mediante la evaluación de nuevas alternativas que permitan equilibrar la implementación de todas las herramientas disponibles para los productores de este frutal. Por lo cual, con la presente investigación se busca contribuir al manejo de la antracnosis, mediante la evaluación del efecto de cuatro nutrientes aplicados a plántulas de mora castilla con espinas bajo condiciones de invernadero.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis ocasionada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora castilla con espinas (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero.

Objetivos específicos

1. Evaluar la severidad, tasa de desarrollo y periodo de incubación de la enfermedad conocida como antracnosis en el cultivo de mora bajo diferentes dosis de nitrógeno, fósforo, potasio y calcio.
2. Identificar la relación existente entre la severidad de la enfermedad, altura de la planta, diámetro del tallo e índice en el contenido de clorofilas de la

mora castilla con espinas.

3. Evaluar el efecto de las dosis de nutrientes aplicados sobre la severidad de la enfermedad y variables de crecimiento y desarrollo de plántulas de mora castilla con espinas.

2. Marco teórico

2.1 *Rubus glaucus*, Benth.

La planta *Rubus glaucus* Benth. pertenece a la familia Rosácea, es originaria del trópico americano, más específicamente de los países de Ecuador y México; fue descrita por el alemán Karl Theodor Hartweg y el primer reporte del género *Rubus* fue realizado por el botánico inglés George Bentham entre los años 1839 a 1857 (Bentham, 1839-1857 citados por Morales y Villegas, 2012).

Morfológicamente, la planta se caracteriza por ser de tipo arbustiva y perenne con porte erecto a semierecto; presenta en la base una corona que da origen a gran cantidad de tallos, así como raíces superficiales que permiten el anclaje de la planta a profundidades entre 30-50 cm (Castro y Cerdas, 2005) (Figura 1).

Los tallos son cilíndricos, lisos, con o sin espinas curvadas de base ancha de 2-3 mm y estípulas lineares de 5-12 x 0,3-0,8 mm (Morales y Villegas, 2012). Los tallos principales dan origen a tallos secundarios y estos a su vez, generan tallos terciarios en los cuales se concentra la mayor parte de las inflorescencias (Castro y Cerdas, 2005) (Figura 1).

Las hojas son alternas, ovadas lanceoladas con márgenes aserradas y están compuestas por tres folíolos, los tejidos son de color verde en el haz y blanquecino en su envés, cubiertas de abundantes tricomas que la dan una apariencia blanquecina y atreciopelada, los cuales a su vez poseen pequeñas espinas a lo largo de la vena central; no obstante, estas características varían dependiendo el material (Franco y Giraldo, 1998; Castro y Cerdas, 2005; Morales y Villegas, 2012) (Figura 1).

Las flores son hermafroditas y actinomorfas, presentan numerosos estambres y pistilos, se caracterizan por tener cinco pétalos de color blanco a violeta o rosado, de 2,0 a 2,5 cm de diámetro, cáliz con cinco sépalos de color verde; y por ser de polinización cruzada entomófila, requiere insectos polinizadores como *Trigona* spp y *Apis mellifera*, L (Castro y Cerdas, 2005; Morales y Villegas, 2012) (Figura 2).

El fruto tiene forma circular, cónica o elíptica, con tamaño variable y color rojo; adicionalmente, está estructurado por la unión de 150 a 170 drupas, las cuales contienen una semilla cuneiforme con superficie reticulada de 5 mm de largo y 2 mm de ancho; los frutos cuentan con diámetro polar y ecuatorial entre 2,3 y 2,7 cm, y 1,9 a 2,2 cm, respectivamente, 6,1 a 7,8 g de peso por unidad y fluctuaciones de grados Brix entre 8,5 a 9,29 (Castro y Cerdas, 2005; Morales y Villegas, 2012) (Figura 2).



Figura 1. Planta (izquierda), raíces (centro) y hojas (derecha) de mora castilla (Fotos: Bolaños-Benavides, 2016).



Figura 2. Flor (izquierda), frutos (centro) y semillas extraídas (derecha) de mora castilla (Fotos: Bolaños-Benavides, 2016).

En las plantas de mora se distinguen tres etapas durante su ciclo, una reproductiva que parte desde la selección del material de propagación hasta la obtención de nuevas plántulas, una vegetativa que inicia en el momento del trasplante definitivo en campo hasta el inicio de la floración y una productiva que va desde la floración hasta la madurez fisiológica del fruto (Castro y Cerdas, 2005).

Según Franco y Giraldo (1998), el desarrollo del fruto se divide en cinco periodos, tiene una duración total de 82 días (Tabla 1) y está condicionada por las características climáticas de la zona donde es cultivado, en general, cuando la propagación se realiza mediante estacas, se presentan cosechas entre los siete y nueve meses, alcanzando el primer pico de cosecha a los 15 meses.

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Tabla 1. Desarrollo del fruto de mora de castilla (*Rubus glaucus*, Benth.).

Etapas	Duración en días
De yema a botón floral	6
De inicio de floración a apertura floral	23
De apertura floral a polinización	5
De polinización a formación del fruto	8
De formación del fruto a cosecha	40
Total	82

Fuente: Franco y Giraldo, 1998.

El cultivo se adapta a altitudes de 1.200 hasta 3.500 msnm, con un rango óptimo de 1.800 a 2.400 msnm, a mayor altitud las plantas presentan problemas sobre la calidad de los frutos y el rendimiento. Desde el punto de vista climático, las plantas tienen un desarrollo óptimo a temperaturas entre los 11 a 18 °C, humedad entre 70% y 80%, precipitaciones de 1.500 a 2.500 mm/año, y 1.200 a 1.600 horas de brillo solar; mientras que edáficamente el cultivo requiere de suelos francos de buen drenaje, alto contenido de materia orgánica, profundidades efectivas de 50 cm y pH entre 5,2 y 6,7, con un óptimo de 5,7 (Franco y Giraldo, 1998; Morales y Villegas, 2012).

En Colombia se conocen cerca de 44 especies de *Rubus*, de estas solo nueve se consideran comestibles mientras que el resto se catalogan como malezas (Morales y Villegas, 2012). Dada la mezcla de materiales de mora, CORPOICA en 2009 llevó a cabo la caracterización morfológica, agronómica, molecular, nutricional y del potencial nutraceutico, de materiales provenientes del banco de germoplasma manejado por esta institución, así como de materiales cultivados por productores de diferentes regiones del país (Barrero, 2009).

En dicho trabajo, se evaluaron 32 accesiones de mora de castilla (*R. glaucus*), una de morón (*R. macrocarpus*) y otra de mora dulce (*Rubus* spp.), adicionalmente, se identificaron materiales promisorios para el desarrollo de esquemas de producción mediante el uso de biocontroladores y biofertilizantes, en busca del mejoramiento de su establecimiento. Como resultado del estudio, se seleccionaron seis genotipos promisorios (Monteloro, Riosucio, Cerezos, Sin espinas, Monterrico Yema e ILS 1.863) los cuales cuentan con ventajas nutricionales y/o agronómicas (Espinosa et al., 2009).

Por su parte, Marulanda et al. (2007), realizando muestreos en 27 localidades de los departamentos de Caldas, Quindío y Risaralda; colectaron 51 cultivares de *Rubus*, las cuales correspondieron a las especies *R. glaucus* (27), *R. adenotrichos* (1), *R. bogotensis* (1), *R. robustus* (4), *R. rosifolius* (3) y *R. urticifolius* (15). Mediante análisis molecular con marcadores AFLP y SSR, los autores concluyeron que la variabilidad genética observada en *R. glaucus* se debe a la reproducción sexual, adicionalmente, demostraron la aplicabilidad de dos microsatélites de *R. alceifolius* para la caracterización de especies colombianas de mora.

El área cultivada con mora a nivel mundial pasó de 13.958 ha en 1995 a 20.036 ha en 2005, este cambio representó un incremento de 44% y mostró mayor crecimiento en países como México, Estados Unidos, China y Costa Rica (Strik et al., 2007). En Sur América, en este mismo periodo se cultivaron 1.597 ha con una producción de 7.032,6 t, dicha producción estuvo encabezada por Ecuador con 805 ha, seguido de Chile y Brasil con 450 y 250 ha, respectivamente (Strik et al., 2007).

En Colombia desde 2010 a 2014, se presentó un incremento tanto de las áreas sembradas y cosechadas, así como la producción total del cultivo de mora (Tabla 2). En cuanto a áreas, en 2011 y 2013 se presentaron descensos de las hectáreas destinadas al cultivo, seguido de incremento para los siguientes años. En lo que compete a la producción, se observó la misma tendencia presentada en las áreas cultivadas (años 2011 y 2013) y de las cuales para 2014, se obtuvo la mayor producción (61.380 t).

Tabla 2. Producción del cultivo de mora en Colombia durante el periodo 2007-2014.

Año	Área cultivada (ha)	Área cosechada (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t/ha ⁻¹)
2010	7.235	6.178	70.064	11.3
2011	6.744	5.488	68.461	12.5
2012	7.007	4.922	73.856	15.0
2013	4.939	4.613	58.923	12.8
2014	8.015	6.637	61.380	9.2

Fuente: DANE, ENA 2010- 2014.

A nivel nacional, los departamentos que más contribuyeron a la producción de mora en 2014 fueron Santander, Cundinamarca y Nariño con 19.238, 18.060 y 6.958 t, respectivamente (Tabla 3). De acuerdo con lo anterior, la mayor área sembrada y cosechada fue reportada en el departamento de Santander, mientras que en cuanto a la producción por hectárea, los mayores rendimientos fueron reportados en el departamento de Risaralda, los cuales se obtuvieron de 227 ha cosechadas (Tabla 3).

Tabla 3. Producción del cultivo de mora por departamento en Colombia en 2014.

Departamento	Área sembrada (ha)	Área cosechada (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t/ha ⁻¹)
Santander	2.612	2.353	19.238	8,2
Cundinamarca	1.858	1.764	18.060	10,2
Nariño	718	653	6.958	10,7
Boyacá	611	473	4.575	9,7
Risaralda	245	227	3.351	14,8
Antioquia	361	316	3.301	10,4
Caldas	184	182	2.485	13,7
Huila	596	301	1.720	5,7
Norte de Santander	97	82	1.148	14
Cauca	526	244	396	1,6
Valle del Cauca	51	19	75	4
Tolima	130	19	73	3,9

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Departamento	Área sembrada (ha)	Área cosechada (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t/ha ⁻¹)
Magdalena	5	5	2	0,4
Quindío	20	-	-	-
Total	8.015	6.637	61.380	9,2

Fuente: MADR, 2015.

(-) Dato no existente.

En cuanto a exportaciones, el comercio exterior de la mora para Colombia se encuentra en las partidas arancelarias correspondientes a frambuesas, zarzamoras y morasframbuesa; las cuales son poco cultivadas en el país y por lo cual se centran exclusivamente en este frutal, pasó de ser exportado en un 95% a Estados Unidos, a su distribución entre Estados Unidos (50%), Antillas Holandesas (18%), España (13%), Aruba (6%), Panamá (7%) y Reino Unido (6%) (ERS MIDAS CROPS, 2009).

Dada la importancia del cultivo para la economía colombiana, el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural tiene como meta a 2020 incrementar al área cultivada a 18.268 ha, al igual que el incremento de la producción a 193.786 t y el rendimiento a 10,46 t/ha; así como su priorización en el Plan Frutícola Nacional 2006-2026 (MADR, 2006).

2.2 Enfermedades del cultivo de mora (*R. glaucus*, Benth.)

La producción del cultivo de mora en Colombia se ve amenazada por diversas plagas y enfermedades, entre estas últimas las más limitantes son el mildew veloso causado por *Peronospora sparsa*; el mildew polvoso causado por *Oidium* sp.; la agalla de la corona producida por *Agrobacterium tumefaciens*; la pudrición del fruto o moho gris generado por *Botrytis cinérea*; la marchitez y pudrición de las raíces causado por el complejo de hongos *Verticillium* sp., *Fusarium* sp. y *Rosellinia* sp., y antracnosis causada por *Colletotrichum* spp. (Franco, 2000; ICA, 2011).

2.2.1 Mildew veloso (*Peronospora sparsa*)

Este hongo es un parásito obligado perteneciente al reino Chromista, división Oomycota, clase Peronosporae, sub clase Peronosporidae, orden Peronosporales, familia Peronosporaceae (Index Fungorum, 2017) y fue reportado inicialmente en Inglaterra por Berkeley en 1862 (Berkeley, 1862 citado por Álvarez *et al.*, 2013).

Se caracteriza por desarrollar micelio intercelular en el hospedante, posee esporangios coloreados, lisos, no papilados de formas subelípticas de 14-18 µm x 17-22 µm, producidos en los ápices de los esporangióforos (Horst y Cloyd, 2007 citado por Álvarez *et al.*, 2013), estas estructuras contienen zoosporas que dan inicio de la enfermedad, mientras que en la epidermis de los tejidos se desarrollan oosporas ovoides o redondeadas, con pared gruesa y hialina (Forero de la Rotta, 2001).

La enfermedad es frecuente durante el tiempo húmedo, con temperaturas que oscilan entre 18 a 22 °C y puede generar reducciones importantes en los rendimientos si no se aplican medidas preventivas oportunamente.

En los tallos, ramas y pecíolos se aprecian coloraciones moradas sin bordes definidos los cuales se tornan más oscuros; posteriormente se forman ampollas pequeñas de color blanquecino que contienen las estructuras reproductivas denominadas oosporas y que le permiten al microorganismo sobrevivir e iniciar nuevas infecciones, que con su desarrollo se unen hasta causar el cuarteamiento de la corteza, lo cual disminuye la producción del tallo o la rama cuando aparecen junto con los primeros síntomas, causando finalmente la muerte en etapas avanzadas. En las hojas localizadas en el tercio inferior de las plantas se observan manchas de borde clorótico definido y la formación de estructuras reproductivas en el envés de la lámina. Cuando la enfermedad alcanza los frutos, inicialmente se observa pérdida de brillo, acompañada de una maduración desuniforme con agrietamientos, deformaciones que son consecuencia de la falta de llanado de las drupas, enrojecimiento prematuro y momificación (Figura 3) (Forero de la Rotta, 2001).

Para ejercer un control efectivo sobre la enfermedad se requiere de un monitoreo permanentemente sobre los cultivos en épocas húmedas y así detectar los

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

primeros síntomas; adicionalmente mediante podas permanentes de las ramas que han fructificado y/o improproductivas; con la eliminación de tallos y ramas sintomáticos se reduce la presencia de inoculo y se genera una buena aireación en las plantas. El manejo con fungicidas se hace mediante metalaxil y mancozeb cumpliendo con las dosificaciones y períodos de carencia en busca de la inocuidad de los frutos (ICA, 2011).



Figura 3. Síntomas de Mildew veloso en tallo (izquierda) y frutos (derecha) de mora (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017).

2.2.2 Mildew polvoso (*Oidium* sp.)

El hongo es un parásito obligado perteneciente al reino Fungi, división Ascomycota, subdivisión Pezizomycotina, clase Leotiomycetes, sub clase Leotiomycetidae, orden Erysiphales, familia Erysiphaceae (Index Fungorum, 2017). Este hongo produce abundante micelio en la cutícula de los tejidos, forma haustorios en las células del hospedero y conidióforos que contienen cadenas de esporas unicelulares ovaladas (Forero de la Rotta, 2001).

Esta enfermedad se desarrolla con baja humedad e incrementa su agresividad en zonas de alta nubosidad y temperatura media, debido al transporte de las estructuras reproductivas por las microgotas y el aerosol que se genera (ICA, 2011). En la noche las conidias inician la germinación e infección a temperaturas promedio de 15°C y humedades relativas de 90 a 99%, al aumentar la temperatura en el día y disminuir la humedad relativa, se presenta la maduración de las conidias y después de varios ciclos reproductivos, representa importancia económica sobre el cultivo (Forero de la Rotta, 2001).

Los síntomas se presentan en hojas, peciolo, ramas jóvenes y frutos. En la superficie de la lámina foliar se observan parches cloróticos, deformaciones y enrollamientos, semejantes a un agente de origen viral. Por otro lado, en el envés de la hoja se aprecia un polvillo blancuzco, el cual retrasa el desarrollo de brotes nuevos, disminuye la actividad fotosintética y el área foliar; mientras que los frutos

son deformados por deficiencias en el llenado y en la maduración de los mismos (Forero de la Rotta, 2001) (Figura 4).



Figura 4. Síntomas de Mildew polvoso en hojas (izquierda y centro) (Foto: Autor) y frutos de mora (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017).

El manejo de esta enfermedad es de tipo preventivo, el cual se basa en la correcta fertilización del cultivo de acuerdo a los análisis de suelos, podas de saneamiento para evitar la diseminación del patógeno a partir de tejidos afectados y en última medida, la aplicación de productos químicos a base de azufre (ICA, 2011).

2.2.3 Agalla de la corona (*Agrobacterium tumefaciens*)

Esta bacteria fue identificada en 1907 por Smith y Townsend y es considerada como una de las enfermedades que afectan a diversas especies de cultivos en todo el mundo. Es un bacilo flagelado habitante del suelo, posee la capacidad de ocasionar la transformación genética y la transferencia del plásmido Ti a las células vegetales (trasmisión trans-reino) (Mansfield *et al.*, 2012).

La bacteria penetra a la planta por medio de heridas y los síntomas consisten en tumores o agallas irregulares en el cuello de la planta, los cuales también pueden desarrollarse en cualquier tejido aéreo. Los tumores están constituidos por la producción de células desorganizadas de apariencia esponjosa que se tornan duras y pueden ser colonizadas por microorganismos secundarios, las plantas afectadas presentan enanismo, clorosis, marchitamiento, reducción de la calidad de los frutos y la muerte de la planta cuando el ataque es severo (Forero de la Rotta, 2001) (Figura 5).

El manejo de la enfermedad se da a través de medidas preventivas como la obtención de material de propagación a partir de plantas sanas, evitar la movilización de suelo desde zonas contaminadas, la desinfestación permanente de las herramientas mediante hipoclorito de sodio, yodo agrícola o productos a base de amonios cuaternarios para labores de podas, monitoreo permanente, la

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

erradicación de plantas enfermas buscando dejar el sitio libre y aplicando un desinfectante al mismo (ICA, 2011).



Figura 5. Síntomas de Agalla de la corona en tallo (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017).

2.2.4 Pudrición del fruto o moho gris (*Botrytis cinerea*)

B. cinerea pertenece al reino Fungi, división Ascomycota, subdivisión Pezizomycotina, clase Leotiomycetes, sub clase Leotiomycetidae, orden Helotiales, familia Sclerotiniaceae (Index Fungorum, 2017). Es un parásito facultativo y sobrevive como saprófito sobre residuos orgánicos, presenta hifas hialinas y septadas, y la formación de conidióforos ramificados oscuros, gruesos, con ramificaciones que sostienen conidias ovoides o elipsoidales (Forero de la Rotta, 2001).

Los síntomas se pueden presentar en hojas y flores, sin embargo, los órganos más vulnerables son los frutos, inicialmente estos se tornan acuosos y posteriormente, son cubiertos por una masa de hifas y conidias de color marrón grisáceo, la cual puede cubrir todo el tejido causando la momificación y adherencia del fruto al pedúnculo y racimo. La enfermedad es favorecida por humedades relativas de 85%, precipitaciones constantes y temperaturas de 10°C antes y/o durante el periodo de cosecha (Morales y Villegas, 2012) (Figura 6).

Debido a la resistencia del patógeno a diversos fungicidas y el riesgo sobre la inocuidad de los frutos por su producción constante, el manejo de la enfermedad se basa en la implementación de podas de formación y saneamiento, desyerbe de las calles y plateos permanentes, la eliminación y destrucción de las flores, frutos y residuos con síntomas iniciales de la enfermedad y la fertilización basada en análisis de suelo (ICA, 2011).



Figura 6. Síntomas de Moho gris en frutos de mora (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017).

2.2.5 Marchitez y pudrición de las raíces (*Verticillium* sp., *Fusarium* sp. y *Rosellinia* sp.)

El marchitamiento de plantas es atribuido al ataque de hongos fitopatógenos habitantes del suelo, entre los cuales se cuentan especies de los géneros *Verticillium*, *Fusarium* y *Rosellinia*.

Verticillium pertenece al Reino Fungi, división Ascomycota, subdivisión Pezizomycotina, clase Sordariomycetes, sub clase Hypocreomycetidae y familia Plectosphaerellaceae (Index Fungorum, 2017). Este hongo presenta micelio hialino septado y multinucleado, conidias ovoides a elipsoidales unicelulares, dispuestas en conidióforos, producidos en fiálidas (hifas especializadas (Berlanger y Powelson, 2000).

Fusarium se clasifica en el Reino Fungi, división Ascomycota, subdivisión Pezizomycotina, clase Sordariomycetes, sub clase Hypocreomycetidae, orden Hypocreales y familia Nectriaceae (Index Fungorum, 2017). El hongo se caracteriza por la producción de tres tipos de esporas asexuales: microconidias, macroconidias y clamidosporas. Las microconidias son rectas o clavadas, hialinas, unicelulares, pequeñas y de forma oval a elipsoidal, que miden 5 a 12 por 2.2 a 3.5 μm y son producidas en fiálidos laterales unicelulares y cortos; las macroconidias también son hialinas, generalmente con 3 a 5 septas, semejando una luna en cuarto creciente por su forma curvada en el centro y fina en los extremos, que miden 27 a 60 por 3 a 5 μm ; y las clamidosporas que se producen solas o en pares, intercaladamante o en ramificaciones laterales cortas, que son estructuras de sobrevivencia del patógeno y tienen forma redonda y paredes delgadas (Castaño-Zapata y del Rio, 1994; Barnett y Hunter, 1998).

Rosellinia se clasifica en el Reino Fungi, división Ascomycota, subdivisión Pezizomycotina, clase Sordariomycetes, sub clase Xylariomycetidae, orden Xylariales y familia Xylariaceae (Index Fungorum, 2017). El hongo presenta micelio septado de color blanco algodonoso con hinchamientos piriformes antes de las

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

septas, el micelio forma cordones miceliales blancos, que posteriormente se tornan de color gris a negro, haciendo más evidente los hinchamientos (García-Velasco *et al.*, 2012).

Inicialmente los síntomas de la enfermedad se manifiestan por marchitamiento de las hojas de tallos y ramas jóvenes, seguido del doblamiento de las partes terminales de los tejidos afectados que posteriormente se tornan de color azulado. Días después, se aprecia una coloración amarilla sobre las hojas localizadas sobre los tejidos afectados seguido del necrosamiento y la muerte de estos. Al realizar cortes longitudinales sobre los tejidos se puede observar que el sistema vascular presenta una ligera coloración oscura, que contrasta con los tejidos sanos (Forero de la Rotta, 2001).



Figura 7. Síntomas Marchitez y pudrición de las raíces (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017).

2.2.6 Roya (*Gerwasia lagerheimii* [Magnus] Buriticá).

La enfermedad de causada por *Gerwasia lagerheimii* perteneciente al reino Fungi, división Basidiomycota, subdivisión Pucciniomycotina, clase Pucciniomycetes, orden Puccinales y familia Phragmidiaceae (Index Fungorum, 2017).

Las royas son parásitos obligados, altamente especializados y muy difíciles de cultivar de modo artificial en el laboratorio. El ciclo de vida de las royas es uno de los más complejos de todo el reino Fungi, debido a que producen hasta cinco tipos de estados o estructuras fructíferas diferentes, separados en el tiempo y el espacio, que dificultan su reconocimiento y control. En este sentido, se conocen cinco estados clasificados como 0: Espermacio originado por espermogonios, I: Aeciospora originada por aecidios, II: Uredospora originada por uredinios, III: Teliospora originado por telios y IV: Basidiospora originada por basidios (Carris *et al.*, 2015).

Estudios sobre el hongo realizados por Tobón (1991), permitieron por primera vez identificar el estado de espermogonio con el cual se definieron por completo los estados de la especie. Taxonómicamente el microorganismo se caracteriza por presentar espermogonios predominantemente epífitos, subcuticulares y agrupados; mientras que se han hallado soros del hongo en frutos y tallos, de su hospedero (Salazar y Pardo, 2007).

El hongo deja pústulas de color anaranjado sobre las hojas, al observar el envés de las mismas, se pueden apreciar tumores pequeños. En los tallos el ataque produce agrietamientos; afectando también flores y frutos, en los cuales se aprecia un polvo de color naranja (Figura 8). El manejo de la enfermedad se fundamenta en la limpieza de arvenses, especialmente el área de la gotera, así como la realización de podas sobre ramas y hojas afectadas, las cuales deben ser recogidas y enterradas, acompañado de una fertilización adecuada y en casos extremos, la aplicación de fungicidas a base de cobre (ICA, 2011).



Figura 8. Síntomas de roya en hojas (izquierda) y tallos de mora (derecha) (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

2.3 Antracnosis (*Colletotrichum* spp.)

2.3.1 Taxonomía y ciclo biológico

El género *Colletotrichum* y su telemorfo *Glomerella*, es considerado como uno de los patógenos de mayor importancia alrededor del mundo, este causa daños económicos significativos en cultivos de zonas tropicales y subtropicales, tales como cereales, gramíneas, leguminosas, ornamentales, hortalizas y principalmente sobre frutales (Prusky *et al.*, 2000). Se clasifica dentro del Reino Fungi, división Ascomycota, subdivisión Pezizomycotina, clase Sordariomycetes, subclase Sordariomycetidae y familia Glomerellaceae (Index Fungorum, 2017).

Colletotrichum causa necrosis o úlceras sobre tallos, flores o frutos; así como la desintegración de las células de la corteza del floema, se puede manifestar por la aparición de manchas oscuras de tamaño variable y formas redondeadas u ovaladas, ligeramente sumidas y/o formando hendiduras, de bordes salientes (Agrios, 2005). En los centros de las lesiones, comúnmente se observa la agrupación de cuerpos fructíferos, los cuales son notorios en las épocas de alta humedad y constituyen la principal fuente de inóculo del hongo.

Antracnosis ocasionada por *Colletotrichum* spp., al igual que los hongos pertenecientes a la división Ascomycota consta de un ciclo paralelo de infección, es decir, presenta un estado sexual y otro asexual (Agrios, 2005).

La fase sexual corresponde al género *Glomerella*, la fase inicia con la fertilización del ascogonio por el anteridio, seguido a esto se da la formación de hifas ascogénicas con un núcleo femenino y masculino, los cuales se fusionan por meiosis, a partir de dicha fusión, se generan ascas las cuales se alargan por mitosis y finalmente producen ocho ascosporas dentro de un peritecio (Figura 9).

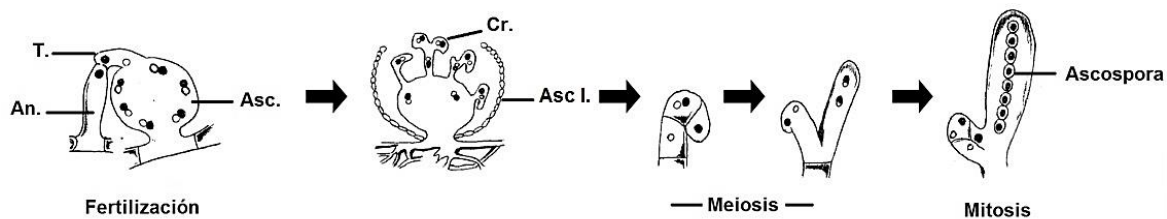


Figura 9. Esquema general de la reproducción sexual en la división Ascomycota. T: Tricógina; An: Anteridio; Asc: Ascogonio; Asc I: Ascocarpo inicial; Cr: Báculo (Adaptado de Agrios, 2005).

Las ascosporas son liberadas y se depositan en la superficie del hospedero, una vez allí germinan en presencia de agua, seguido a esto, el hongo desarrolla apresorios de pared gruesa y melanizada que se adhiere a la superficie de la cutícula hasta penetrarla mediante hifas en presencia de cutinasas y celulasas; sin embargo, la penetración también puede ser dada por el ingreso en aberturas

naturales y/o heridas. Una vez adentro, las hifas crecen aceleradamente de manera intra e intercelularmente colonizando de forma hemibiotrófica y cambia a una fase necrotrofica la cual es responsable de antracnosis (Saldarriaga, 2006). Cuando se presenta el hundimiento del área afectada, se inicia la formación de acérvulos a medida que las lesiones crecen, los cuales corresponden a la fase asexual donde se clasifica el género *Colletotrichum*, finalmente el ciclo se repite después que el hongo inverna como micelio, conidios o peritecios sobre los tejidos de las plantas o residuos vegetales (Agrios, 2005) (Figura 10).

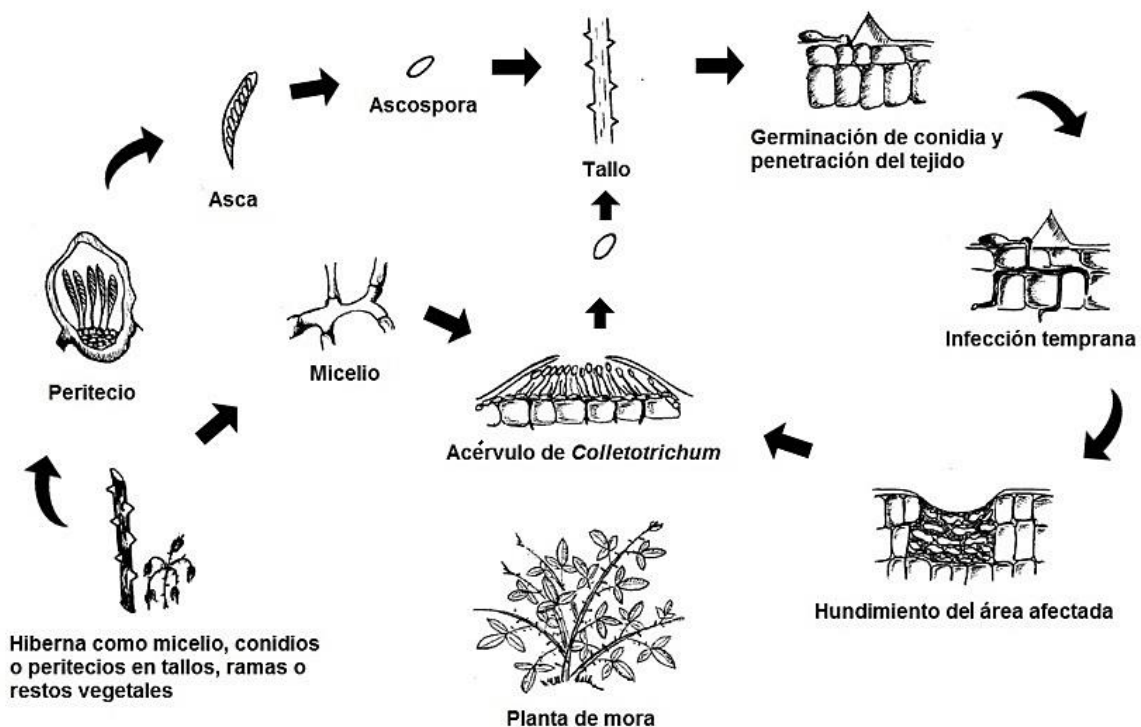


Figura 10. Ciclo de la enfermedad de antracnosis causado por *Glomerella cingulata* y *Colletotrichum* spp. en plantas de mora (Adaptado de Agrios, 2005).

Adicionalmente, las especies de *Colletotrichum* desarrollan infecciones quiescentes (no activas) (Bailey *et al.*; 1992; Waller, 1992; Pérez, 1993 y García, 2001 citados por Saldarriaga, 2006); que son activadas por cambios bruscos de temperatura, daños mecánicos y/o senescencia de los tejidos (Aránzazu, 1999; Forero de La-Rotta *et al.*, 2002) (Figura 11).

En 2015, en los departamentos de Cundinamarca, Santander y Antioquia, se realizaron colectas de flores y frutos asintomáticos de cultivos de mora en etapa productiva con el fin de detectar infecciones quiescentes (IQ), mediante la formación posterior de acérvulos (Abella, 2015; CORPOICA, 2015). Adicionalmente, en estas investigaciones se establecieron protocolos para la inducción de la senescencia del tejido en tallos con paraquat al 5% y alcohol al 70% para flores y frutos. Como resultado de los estudios, los investigadores obtuvieron

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

128 aislamientos a partir de infecciones IQ en hojas, tallos, flores y frutos de mora, siendo el departamento de Santander, el que presentó mayor incidencia del complejo *Colletotrichum* spp.



Figura 11. Acérvulos con masas de conidios color naranja-salmón de *Colletotrichum* spp., provenientes de infecciones quiescentes sobre tallos de mora castilla (Fotos: Autor)

2.4 *Colletotrichum* spp. en el cultivo de mora (*R. glaucus*, Benth.)

En Colombia se han desarrollado estudios para identificar las especies de *Colletotrichum* asociadas al cultivo de mora en los cuales se han identificado a *C. gloeosporioides* y *C. acutatum*, así como reportes sobre el ataque de *C. boninense* (Saldarriaga y Bernal, 2002; Marulanda *et al.*, 2007; Saldarriaga *et al.*, 2008; 2012; Afanador *et al.*, 2009, 2014).

En este contexto, a partir de material vegetal de mora colectado en 38 municipios de los departamentos de Antioquia, Quindío, Santander, Valle del Cauca, Risaralda, Huila, Caldas y Cundinamarca, se caracterizaron morfológica y molecularmente dichas especies (Afanador *et al.*, 2010, 2014).

En esta investigación, se concluyó que los aislamientos provenientes de cultivos de Caldas y Risaralda son más patogénicos, mientras que aquellos obtenidos en los departamentos de Antioquia, Cundinamarca, Huila, Quindío, Santander y Valle del Cauca presentan niveles de patogenicidad intermedia, baja o muy baja. Adicionalmente, los autores concluyeron que los aislamientos identificados como *C. gloeosporioides* presentan niveles de patogenicidad alta, mientras que la especie *C. acutatum* tienden a presentar niveles bajo a muy bajo.

Adicionalmente, mediante un análisis de acuerdo a la distribución geográfica de los aislamientos, se evidenció una diversidad genética intermedia en aquellos que provenían de Cundinamarca, mientras que entre especies se observó una mayor diversidad para *C. acutatum* y moderada a baja para *C. gloeosporioides* (Afanador *et al.*, 2010, 2014).

Por otro lado, Saldarriaga *et al.* (2012), mediante un estudio de caracterización morfológica y molecular sobre 108 aislamientos de *Colletotrichum* provenientes de 98 cultivos ubicados en los departamentos Antioquia, Caldas, Risaralda, Tolima, Huila, Santander y Cundinamarca; reportaron 46 aislamientos correspondieron a *C. gloeosporioides*, 58 a *C. acutatum* mientras que los cuatro restantes no fueron identificados.

Morfológicamente, las colonias de *C. gloeosporioides* presentan una coloración gris a gris oliva con tonalidades claras a oscuras, mientras que *C. acutatum* presenta tonalidades blancas a gris claro, la cual a su vez desarrolla esporulación central o en toda la colonia, de color amarillo rojizo a amarillo pálido (Figura 12) (Afanador *et al.*, 2010, 2014).

A nivel microscópico, *C. gloeosporioides* presenta ápices obtusos y de tamaño variable entre 12,0-17,0 x 3,5-6,0 μm , apresorios clavados o irregulares y algunas veces compuestos (6,0-20,0 x 4,0-12,0 μm); mientras que *C. acutatum* presenta conidias rectas, fusiformes con extremos agudos (8,0-16,5 x 2,5-4,0 μm); y apresorios oscuros, clavados, ovalados, obovados o irregulares, con márgenes

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

enteras o estrechamente lobuladas (8,5-10 x 4,5-6 μm) (Figura 12) (Bailey y Jeger, 1992).

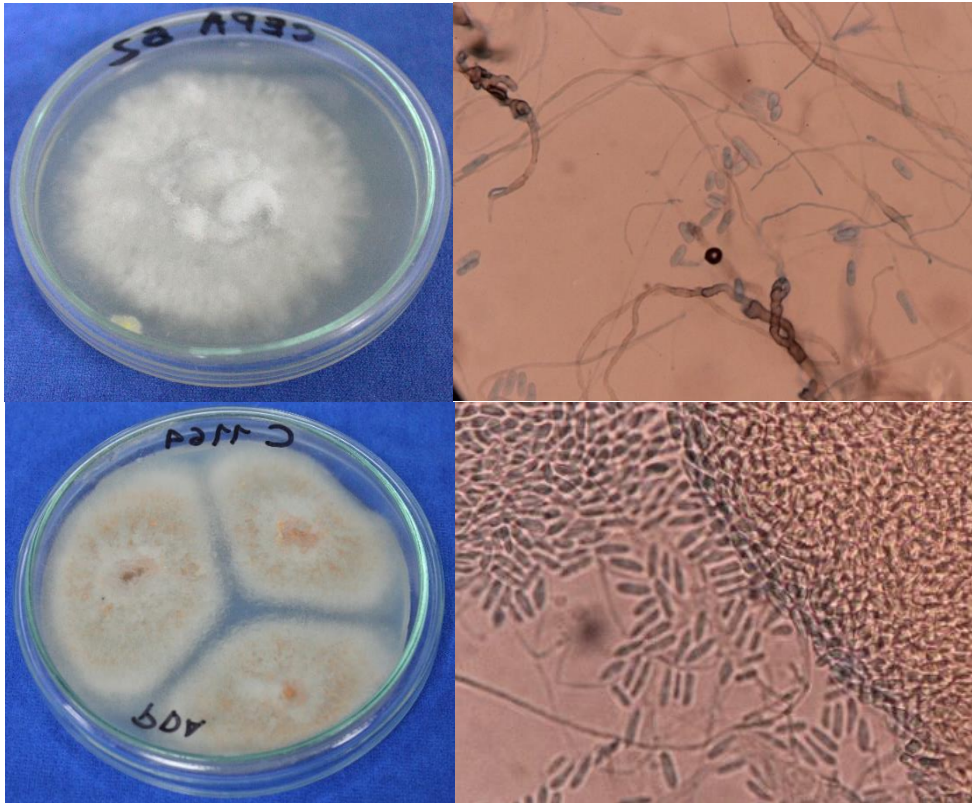


Figura 12. Colonias y estructuras reproductivas de *C. gloeosporioides* (arriba) y *C. acutatum* (abajo) (Fotos: Autor).

El complejo de hongos de *Colletotrichum* es considerado como uno de los más limitantes en la producción de mora, debido a que las pérdidas generadas son de alrededor del 50% y pueden llegar a 100% cuando no se aplican medidas preventivas (Saldarriaga *et al.*, 2008).

Las especies de *Colletotrichum* presentan preferencias por los tejidos de la planta, *C. gloeosporioides* se asocia en un mayor grado a lesiones en tallo, presenta una tasa de crecimiento mayor y una alta patogenicidad, mientras que *C. acutatum* se asocia a lesiones en fruto y botones florales (Afanador *et al.*, 2010, 2014).

Generalmente, los síntomas de antracnosis en mora se manifiestan con la presencia de manchas oscuras de color grisáceo y bordes oscuros en ramas y tallos, donde con el tiempo, aparecen los acérvulos y masas de conidios de color salmón; cuando el cultivo se establece en zonas de alta humedad, la enfermedad ataca la base de los tallos (Forero de La-Rotta *et al.*, 2002; Tamayo, 2003).

En los tallos principales las lesiones se localizan alrededor de las espinas, estas se rodean de manchas blancuzcas con diminutos puntos negros y al causar una infección severa, es posible que se produzca la muerte del tejido, tallos y de la planta (Tamayo, 2001) (Figura 13).



Figura 13. Síntomas de antracnosis en tallos (izquierda y centro) (Fotos: Autor) y frutos (derecha) (Foto: Saldarriaga – Cardona, 2017).

La manifestación de estos síntomas y la apreciación de los signos de la enfermedad, están influenciadas por temperaturas entre 20 y 25°C, humedad relativa mayor a 76.34 % y precipitación semanal acumulada de 25 mm, estas condiciones meteorológicas favorecen la germinación de las esporas y la formación de los apresorios de *C. gloeosporioides* y *C. acutatum* (Forero de La-Rotta *et al.*, 2002; López *et al.*, 2013).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

2.5 *Colletotrichum gloeosporioides* cepa 52

Investigadores de CORPOICA en 2012, a partir de 98 muestreos en los departamentos de Antioquia, Tolima, Huila, Santander, Cundinamarca y el Eje Cafetero; procesaron 391 muestras de las cuales obtuvieron 380 aislamientos del hongo *Colletotrichum* spp., estos aislamientos fueron obtenidos de plantas con síntomas en tallo, tizón en inflorescencias y tejidos incubados en cámaras húmedas para inducir esporulación del hongo.

Con los 380 aislamientos fue construido un cepario, el cual fue conservado en cultivo monospórico en papel filtro Whatman N° 1, bajo condiciones de conservación a -10°C. Posteriormente, a partir del cepario, los investigadores realizaron un diagnóstico molecular donde detectaron diferenciación genética entre las poblaciones muestreadas de *C. gloeosporioides* y *C. acutatum* (Saldarriaga, 2012).

En este estudio, la cepa 52 de *C. gloeosporioides* se encontró dentro del grupo de 46 especies aisladas de síntomas de antracnosis (25), lesiones en tallo (14) e inflorescencias (7), con sensibilidad al benomil y correspondió a un aislamiento obtenido de tallos del genotipo San Antonio, colectado en la finca Zarzal en el municipio de La Ceja, vereda La Loma, en el departamento de Antioquia, ubicada a los 2.072 m.s.n.m., 5°57.555 N y 75°287.94 W (Saldarriaga, 2012).

Según un análisis de distancias genéticas *Fst* pareadas entre los aislamientos, la cepa 52 mostró mayor similitud genética con las poblaciones de *C. gloeosporioides* procedentes de Santander, seguido de los hongos obtenidos del Eje Cafetero, Tolima, Huila y Cundinamarca, respectivamente; llegando finalmente a la conclusión que la diferenciación de cada especie está influenciada por su localización geográfica y posiblemente por las características geográficas del país, tales como topografía, clima e hidrografía (Saldarriaga, 2012).

Sobre la mencionada cepa, se realizaron pruebas de patogenicidad bajo condiciones de invernadero en plántulas de mora previamente acondicionadas e inspeccionadas en su sanidad. En general, se encontró que la severidad de la enfermedad se presentó en rangos entre 10 % y 100 %, en tiempos comprendidos entre 19 y 55 días, con lo cual se concluyó la alta patogenicidad del patógeno (Saldarriaga, 2012).

Posteriormente, en 2013 sobre la cepa 52 y una cepa de *C. acutatum* (cepa 168), fue evaluada la eficiencia in vitro de cinco fungicidas de síntesis química, tres extractos vegetales y tres productos a base de biocontroladores, así como su efecto sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial y el porcentaje de inhibición de biomasa (Gaviria-Hernández *et al.*, 2013).

Una vez finalizadas las pruebas, los mejores resultados se observaron con la aplicación de hidróxido de cobre y difenoconazol, alcanzando 100% de inhibición del crecimiento micelial en ambas cepas, mientras que para la inhibición de la biomasa, se logró mayor efectividad con difenoconazol (100%) y benomil (93% a 99%) para o en la cepa 52 y difenoconazol (100%) y azoxystrobin (91% a 97%) para *C. acutatum*.

Por otro lado, los productos a base de extractos vegetales de *Citrus sinensis* y *C. grandis*, así como los biocontroladores *Trichoderma lignorum* y *T. harzianum* demostraron eficiencia aceptable en el control de las dos cepas, perfilándose como herramientas que disminuirán el uso de agroquímicos aplicados para el control de la enfermedad de antracnosis (Gaviria-Hernández *et al.*, 2013).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

2.6 Manejo de antracnosis causada por *Colletotrichum* spp.

En el cultivo de mora se recomienda principalmente prácticas culturales de tipo preventivo, estas involucran la eliminación de ramas que muestren muerte descendente; la recolección de los frutos maduros; podas de saneamiento y de formación, así como el retiro de estos residuos fuera de los lotes; control de arvenses de manera selectiva en el plato y calles, para proporcionar aireación dentro del cultivo y el manejo de las distancias de siembra, las cuales no deben ser inferiores a 3 m entre plantas y 3 m entre calles (Franco y Giraldo, 1999, 2001; ICA, 2011; Morales y Villegas, 2012).

El control químico de las especies de *Colletotrichum* se ha fundamentado principalmente en la aplicación de ingredientes activos como oxiclورو de cobre, hidróxido cúprico, captan, propiconazol, procloraz, thiabendazol, mancozeb, clorotalonil, carbendazim, pyraclostrobin, bitertanol y tiabendazole (Arazus, 2000; de los Santos *et al.*, 2002; de Goes *et al.*, 2008; PLM, 2009, 2012; Gillard *et al.*, 2012, 2013).

Para el caso específico del cultivo de mora, el manejo químico recomendado cuando se presentan ataques severos, es mediante aspersiones de fungicidas dirigidos a las ramas y tallos, tales como benomil o carbendazim (Morales y Villegas, 2012).

En este sentido, estudios *in vitro* desarrollados por Gaviria-Hernández *et al.* (2013), sobre el efecto de cinco fungicidas en el desarrollo de *C. gloeosporioides* y *C. acutatum*, demostraron 100% de inhibición en el crecimiento micelial de ambas cepas con hidróxido de cobre y difenoconazol; el mayor porcentaje inhibitorio de biomasa en *C. gloeosporioides* se logró con difenoconazol (100%) y benomil (93% a 99%); mientras que para *C. acutatum* la mejor respuesta fue obtenida con difenoconazol (100%) y azoxystrobin (91% a 97%).

El manejo químico en ocasiones presenta problemas de resistencia en hongos fitopatógenos debido al desarrollo de cepas resistentes (Leroux, 2003; Nakaune y Nakano, 2007) y el riesgos para humanos por el consumo en fresco de los frutos (Leroux, 2003; ICA, 2011).

Por otro lado, el uso inadecuado de moléculas químicas para el control de antracnosis en el cultivo de mora ha ocasionado el rechazo de pulpas para exportación, debido a los altos contenidos de trazas encontrados en las mismas (Gaviria-Hernández *et al.*, 2013). Adicionalmente, entidades internacionales han prestado especial atención al uso de ingredientes activos como el clorotalonil, carbendazim y mancozeb por presentar riesgos de carcinogenicidad (Naranjo, 2011 citado por Gaviria-Hernández *et al.*, 2013).

De acuerdo con las anteriores consideraciones, se han estudiado métodos de control para el manejo de *Colletotrichum* basados en la aplicación de productos biológicos como *Bacillus subtilis*, *Rhodotorula minuta* (Carrillo *et al.*, 2005; Kuppera *et al.*, 2010), *Nigospora* sp. (Ríos, 2010), *Trichoderma* sp., *Burkholderia cepacia*, *P. fluorescens* y *P. maltophilia* (Bravo, 1996; Bankole y Adebajo, 2002; Botero, 2001; Montoya *et al.*, 2004; Viswanathan y Samiyappan, 2010; Arango, 2010; Faisal *et al.*, 2014), extractos vegetales (Hernández *et al.*, 2007; Baños *et al.*, 2004; Acevedo y Ospina, 2010; Osorio *et al.*, 2012; Gaviria-Hernández *et al.*, 2013), evaluación de materiales promisorios con resistencia (López *et al.*, 2013) y la caracterización de germoplasmas resistentes (Afanador *et al.*, 2010).

En el caso de biocontroladores, evaluaciones del efecto de *Trichoderma viride* sobre el parasitismo de *C. truncatum* en frijol caupí, mediante el tratamiento de semillas y la aplicación al suelo, logró la reducción de la infección; mientras que la aplicación de *T. viride* como una suspensión foliar, una o dos veces por semana a partir de tres días después de la inoculación de plantas de semillero, redujo significativamente la incidencia de la enfermedad. Adicionalmente, los tratamientos incrementaron el rendimiento de grano en comparación con las plantas no inoculadas (Bankole y Adebajo, 2002).

En cuanto a la utilización de bacterias, *P. fluorescens* para el control de *C. falcatum* en caña de azúcar y *C. musae* en banano, mostraron inhibición en el crecimiento micelial, reducción de la incidencia de la enfermedad y aumentó la actividad de enzimas relacionadas con la resistencia sistémica inducida (ISR) (Viswanathan y Samiyappan, 2010; Faisal *et al.*, 2014). Por otro lado, evaluaciones con *Bacillus subtilis* para controlar *C. acutatum* en condiciones de campo para el cultivo de cítricos, mostraron que aplicaciones semanales de este biocontrolador reduce significativamente, la cantidad de flores sintomáticas y proporciona un número mayor de frutos viables (Kuppera *et al.*, 2012).

En el caso del cultivo de mora para Colombia, Gaviria-Hernández *et al.*, (2013) mediante evaluaciones *in vitro* de productos a base de *T. lignorum* y *T. harzianum* sobre el crecimiento micelial de *Colletotrichum* spp., observaron inhibiciones del 61% y 65% para *C. gloeosporioides* y 77% y 79% para *C. acutatum*, considerando estos dos microorganismos dentro del grupo de los biocontroladores más eficientes comparados con *Bacillus subtilis*.

Finalmente, en cuanto a resistencia de materiales de mora frente a la antracnosis, en 2010 se llevaron a cabo estudios sobre la respuesta de 58 accesiones de *Rubus* spp., a la inoculación artificial con 16 aislamientos de *Colletotrichum* spp.. En esta investigación se evaluaron 43 accesiones pertenecientes a la colección colombiana de *Rubus* spp., manejada por CORPOICA, 12 genotipos colectados en las zonas de estudio, un clon comercial y dos genotipos pertenecientes a la colección de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira (Afanador *et al.*, 2010). Como resultado del estudio, los autores reportaron la identificación de tres grupos de respuesta a la antracnosis entre los materiales de *Rubus* spp.; un primer grupo de

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

alta susceptibilidad, un segundo de susceptibilidad intermedia y un tercero de genotipos medianamente resistentes y resistentes. Adicionalmente, los investigadores confirmaron una mayor virulencia en aislamientos pertenecientes a la especie *C. gloeosporioides* y menor para los de la especie *C. acutatum*.

López *et al.* (2013) evaluaron cinco materiales promisorios de mora (*R. glaucus* Benth.) por su resistencia a *C. gloeosporioides* así como su respuesta productiva, en el departamento de Risaralda. Los materiales fueron seleccionados con anterioridad por un grupo de investigadores de la Universidad Tecnológica de Pereira; y de acuerdo a la incidencia, severidad y rendimiento; reportaron tres grupos según su resistencia al patógeno, y rendimiento de estos, el primer grupo estuvo compuesto por dos genotipos sin espinas que lograron una producción de 21 y 17.6 t.ha⁻¹; mientras que el segundo y tercer grupo estuvo conformado por un genotipo sin espinas y dos con espinas, los cuales lograron rendimientos de 14.3 t.ha⁻¹, 9.8 y 7.9 t.ha⁻¹, respectivamente.

2.7 Importancia de la nutrición con nitrógeno, fósforo, potasio y calcio en el cultivo de mora

Cerca del 94 al 99,5% del organismo vegetal está compuesto de carbono (C), hidrógeno (H) y oxígeno (O); de estos, la planta obtiene la mayoría del C y O del aire, mientras que el H se deriva directa o indirectamente del agua; adicionalmente, las plantas requieren cierta cantidad de elementos químicos que por lo general son adquiridos a través del sistema radical (Gómez, 2012). Los elementos requeridos constituyen la fracción mineral de la planta, representan del 0,5 al 6% del peso seco de la planta, y son considerados esenciales para la nutrición de las mismas (Estein *et al.*, 2005 y Alarcón, 2008 citados por Gómez, 2012).

El conocimiento de la funcionalidad de los macro y micronutrientes en el crecimiento y desarrollo de las plantas, permite establecer criterios técnicos para su uso, adicionalmente, es pertinente tener en cuenta la dinámica de movilidad de los nutrientes en la relación suelo-planta, la cual está determinada por: 1) la movilidad de iones desde los colides del suelo hacia la rizósfera, mediante procesos de transporte tales como la difusión, flujo de masas e intersección radicular; 2) la difusión de iones hacia los espacios intracelulares del xilema de la raíz y la descarga de los nutrientes al floema de la célula por el flujo activo mediante bombas de ATP y proteínas de transferencia; y 3) el traslado de los iones desde el interior de la raíz hacia otros órganos de la planta a través del xilema y/o floema por presión radical, difusión y corriente transpiratoria (Gómez, 2012).

2.7.1 Nitrógeno

El nitrógeno (N) es un elemento requerido en grandes cantidades, ya que cerca del 1-5% del total de la materia seca de las plantas está constituida por el (Hawkesford *et al.*, 2012). De acuerdo al estado del N, puede ser usado por el metabolismo de las plantas para cumplir diferentes funciones y es considerado como un elemento primordial de moléculas como proteínas, ácidos nucleicos, purinas, pirimidinas, coenzimas (vitaminas), clorofilas entre otros (Barker y Bryson, 2006).

La disponibilidad de este elemento se ve afectada por bajos contenidos de materia orgánica (MO) en el suelo; baja tasa de mineralización por acidez inferior a 5,5; volatilización en suelos básicos; exposición de los suelos a estrés hídrico, inundaciones, lixiviación y escorrentías; toma de nutrientes por parte de microorganismos; volatilización y desnitrificación; bajas temperaturas de los suelos; fijación del amonio por arcillas y antagonismo entre NO_3^- por SO_4^{2-} y HN_4^+ por Mg (Gómez y Castro, 2009 citados por Gómez, 2012).

Cuando las plantas de mora se ven expuestas a deficiencias de N, presentan retrasos severos en el crecimiento y menor ganancia de peso seco total, además de amarillamiento de los limbos foliares, coloración morada o rosada de los peciolo y tallos con coloración rojo a púrpura (Castaño *et al.*, 2010) (Figura 14).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Según una revisión realizada por Castro y Cerdas (2005), el exceso de N en plantas de mora causa la producción excesiva de vegetación lo que predispone a la planta al ataque de problemas fitosanitarios y pérdida de los frutos.

De acuerdo a la relación de este elemento con otros nutrimentos en el tejido foliar, la ausencia de calcio (Ca) y magnesio (Mg) generan incrementos en los niveles de N, esto posiblemente debido a la influencia del Ca en la síntesis de proteínas, la asimilación de nitrógeno nítrico y la actividad enzimática; y el aumento de N foliar en procesos fotosintéticos por el bajo contenido de Mg a nivel foliar (Castaño *et al.*, 2010).

2.7.2 Fósforo

Más allá de su papel en los procesos de transferencia de energía, el fósforo (P) es considerado como un componente estructural de los fosfolípidos, ácidos nucleicos, nucleótidos, coenzimas y fosfoproteínas (Sánchez, 2006, Hawkesford *et al.*, 2012). En este aspecto, los fosfolípidos son importantes en la estructura de la membrana mientras que los ácidos nucleicos contienen el material genético llevado de una célula a otra (Sánchez, 2006).

Al igual que el N, la disponibilidad del P se ve afectada por bajos contenidos de MO en el suelo; adición de complejos de Al o Fe en medios con pH <5,0 y formación de complejos insolubles con Ca a pH >7,5; fijación en suelos andisoles, oxisoles y ultisoles; bajas temperaturas de los suelos; climas fríos y antagonismos con Fe, Al, Ca, SO_4^{2-} , MO y Si (Gómez y Castro, 2009 citados por Gómez, 2012).

Cuando las plantas de mora presentan deficiencias de P, se da reducción de la firmeza de los tejidos foliares, crecimiento de ramas látigo, coloraciones verde oscuro brillante en hojas viejas y disminución en el contenido de Mg (Castaño *et al.*, 2010) (Figura 14). Este elemento reduce su concentración foliar en ambientes deficientes de Mg y N, posiblemente debido a la fuerte relación de Mg en el metabolismo del fósforo, la respiración celular y los procesos metabólicos del nitrógeno (Castaño *et al.*, 2010). Por otro lado, cuando las plantas de mora carecen de zinc (Zn), se presenta un incremento en el contenido de fósforo foliar, ya que el Zn es un activador de enzimas que transfieren grupos fosfatos en la planta (Castaño *et al.*, 2010).

2.7.3 Potasio

El potasio (K) tiene gran influencia en los procesos fotosintéticos y de respiración, está involucrado en el mantenimiento del potencial de membrana, la turgencia de las células, la translocación de carbohidratos, la síntesis de proteínas, así como

actividades osmorreguladoras y catálisis de enzimas (Mengel, 2007; Gierth y Mäser 2007; Pyo *et al.*, 2010).

La absorción del K^+ es selectiva y se caracteriza por una gran movilidad dentro de las células individuales y los tejidos, así como el transporte de larga distancia a través del xilema y floema; de acuerdo a estos procesos, su captación y transporte se ven facilitados por las proteínas integrales de membrana, las cuales permiten su movimiento a través de la membrana plasmática, adicionalmente, por ser el catión más abundante en el citosol, contribuye al potencial osmótico de las células de las plantas (Hawkesford *et al.*, 2012).

La baja disponibilidad de K para las plantas se ve influenciada por bajas temperaturas de los suelos; erosión, escorrentía e inundaciones; suelos derivados de cenizas volcánicas, sódicos y sulfatados; antagonismos con NH_4 , Ca, Mg, Fe y Mn; y fijación de arcillas 2:1 (Gómez y Castro, 2009 citados por Gómez, 2012), proceso que además de estar relacionado con la mineralogía de la fracción de arcillas, está influenciado por factores térmicos, formas de potasio y las condiciones de humedad en el suelo (Huang y Jin 1996; Conti, 2001; Navarro y Navarro, 2013).

Deficiencias de K en plantas de mora causan la formación de entrenudos cortos, el enrollamiento interno de las hojas y posterior necrosis de los márgenes, amarillamiento y hojas más aserradas que las normales (Castaño *et al.*, 2010) (Figura 14); adicionalmente, cuando las plantas están expuestas a bajos suministros de K, las frutas presentan acidez alta (Castro y Cerdas, 2005).

Frente a la relación con otros elementos, al presentarse deficiencias de Mg, se generan incrementos en los niveles de K, esto debido al antagonismo que existe entre estos elementos. Por otro lado, al presentarse reducción de N se registrarán bajos contenidos de K a nivel foliar, el cual al verse disminuido, reduce los contenidos de Zn, posiblemente debido a la movilidad del K y Zn en la planta, y la translocación de los mismos para realizar un reemplazo mutuo (Castaño *et al.*, 2010).

2.7.4 Calcio

Dentro de las funciones del Ca sobre el metabolismo de las plantas, se destacan los efectos sobre las membranas, la conformación de las paredes celulares y las interacciones de este elemento con fitohormonas y enzimas (Pilbeam y Philip, 2006). La mayor parte de las funciones del Ca como componente estructural o regulador de las macromoléculas, están relacionadas con vínculos moleculares estables; es así que en el apoplasto, parte del Ca está fuertemente unido a las estructuras, mientras que otra porción es intercambiable en las paredes de las células y en la superficie exterior de la membrana plasmática; no obstante, una alta cantidad de Ca es a menudo secuestrado en las vacuolas, mientras que su concentración en el citosol, y su movilidad en el simplasto y el floema, es baja (Hawkesford *et al.*, 2012).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

La disponibilidad del Ca para las plantas se ve influenciada negativamente por lixiviación, erosión, baja aireación y precipitaciones excesivas; saturaciones de Mg superiores al 20%; acidez; contenidos altos de Al^{3+} y antagonismo con Mg, K, NH_4 y B (Gómez, 2006 citado por Gómez, 2012).

Cuando este elemento es deficiente en plantas de mora, se presenta la sobreproducción de frutos pequeños, así como achaparramiento, reducción del área foliar y desarrollo limitado, esto debido a la importancia del elemento en la división celular meristemática y la estabilidad de las células en los procesos de división (Castaño *et al.*, 2010) (Figura 14). Adicionalmente, la ausencia de Ca genera incrementos de los niveles de N, P, K y Mg; destacando la importancia del Ca en la síntesis de proteínas por su incremento sobre la asimilación del nitrógeno y actividad de sistemas enzimáticos (Castaño *et al.*, 2010).

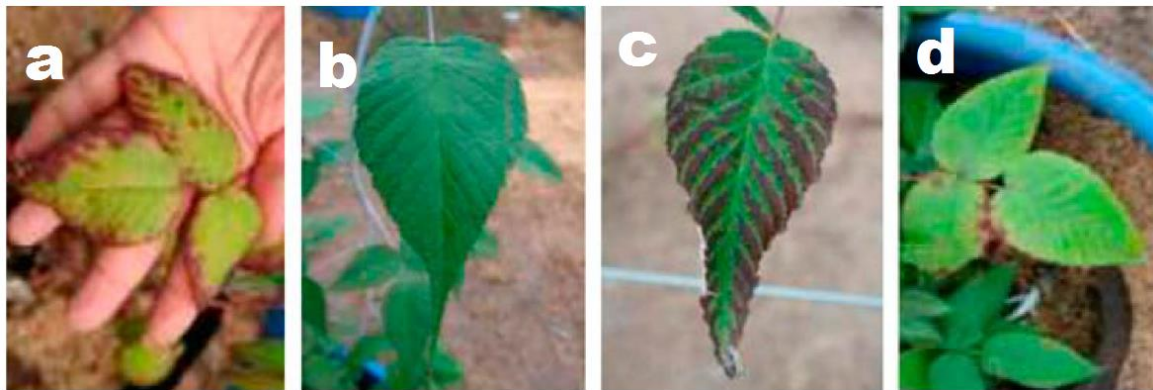


Figura 14. Síntomas de deficiencias nutricionales de nitrógeno (a), fósforo (b), potasio (c) y calcio (d) en folíolos de plantas de mora de castilla con espinas (Fuente: Morales - Londoño, 2012).

2.8 Fertilización en el cultivo de mora

Para la producción de mora en Colombia, actualmente se cuenta con poca información sobre los requerimientos del cultivo y las cantidades adecuadas de nutrientes que deben ser suministrados a las plantas (Morales y Villegas, 2012). Debido a esto, autores recomiendan tener en cuenta referencias generales sobre la concentración de macronutrientes y micronutrientes a nivel foliar (Castro y Cerdas, 2005; Morales y Villegas, 2012) (Tabla 4).

A nivel general se considera que el N, K, Ca, Mg y P en su orden, son los elementos más importantes a tener en cuenta cuando se realicen labores de fertilización, sin embargo, es indispensable antes de proponer cualquier plan de fertilización, tener presente las propiedades físicas y químicas de los suelos.

En Sur y Centro América, se han adelantado investigaciones sobre la aplicación de diversas dosis de fertilizantes así como su interacción con enmiendas orgánicas y microorganismos, los cuales pueden llegar a traducirse en aumentos del rendimiento en el cultivo de mora, a pesar de ello, estas no tienen presente la importancia de la identificación de curvas de absorción en los órganos de las plantas y su influencia en las diferentes etapas fenológicas del cultivo.

Tabla 4. Aproximación de los rangos de concentración de los macro y micronutrientes en tejido vegetales.

Macronutriente	Deficiencia	Normal	Exceso
	%		
Nitrógeno (N)	<2,50	2,5-4,5	>6,00
Fósforo (P)	<0,15	0,20-0,75	>1,00
Potasio (K)	<1,00	1,50-5,50	>6,00
Calcio (Ca)	<0,50	1,00-4,00	>5,00
Magnesio (Mg)	<0,20	0,25-1,00	>1,50
Azufre (S)	<0,20	0,25-1,00	>3,00
Micronutriente	ppm		
Boro (B)	5-30	30-50	>50
Cloro (Cl)	<100	100-500	500-1000
Cobre (Cu)	2-5	5-30	30-100
Hierro (Fe)	<50	100-500	>500
Manganeso (Mn)	15-20	20-300	300-500
Molibdeno (Mo)	0,03-0,15	0,1-2,0	>2,0
Zinc (Zn)	10-20	20-100	100-400

Fuente: Munson, 1998.

En Ecuador, Vayas (2000) evaluó el efecto de la fertilización fraccionada de N, P y K en plantas de mora castilla y de acuerdo a los resultados obtenidos, recomienda dosis de 330 kg.ha⁻¹ de N, 60 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ y 300 kg.ha⁻¹ de K₂O, en la fase de poda, cuajado de frutos y desarrollo de los mismos, aplicándolos en proporciones de 50%, 25% y 25% respectivamente.

En cuanto al empleo de enmiendas orgánicas, Pruna (2007) determinó la respuesta de la mora castilla de Ecuador, a tres niveles de MO (estiércol de cuy) en dosis de

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

1,36; 2,72 y 5,45 kg/planta, la cual fue expresada en cuanto al número de frutas por kilogramo y rendimiento (kg.ha⁻¹). De acuerdo con los resultados y al comparar las dosis respecto a un testigo sin MO, el autor destaca menor cantidad de frutas (140,17) y mayor peso de estas debido a su calidad; con la aplicación de 5,45 kg/planta. Adicionalmente, esta dosis presentó mayor rendimiento y rentabilidad con valores de 4.917 kg.ha⁻¹ y 1,46%, respectivamente.

Por su lado Espín (2012) llevó a cabo la validación de componentes tecnológicos que involucraron manejo orgánico, la utilización moderada de productos agrícolas (manejo limpio) y la inoculación de *Trichoderma* spp., en el cultivo de mora de castilla, así como su efecto en variables agronómicas y económicas. De acuerdo a los resultados obtenidos, el autor reporta mayores números en yemas por rama, flores fecundadas, frutos por rama y rendimiento de 14.866,89 kg.ha⁻¹ con la implementación de manejo limpio y aplicaciones de *Trichoderma* spp. En cuanto a aspectos económicos, con la implementación de estas tecnologías, se obtiene mayor beneficio neto (9.389,36 USD) y una tasa de retorno marginal 566,34 %, al cambiar el manejo del productor por dicha tecnología, lo cual implica un retorno adicional por dólar invertido (5.66).

En Costa Rica, Castro y Cerdas (2005) recomiendan tener en cuenta información que incluya la absorción de nutrientes por el cultivo de mora en función, de su producción expresada en tonelada por hectárea de fruto en fresco (Bertsch, 2003 citado por Castro y Cerdas, 2005). Los autores recalcan que esta información cuantitativa permite generar una aproximación para plantear programas de fertilización de acuerdo a un rendimiento en el tiempo y no se puede considerar como una herramienta de diagnóstico igual al análisis foliar convencional (Tabla 5).

Tabla 5. Cantidad de nutrientes requeridos por una hectárea de mora fresca.

Tipo de Mora	Peso 1 t fruto en fresco		Cantidad absorbida										
	% humedad	Kg peso seco	Kg/t							g/t			
			N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
Roja	79	210	1,76	0,34	2,71	0,65	0,36	0,08	7,6	1,7	8,4	15,3	1,0
Morada	80	200	2,60	0,40	2,56	0,96	0,52	0,12	8,2	1,8	8,0	18,4	1,1
PZ	84	160	1,20	0,18	1,86	0,42	0,25	-	15,20	0,6	2,4	11,7	0,0

Fuente: Bertsch, 2003 en Castro y Cerdas, 2005.

En este mismo país, Orozco y Muñoz (2012) evaluaron el efecto de dos abonos orgánicos en las propiedades químicas del suelo y el rendimiento de *Rubus adenotrichus* cv. Vino; en dos localidades de la provincia de San José de Costa Rica. Allí analizaron el efecto del compost y lombricompost, en dosis de 4 y 3 kg/planta respectivamente, y un testigo sin abono. Como resultado observaron en las dos localidades, que la aplicación de las enmiendas incrementó el pH del suelo y la disponibilidad de Ca, Mg, K, N y P; no se presentó acumulación de Mn, Cu y Zn; se observó reducción de la acidez del suelo; y se vio favorecida la capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICE) y el porcentaje de MO. Finalmente, en

cuanto al rendimiento, encontraron diferencias significativas en una de las localidades trabajadas, donde la aplicación de enmiendas orgánicas permitió una mayor producción y rendimiento.

En Colombia, para la zona productora del eje cafetero, Franco y Giraldo (1998) proponen un plan de fertilización aplicando 120 kg de N por hectárea al año. En cuanto al P, recomiendan tener en cuenta los resultados de análisis de suelo, aplicando 20 a 45 kg.ha⁻¹ año cuando el nivel de P es menor a 10 ppm, 45 a 90 kg.ha⁻¹ año cuando los niveles se encuentran entre 5 y 10 ppm, y 90 kg.ha⁻¹ año cuando el nivel es inferior a 5 ppm. Para el caso del K, de acuerdo a las relaciones Ca+Mg/K, recomiendan el aumento en las dosis cuando el valor de dicha relación se incrementa, es así que para relaciones inferiores a 50 se recomienda aplicar 90 kg.ha⁻¹ año, en suelos con relaciones entre 50 y 70, recomiendan 100 a 110 kg.ha⁻¹ año, mientras que para relaciones superiores 70, se mencionan aplicaciones de 120 a 130 kg.ha⁻¹ año. Por otro lado, los autores recomiendan la aplicación de dos gramos B a cada planta por año cuando estas se encuentren generando botones florales y la adición de 30 a 40 g/planta semestralmente de elementos menores. Finalmente, con las dosis antes mencionadas (120-40-120 de N-P-K), se logra una producción de 12,50 y 12,50 t.ha⁻¹ durante el primer y segundo año de producción, respectivamente (Franco *et al.*, 2000).

Estudios desarrollados sobre el efecto de la nutrición con N, P y K en ecotipos con y sin espinas en el departamento del Quindío, y su influencia en el rendimiento, eficiencia agronómica y fisiología de los materiales; demostraron que los mejores rendimientos según el material se obtienen con niveles de 30-3-15 para ecotipos con espinas y 30-5-39 para ecotipos sin espinas; mientras que los ecotipos de mora sin espinas presentan mayor eficiencia agronómica al tener un rendimiento 91,7 kg por cada kg de N aplicado y 91,7 kg por kg de Fósforo aplicado, mientras que para el ecotipo con espinas se observó una mayor eficiencia en la asimilación de K (Artunduaga, 2010).

Para la zonas fría del departamento de Boyacá, Gutiérrez *et al.* (2002) evaluaron el efecto de la aplicación de gallinaza y P sobre mora de castilla; en esta investigación se observó el efecto de cuatro niveles de cada uno de los fertilizantes sobre el número de flores y frutos formados, % de cuajamiento, peso individual de frutos, producción y viabilidad económica de los mismos. Como resultado, los investigadores encontraron incremento de todas las variables con la aplicación de dosis de P hasta 100 kg.ha⁻¹ y que por encima de esa dosis no se presenta aumentos significativos del rendimiento. En cuanto a la aplicación de gallinaza, reportaron que la aplicación individual de esta enmienda aumentó los rendimientos totales de fruta así como su calidad, hasta las 4 t.ha⁻¹. Al evaluar la combinación entre estos dos factores, los autores concluyeron que la mejor dosis fue de 100 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ y 4 t.ha⁻¹ de gallinaza y que económicamente, con una proyección a cinco años se obtendría 85% más rendimientos en comparación con plantas que no reciben fertilización alguna.

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Por su parte Roveda *et al* (2008), mencionan que la aplicación de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) de los géneros *Acaulospora* sp. y *Glomus* sp., presentan beneficios en la absorción de nutrientes esenciales (N, P, Ca y Mg) en tejido vegetal, esto al observar la acumulación de biomasa aérea y de raíz en plantas de mora, después de los 80 días del trasplante. Adicionalmente, Ramírez *et al* (2008) mencionan que la inoculación simple con estos HFMA puede llegar a sustituir hasta un 50% de las aplicaciones de fertilizantes químicos, con lo cual se podría reducir los costos de producción, por la disminución de las cantidades de fertilizantes de síntesis química y un menor costo de los biofertilizantes.

Finalmente, La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA, considerando las demandas de la cadena productiva de mora en Colombia, más específicamente en temas de manejo de suelos y aguas, y la necesidad de conocer los requerimientos nutricionales del cultivo en sus diferentes etapas, planteó desarrollar desde 2013 y hasta 2017, el proyecto denominado “Requerimientos nutricionales (N, P, K y Ca) del cultivo de mora (*Rubus glaucus* B.), determinados y manejo eficiente de la fertilización integrada” (Bolaños-Benavides, 2016).

En el transcurso del proyecto, esta institución evaluó la extracción de nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K) y calcio (Ca) en plantas del genotipo mora sin espinas en condiciones controladas de invernadero, correspondientes a la etapa vegetativa inicial de emisión de raíces y brotes de la parte aérea; y los requerimientos nutricionales (N, P, K y Ca) de mora con espinas proveniente de propagación por semilla. Desde 2016, los investigadores vinculados al proyecto, se encuentran trabajando en la determinación de los requerimientos nutricionales en las fases vegetativa, reproductiva y productiva, con lo que buscan aportar al conocimiento del manejo del cultivo mediante la identificación de las dosis apropiadas de nutrientes para sistema productivo, de acuerdo a sus estados fenológicos.

2.9 Efecto del nitrógeno, fósforo, potasio y calcio en el manejo de enfermedades

Uno de los principios del manejo integrado de enfermedades es la protección. Este concepto además de considerar la presencia de barreras entre el hospedero y el patógeno, involucra la manipulación de factores medio ambientales y prácticas de manejo de los cultivos como la fertilización apropiada del cultivo (Castaño-Zapata, 1994).

La nutrición mineral al igual que el agua, son esenciales para la fotosíntesis, estos en conjunto con los carbohidratos sintetizados, permiten la acumulación de biomasa vegetal y a medida que la demanda de nutrientes es cubierta, los resultados en desarrollo de la planta, rendimiento y calidad mejoran considerablemente (Becerril, 2010).

La fertilización además de contribuir a la sostenibilidad de la producción, influye en la disminución de la incidencia y severidad de enfermedades (Méndez *et al.*, 2007; Viteri *et al.*, 2012). La fertilización y su relación con las enfermedades, es un componente esencial de la trofobiosis, la cual es definida como la ocurrencia de factores de resistencia y/o predisposición de las plantas de acuerdo a un desequilibrio nutricional (Chaboussou, 1967).

Deficiencias en la nutrición de los cultivos pueden aumentar la susceptibilidad a diversas enfermedades; esta condición hace que la susceptibilidad de las plantas aumente (Huber, 1997; Velasco, 2000), mientras que las infecciones débiles pueden llegar a tornarse más agresivas (McMahon, 2012).

La cantidad de nutrientes suministrados puede afectar la susceptibilidad de las plantas a las enfermedades mediante cambios en el metabolismo de las mismas, estos cambios se manifiestan por el fortalecimiento de los mecanismos de resistencia constitutivos que se encuentran localizados en la superficie de la planta donde el patógeno realiza el primer contacto para producir la enfermedad (Riveros, 2010; Gimenez y Rathjen, 2010). Dependiendo del patosistema y tipo de parasitismo, el suplemento con la cantidad adecuada de nutrientes sule a la planta para un crecimiento adecuado y puede contribuir a la disminución de enfermedades (Huber *et al.*, 2012).

Adicionalmente, la demanda de nutrientes tiene variaciones según la especie y la etapa fenológica del cultivo, lo cual refleja valores específicos de extracción de elementos y requiere un programa de nutrición ajustado para cada caso (Becerril, 2010).

2.9.1 Nitrógeno

La influencia del N en la susceptibilidad de enfermedades está relacionada con cambios metabólicos en las plantas, efectos sobre la virulencia de los patógenos y

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

factores abióticos y/o bióticos, especialmente aquellos generados en la rizosfera (Huber y Thompson, 2007).

El N está fuertemente relacionado en muchos procesos fisiológicos de las plantas, este es un elemento constitutivo de aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y fenoles; y por ende se relaciona con la resistencia y/o susceptibilidad a enfermedades. El N es el nutrimento que más influye en la cantidad de celulosa y puede afectar la resistencia mecánica de las células. En este sentido, algunos patógenos foliares logran su penetración, multiplicación y desarrollo, en tejidos suculentos gracias al aporte de este elemento (Huber y Thompson, 2007).

El N mejora las tasas de crecimiento durante las fases vegetativas de las plantas, y la maduración de los tejidos conlleva a una mayor susceptibilidad al ataque, adicionalmente, un incremento en la concentración de aminoácidos en el apoplasto y la superficie de las hojas, inducida por la aplicación de N, estimula la germinación y crecimiento de conidias (Robinson y Hodges, 1981 citado por Huber y Thompson, 2007).

Existen diferencias de acuerdo al tipo de parasitismo de los microorganismos, la susceptibilidad de las plantas expuestas al ataque de un parásito obligado se ve incrementada por la aplicación excesiva de N, mientras que dicha susceptibilidad decrece para un parásito facultativo. Estas diferencias se basan en los requerimientos nutricionales de los patógenos, ya que los parásitos obligados dependen de asimilados suministrados por las células vivas mientras que los parásitos facultativos prefieren tejidos senescentes y/o que liberan toxinas que descomponen las células de la planta; estos factores regulan la actividad metabólica de las células del huésped e influyen en la tolerancia al ataque (Huber *et al.*, 2012).

Estudios realizados en campo sobre cultivos de maíz mostraron que la resistencia a la mancha gris causada por *Cercospora* sp., está relacionada con la nutrición mineral de los cultivos con N, en dicho estudio se pudo constatar que altas dosis de este elemento aumentan la incidencia de la enfermedad; no obstante, su combinación con P reduce los efectos de la enfermedad notablemente (Okori *et al.*, 2004).

El N influye en la resistencia y reduce la frecuencia de penetración por los patógenos o causa una desaceleración de la patogénesis después de la penetración (Huber y Thompson, 2007). Long *et al.* (2000) estudiaron el efecto de tres dosis de N en el desarrollo de *Magnaporthe grisea* en ocho cultivares de *Oryza sativa*. Los autores reportan que el desarrollo de la enfermedad, independientemente de los tratamientos, mostró un crecimiento unimodal hasta alcanzar un máximo a mitad de la temporada y disminuyó gradualmente con el

tiempo; esto se atribuyó a la resistencia de las plantas en una etapa madura, senescencia de las hojas y formación de nuevo tejido foliar sano. Finalmente, los investigadores mencionan que la aplicación de N por encima de la tasa recomendada para el cultivo, genera un aumento significativo de la incidencia de la enfermedad y está estrechamente relacionada con la resistencia de los cultivares.

De acuerdo a las anteriores consideraciones, se dice que la colonización exitosa de organismos fitopatógenos requiere la utilización eficiente de los nutrientes en los tejidos del huésped y diversos genes de virulencia se inducen específicamente en condiciones de limitación de N, lo que sugiere que un ambiente de N desbalanceado puede ser una de las señales para el inicio del crecimiento de los patógenos en las plantas (Snoeijers *et al.*, 2000).

En cuanto al desarrollo de los patógenos y su virulencia, el N puede influenciar procesos por estimulación o inhibición en la síntesis de enzimas y/o actividades requeridas por los microorganismos; este aspecto es bastante importante en enfermedades que descomponen las células vegetales. La inhibición de celulosa y enzimas pectolíticas, por formas específicas de N se ha correlacionado con la reducción de la pudrición de las frutas a causa de *Rhizopus* sp. y la susceptibilidad del algodón a *Rhizoctonia solani*, en este último patosistema, la producción de enzimas degradadoras de las paredes celulares se ven incrementadas por NH_4 e inhibidas por NO_3 (Huber y Thompson, 2007).

Finalmente, en la rizosfera se presentan cambios que afectan la absorción de N, entre los cuales se destacan el pH, tipo de suelo, concentración y fuente de N, tensión de oxígeno, temperatura y los productos químicos agrícolas utilizados. El efecto de NH_4 y el NO_3 en la severidad de *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. en frijol y algodón, respectivamente, sugieren que la diferencia en la severidad en presencia de las dos fuentes, son el resultado de la interacción con la microbiota del suelo, ya que el incremento de microorganismos antagonistas se correlaciona con las formas específicas de N (Huber y Watson 1974).

Un ejemplo de dichos cambios fue expuesto por Núñez-Zofío *et al* (2011), estos investigadores evaluaron la eficacia en la aplicación de abonos orgánicos en suelos con y sin acolchado plástico para el control de *Phytophthora capsici*, agente causal de la pudrición de la corona y raíz en tomate. Los resultados más relevantes además de la afectación de la viabilidad e infectividad de oosporas, el incremento en los indicadores fisicoquímicos del suelo y la disminución en los contenidos de C orgánico, se centraron en el incremento de la actividad enzimática oxidativa del suelo, representatividad y distribución de especies benéficas en el suelo, así como la disminución en la incidencia de la enfermedad. Esto último, en parte debido a la producción de NH_3 , el aumento en la actividad microbiana del suelo y la diversidad funcional de las especies.

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

2.9.2 Fósforo

El P es el segundo nutriente más comúnmente aplicado en la mayoría de los cultivos y es parte de moléculas orgánicas de la célula tales como el ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN), adenosin trifosfato (ATP) y fosfolípidos, adicionalmente está involucrado en muchos procesos metabólicos de las plantas y los patógenos (Dordas, 2009).

Este elemento incrementa la resistencia de las plantas a diferentes enfermedades cuando sus contenidos en los tejidos aceleran la madurez y protegen los órganos jóvenes; sin embargo, los efectos de este elemento en la severidad de enfermedades no es tan evidente cuando se observa en cultivares susceptibles y/o moderadamente resistentes (Prabhu *et al.*, 2007).

Diversos estudios han reportado que la aplicación de P puede reducir y/o aumentar el ataque de enfermedades causadas por *Fusarium* spp., *Puccinia* spp., *Rhizoctonia* sp.; *Alternaria* sp., bacterias, virus, entre otros (Dordas, 2009; Katan, 2009; Prabhu *et al.*, 2007). A pesar de esto, el efecto depende de los niveles del elemento, la combinación con otros minerales y el medio en el que se encuentre (tejidos y suelo).

Aplicaciones foliares de ácido fosforoso (H_3PO_3) y sus derivados, han demostrado efectos sobre la inhibición del desarrollo de especies oomicetos como *Phytophthora* spp. y *Pythium* spp.; este efecto es atribuido a la inactivación de la actividad metabólica de los patógenos o a un efecto de toxicidad directa sobre estos. El uso del H_3PO_3 ha mostrado un efecto positivo sobre el control de diferentes enfermedades en plantas como mildew velloso, tizón tardío de la papa y el tomate, tizones foliares en cucurbitáceas, pudriciones de tallo y raíces, así como para el damping off causado por el complejo de hongos *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Fusarium* (Brunings *et al.*, 2012).

Estudios sobre el efecto de la aplicación de fertilizantes orgánicos con la inoculación de las bacterias *Bacillus subtilis* y *Paenibacillus polymyxa* sobre el control de *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* en plantas de pepino, mostraron que la incidencia de la enfermedad estuvo entre el 5,3 y 13,5% en las plantas tratadas con la fertilización orgánica y las bacterias, en comparación con plantas tratadas solo con los fertilizantes orgánicos (30,3 a 51 %). Análisis biológicos sobre los cambios de composición de las bacterias y la actividad después de la fertilización, mostraron que el número de unidades formadoras de colonias de *Fusarium* disminuyeron en los suelos tratados con los biofertilizantes. Finalmente, análisis sobre los tejidos del xilema mostraron alto contenido de P al interior de las paredes celulares de las plantas enfermas (Zhang *et al.*, 2008).

En cuanto al medio en el que se encuentra y su efecto sobre bacterias, Gracia-Garza *et al* (2004), experimentaron aplicación de superfosfato (0-20-0) al suelo y la aplicación de P en soluciones nutritivas, sobre la podredumbre blanda en tubérculos de lirio, causada por *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc). Adicionalmente, los investigadores analizaron la inoculación de tubérculos con suspensión de células bacterianas, una solución de KH_2PO_4 y una suspensión de bacterias en KH_2PO_4 . Según los resultados, la enfermedad se incrementó un 51% cuando se aplicó el superfosfato en comparación con el testigo (31%). En contraste, la adición de P en la solución de nutrientes, cubrió las necesidades de P en las plantas, incrementó la altura, peso fresco y el número de flores por planta; pero no influyó en la disminución de la incidencia de la enfermedad. En cuanto a la inoculación con las diferentes suspensiones, los resultados mostraron un aumento significativo del desarrollo de la enfermedad en los tubérculos tratados con la suspensión de Ecc en la solución de KH_2PO_4 . Otras pruebas realizadas indicaron que la actividad enzimática (poligalacturonasa y pectato liasa) de Ecc aumentó cuando se encontró en presencia de P. Finalmente, los autores infirieron que el aumento de podredumbre blanda en presencia de P fue debida al aumento de la virulencia de la bacteria.

2.9.3 Potasio

El K es importante en procesos fotosintéticos y de respiración, influencia el mantenimiento del potencial de membrana, la turgencia de las células, la translocación de carbohidratos, la síntesis de proteínas, así como actividades osmorreguladoras y catálisis de enzimas (Mengel, 2007; Pyo *et al.*, 2010).

En general, la aplicación de K mejora el vigor de las plantas influyendo positivamente frente al desarrollo de infecciones; dicho efecto se manifiesta mediante el incremento de las funciones metabólicas que afectan las relaciones de compatibilidad entre el hospedero, el patógeno y el ambiente; adicionalmente, el K en la planta aumenta la producción de compuestos inhibitorios como fenoles, fitoalexinas y auxinas que actúan alrededor de los sitios de infección.

Su deficiencia causa el debilitamiento de las células y crecimiento lento de tejidos meristemáticos facilitando la penetración del patógeno a la epidermis (Imas y Bansal, 1999), así como la reducción en la síntesis de proteínas, almidón y celulosa (compuestos de alto peso molecular) y por lo tanto, conduce a la acumulación de compuestos orgánicos de bajo peso molecular, que pueden cubrir nutrientes requeridos por los microorganismos; pese a esto, el aumento excesivo en la concentración de K no tiene ningún efecto sobre la síntesis de compuestos de alto peso molecular ni un efecto adicional sobre la resistencia y/o tolerancia; ya que la adición de K sólo es eficaz en el control de enfermedades si solo se cubre su deficiencia (Huber *et al.*, 2012).

La deficiencia de K en las plantas puede ser inducida por aplicación excesiva de Ca o Mg, con lo cual se presentan descensos en los mecanismos de resistencia

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

(Spann & Schumann, 2010). En este contexto, la oferta de K puede reducir las concentraciones de otros nutrientes mediante la mejora del crecimiento vegetal (efecto de dilución) o la competencia en los sitios de absorción con otros cationes tales como Mg y Ca (Huber *et al.*, 2012). El K en concentraciones adecuadas, disminuye la competencia interna de los patógenos en la obtención de nutrientes; con un buen aporte nutricional, las plantas pueden asignar más recursos al desarrollo de paredes celulares, prevenir la infección de patógenos y el ataque de insectos; y obtener más nutrientes que se invertirán en la defensa y la reparación de daños (Wang *et al.*, 2013).

En el modelo de *Arabidopsis thaliana*, se ha demostrado que la deficiencia de este elemento facilita la entrada y el desarrollo de patógenos; esto como resultado de cambios físicos y metabólicos que contrarrestan los mecanismos naturales de defensa (Amtmann *et al.*, 2008).

La relación entre K y la resistencia es más compleja en las semillas y frutas, esto debido a la translocación de fotoasimilados entre órganos vegetales (Huber *et al.*, 2012). En cultivares de soya, se presenta un incremento acelerado de la incidencia de enfermedades en las vainas por la disminución de K en estos órganos, y es superior cuando se compara con aquellos formados durante una mayor actividad de las raíces, condiciones adecuadas de humedad en el suelo y la disponibilidad de K en este; con la aplicación de dosis altas de este elemento, el porcentaje de granos afectados se puede reducir de un 75 al 13%, no obstante, el rendimiento de semilla se incrementa marginalmente (Crittenden y Svec, 1974 citados por Huber *et al.*, 2012).

La aplicación foliar con compuestos derivados del ácido fosforoso (fosfitos) son utilizados normalmente como fertilizantes foliares y han mostrado efectos benéficos sobre el desarrollo de las plantas, al activar mecanismos de defensa contra enfermedades (Mogollón y Castaño, 2011; Johnson *et al.*, 2004 citados por Ramírez *et al.*, 2012).

Arabi *et al* (2002) investigaron el efecto de la aplicación foliar y al suelo de K₂SO₄ (36% K), sobre el rendimiento de trigo y la severidad de *Septoria tritici* agente causal de la mancha de trigo. En este trabajo se evaluó una aplicación foliar, una aplicación al suelo, dos combinaciones entre estos tratamientos y un testigo sin fertilización. El nivel de infección en todos los tratamientos se redujo; y se presentó incremento del rendimiento de grano entre 34-120% para 1998 y 80-170% en 1999, esto con la aplicación de 5 g/L de K foliar más 60 kg/ha de K al suelo.

En cultivos de *Cucumis sativus* L. bajo invernadero, se demostró que soluciones de mono fosfato de K, difosfatos de K y nitrato de K, aplicados foliarmente son altamente protectores contra el mildew polvoso causado por *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht.:Fr.). La enfermedad logró un control eficiente y no presentó diferencias

significativas con un fungicida sistémico, esto al suprimir notablemente las colonias del moho polvoriento en el follaje de las plantas inoculadas. Con los resultados se concluyó que estas sales no presentan fitotoxicidad y son ideales para el control de enfermedades en el invernadero (Reuveni *et al.*, 1999).

Ramírez *et al* (2012) evaluaron el efecto individual de los inductores de resistencia acibenzolar-s-metil (ASM) y fosfito de potasio (K_3PO_3), y la mezcla con propiconazole sobre la severidad de las Sigatokas negra y amarilla del plátano Dominicano Hartón (*Musa* AAB). Como resultado de las evaluaciones, los autores observaron que la aplicación del K_3PO_3 tuvo un efecto significativo sobre la tasa de desarrollo de la enfermedad, al estar dentro de las más bajas junto a los tratamientos que involucraron la aplicación de ASM más propiconazole y propiconazole aplicados individualmente.

2.9.4 Calcio

La concentración del Ca en los tejidos de las plantas y su efecto sobre la incidencia de las enfermedades se centra en tres aspectos: 1) el Ca juega un papel importante en el reconocimiento de los patógenos cuando invaden la membrana plasmática, ya que segundos después de la invasión del microorganismo, se presentan cambios en el potencial de las membranas y se incrementa la concentración de este elemento en citoplasma, el cual actúa como señalizador de defensa; (2) el Ca es esencial para la estabilidad de las biomembranas, al presentarse deficiencia de Ca, se incrementa el flujo de salida de compuestos de bajo peso molecular (azúcares) desde el citoplasma en el apoplasto y 3), el Ca es componente fundamental del poligalacturonato de Ca, el cual se requiere en la lamela media de la pared celular para dar estabilidad a esta (Huber *et al.*, 2012).

Diversos hongos invaden los tejidos de las plantas por la producción de enzimas pectolíticas tales como poligalacturonasa que disuelven la lamela media, a pesar de ello, la actividad de esta enzima puede ser inhibida cuando aumenta la concentración de Ca en los tejidos, a la vez que contribuye en la formación de barreras físicas protectoras a la penetración de dichos organismos (Fallahi *et al.*, 1997; Spann y Schumann, 2010).

Teniendo presente que el Ca es considerado como el mensajero más importante en la modulación y adaptación de diversos procesos en respuesta a estímulos fisiológicos; una de las estrategias de resistencia frente al ataque microorganismos fitopatógenos se inicia por el reconocimiento de Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMPs) por Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRR), tales como la proteína flagelina de 22 aminoácidos en el dominio N-terminal y componente importante del flagelo de las eubacterias (flg22); el péptido de 13 aminoácidos de la membrana celular de *Phytophthora sojae* (Pep13), que desencadena respuestas defensivas en plantas de la familia Solanaceae, y componentes de la membrana celular de hongos tales como β -glucanos, ergosterol, o quitina (Ojito-Ramos y Portal, 2010; Cheval *et al.*, 2013).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Una vez los PAMPs son reconocidos por los PRRs, en las células vegetales se activan eventos de señalización incluyendo la generación de señales de Ca^{2+} , el estallido oxidativo, la producción de hormonas y cascadas de fosforilación, lo que conlleva a la respuesta cuantitativa del sistema inmune en plantas, proceso en el cual los patógenos pueden ofertar una amplia gama de efectores que suprimen la Inmunidad Producida por PAMPs (PTI) en las plantas, para contrarrestar la defensa basal, permitiendo así la propagación de patógenos en el tejido y el desarrollo de la enfermedad (Cheval *et al.*, 2013).

Garantizar niveles adecuados de Ca en las plantas mediante aplicaciones al suelo, follaje y frutos, trae beneficios agronómicos al reducir la incidencia y severidad de las enfermedades de mayor importancia económica, por ejemplo, formas que alteran el pH, tales como la cal, pueden afectar el desarrollo de enfermedades mediante cambios en el pH de los suelos, mientras que los aniones que contiene esta sal, tales como propionato y sorbato, pueden ser compuestos inhibitorios de los patógenos en virtud de su toxicidad (Rahman y Punja, 2007).

Wisniewski *et al.* (1995) evaluaron el efecto *in vitro* de sales de Ca y Mg sobre la germinación y el metabolismo de *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum*, así como el efecto sobre la actividad biológica y biocontroladora de dos aislamientos (182 y 247) de la levadura *Candida oleophila*. Concentraciones de CaCl_2 (25-175 mM) mostraron disminución de la germinación de las esporas y el crecimiento del tubo germinativo de ambos patógenos, siendo mayor en *B. cinérea*; mientras que el MgCl_2 no tuvo ningún efecto sobre los patógenos, lo cual permitió concluir que el catión Ca en lugar del anión Cl, fue el responsable de la inhibición. Por otro lado, la actividad biocontroladora del aislamiento 182 se vio mejorada con la adición de 90 a 180 mM CaCl_2 , manteniendo su metabolismo normal en la presencia de niveles tóxicos de Ca.

Este mismo compuesto (CaCl_2) inhibió significativamente el crecimiento *in vitro* de *Rhizopus stolonifer* agente causal de la pudrición de poscosecha, así como la incidencia de la enfermedad y el desarrollo de lesiones en las frutas de melocotón. Los investigadores encargados de desarrollar esta investigación, concluyeron que la adición de Ca induce bajas tasas de germinación de esporas, lento crecimiento de los tubos germinativos, y menor incidencia y severidad de la enfermedad (Tian *et al.*, 2002).

Sugimoto *et al.* (2008), en condiciones *in vitro* estudiaron los efectos de formiatos de Ca (sal cálcica) sobre el crecimiento y la liberación de zoosporas del *P. sojae*, agente causal de la pudrición del tallo de la soya. Entre los tratamientos evaluados, el $\text{Ca}(\text{COOH})_2\text{-A}$ fue el más eficaz en la supresión de la incidencia de la enfermedad. Los investigadores además anotan que en la mayoría de los casos, no se observó una relación significativa entre la inhibición de la tasa de crecimiento *in vitro* y la enfermedad en las pruebas de cámara de crecimiento, con lo cual

concluyeron que la supresión de la enfermedad registrada en los experimentos de laboratorio, utilizando micelio del patógeno, probablemente fue debido a las respuestas de los tejidos de las plantas en lugar de una inhibición directa sobre el desarrollo del hongo patógenos. Por ende, la expresión de la reducción de la enfermedad estuvo relacionada con el aumento de la absorción de Ca por las plantas, lo que sugiere que el Ca fue eficaz en la reducción de la pudrición del tallo.

3. Metodología

3.1 Localización e instalación del experimento

El experimento se ubicó en un invernadero del Centro de Investigación Tibaitatá, perteneciente a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA, ubicado en el kilómetro 14, vía Bogotá – Mosquera en el departamento de Cundinamarca, con latitud Norte 4° 42' y longitud Oeste 74° 12', temperatura promedio 18°C, humedad relativa del 80% y altitud de 2600 m.s.n.m.

El material vegetal utilizado correspondió a plántulas de mora castilla (*Rubus glaucus* Benth) con espigas de seis a siete meses de edad, propagada de manera sexual y adquiridas en el vivero Semigar (registro ICA – resolución 001027 de 2009) ubicado en el Km 32 vía Bogotá – Silvania, sector San Raimundo. El material utilizado en la presente investigación, es ampliamente usado por productores de mora en el departamento de Cundinamarca y presenta susceptibilidad a antracnosis.

Las plántulas adquiridas contaron con tallos de 0,5 mm de diámetro, altura de 5 a 9 cm y área foliar de 6 a 9 cm². El material se trasplantó en bolsas plásticas con 1.500 g de sustrato compuesto por una mezcla de turba: cascarilla de arroz en relación 3:1, previamente esterilizado mediante un ciclo 60 min en autoclave (Figura 15).

El experimento contó con la instalación de una estación meteorológica automática DAVIS “Vintage Pro2™”, para el registro de variables climáticas. Este tipo de estación cuenta con sensores de temperatura y humedad relativa del aire (termohigrómetro), un anemómetro con veleta, un pluviómetro de balancín con un cono de entrada de 165 mm de diámetro, así como sensores de radiación solar y ultravioleta. Se recopilaban datos de temperatura (°C), humedad relativa (% HR) y radiación solar (W/m²). Estos datos fueron descargados a un ordenador mediante un datalogger incorporado en la consola que recibe los datos (Figura 16).



Figura 15. Instalación del experimento en invernadero. Plántulas (izquierda), esterilización del sustrato en autoclave (centro) y trasplante de plántulas en bolsas plásticas (derecha) (Fotos: Autor).



Figura 16. Estación meteorológica marca DAVIS “Vintage Pro 2” empleada para el registro de variables climáticas (Fotos: Autor).

3.2 Tratamientos

A partir de los estudios realizados por Bolaños-Benavides (2016), se evaluaron cinco niveles de nutrientes correspondientes a la dosis mínima, media, máxima y extremos axiales, representados como mínimas-mínimas y máximas-máximas.

Para el cálculo de dichos niveles se partió de las dosis reportadas por Vayas (2000) en su estudio sobre el efecto de la fertilización fraccionada durante 12 meses para el cultivo de mora (Tabla 6).

Se procedió a calcular la dosis en gramos por planta para una hectárea, durante los 12 meses (Tabla 7). Seguido a esto, se identificaron las dosis en gramos para la etapa vegetativa del cultivo (cuatro meses) (Tabla 8 y 9).

Posteriormente, se calcularon las dosis mínimas (25%), medias (50%) y máximas (75%), según lo reportado por Artunduaga (2010) en su estudio sobre el efecto de la nutrición en el cultivo de mora en ecotipos con y sin espinas. Finalmente, con los niveles obtenidos, se procedió a ajustar los alfas axiales para cada elemento, obtener las dosis mínimas-mínimas y máximas-máximas (Tabla 10), así como la cantidad de tratamientos a evaluar (Tabla 11).

Tabla 6. Reporte de demanda de macronutrientes en kg/ha por 12 meses según Vayas (2000).

N	P	K	Ca
380	240	960	240

Tabla 7. Cálculo de dosis kg/planta durante 12 meses.

N	P	K	Ca
0,19	0,12	0,48	0,12

Tabla 8. Cálculo de dosis g/planta/ha durante 12 meses.

N	P	K	Ca
190	120	480	120

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Tabla 9. Cálculo de dosis g/planta durante cuatro meses.

N	P	K	Ca
63	40	160	40

Tabla 10. Ajuste de dosis al 25%, 50%, 75% y extremos axiales.

DOSIS / ELEMENTO	N	P	K	Ca
Mínima-mínima (Axial)	9	3	14	9
Mínima	16	12	24	12
Media	32	35	48	20
Máxima	48	57	72	28
Máxima-máxima (Axial)	55	66	82	31

Dado que la evaluación de los tres niveles (dosis) iniciales para cada nutriente bajo una estructura factorial 3*3*3*3, genera un total de 81 tratamientos, se recurrió al uso de un diseño de tratamientos central compuesto, desarrollado por Box y Wilson (1951), y el cual ha sido aplicado en estudios de fertilidad (Cady y Laird, 1973; Gómez, 1997). Partiendo de las anteriores consideraciones, se estimó mediante la siguiente ecuación el número de tratamientos a implementar:

$$2^k + 2 * k + 1$$

Donde k es el número de factores o nutrimentos (4), de esta manera se obtuvo:

$$2^4 + 2 * 4 + 1$$

$$16 + 8 + 1 = 25 \text{ Tratamientos con cuatro dosis}$$

La cantidad total de los elementos por tratamiento se dosificó semanalmente, preparando una solución nutritiva de acuerdo a los tratamientos e incrementando la dosis durante cuatro meses, aplicando 60 ml de solución por planta.

Los reactivos utilizados para la preparación de las soluciones fueron ácido nítrico (NHO₃), cloruro de calcio dihidratado (CaCl 2H₂O), cloruro de potasio (KCl), difosfato de amonio [(NH₄)₂ HPO₄], sulfato de magnesio heptahidratado (MgSO₄ 7H₂O), nitrato de calcio tetrahidratado [Ca(NO₃)₂ 4H₂O], nitrato de potasio (KNO₃), sulfato de potasio (K₂SO₄) e hidróxido de sodio (NaOH) (Figura 17).

Inicialmente se prepararon soluciones madre al 1M y se modificó la concentración de N, P, K y Ca en los tratamientos, conservando las concentraciones originales de Mg, S y microelementos de la solución nutritiva de Hoagland y Arnon (Anexo 1).

Se procuró por nivelar la alcalinidad y acidez de las soluciones en un rango de pH 5,5 a 6,5 mediante la aplicación de NaOH para equilibrar los procesos de óxido-reducción y la solubilidad de los compuestos (Figura 17).

Tabla 11. Tratamientos en etapa vegetativa.

TRATAMIENTO	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO
Gramos nutriente/planta				
1	16	12	24	12
2	48	12	24	12
3	16	57	24	12
4	48	57	24	12
5	16	12	72	12
6	48	12	72	12
7	16	57	72	12
8	48	57	72	12
9	16	12	24	28
10	48	12	24	28
11	16	57	24	28
12	48	57	24	28
13	16	12	72	28
14	48	12	72	28
15	16	57	72	28
16	48	57	72	28
17	9	35	48	20
18	55	35	48	20
19	32	3	48	20
20	32	66	48	20
21	32	35	14	20
22	32	35	82	20
23	32	35	48	9
24	32	35	48	31
25	32	35	48	20



Figura 17. Preparación de las soluciones nutritivas (Fotos: Autor).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

3.3 Evaluación de la enfermedad

Se empleó la Cepa 52 de *C. gloeosporioides* caracterizada morfológica y molecularmente por investigadores de Centro de Investigación La Selva de CORPOICA (Saldarriaga *et al.*, 2012). La cepa 52 corresponde a un aislamiento obtenido de tallos de mora, colectado en la finca Zarzal en el municipio de La Ceja, vereda La Loma, en el departamento de Antioquia, ubicada a los 2.072 m.s.n.m., 5°57.555 N y 75°287.94 W. La cepa 52 es considerada como patogénica al cultivo de mora, cuenta con un periodo de incubación 9,2 días y 11,4 días latencia, y sensibilidad al benomil. Morfológicamente, las colonias presenta colores que van de gris a verde oliva y verde grisáceo, así como la presencia de bandas de colores, microscópicamente presenta conidias ovoides a oblongas con una leve constricción y un tamaño de 16,2 a 0,5 μm (Saldarriaga *et al.*, 2012).

Reactivación de la cepa 52. El proceso de reactivación se llevó a cabo en los laboratorios de microbiología agrícola de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - CORPOICA, Centro de Investigación Tibaitatá, ubicado en el kilómetro 14, vía Bogotá – Mosquera en el departamento de Cundinamarca, con latitud Norte 4° 42' y longitud Oeste 74° 12', temperatura media de 13,1°C, humedad relativa del 80% y altitud de 2600 m.s.n.m. La reactivación de la cepa 52 se realizó a partir del micelio de un cultivo monospórico donado por CORPOICA, el cual se encontró previamente conservado en papel filtro a una temperatura de -20°C. Con una tijera estéril el papel filtro se cortó en pequeños trozos, los cuales se sembraron en cajas de Petri con medio de cultivo Potato Dextrose Agar (PDA). Las cajas de Petri se sellaron con Vinilpel y posteriormente fueron incubadas bajo condiciones asépticas a 25°C durante ocho días (Figura 18).

Inoculación artificial de tallos. Ocho días después de las siembras de reactivación en medio de cultivo PDA, mediante un sacabocado de 0,5 cm se cortaron 375 discos, los cuales fueron colocados sobre un tallo de cada planta previamente húmedo con agua destilada, a los 53 días después de iniciado el experimento (ddie). Seguido a esto, los discos fueron cubiertos con cinta de parafinada, revisando semanalmente el estado de los tejidos para verificar la viabilidad de la inoculación (Figura 19). Previa inoculación, se calculó la cantidad de esporas por disco de micelio mediante conteo de células en cámara de Neubauer (Figura 20). El procedimiento inició con el corte de los discos de agar y su posterior colocación en tubos con agua dionizada. Dichos tubos fueron agitados durante varios minutos y a partir de su contenido, mediante una micropipeta se tomaron 10 μl de la mezcla para colocarlos sobre la cámara. Este paso requirió de la colocación de la punta de la pipeta en el borde de un cubreobjetos en el extremo de la cámara, esperando que el líquido penetrara por capilaridad. Finalmente, mediante el microscopio se realizó el recuento en los cuatro cuadros grandes en los extremos de la cámara, observando los recuadros en forma de zig-zag y registrando la cantidad de células. Como resultado de este

procedimiento, se concluyó que los discos inoculados sobre los tallos de las plantas tuvieron una concentración de $9,53 \times 10^4$ (Figura 20).

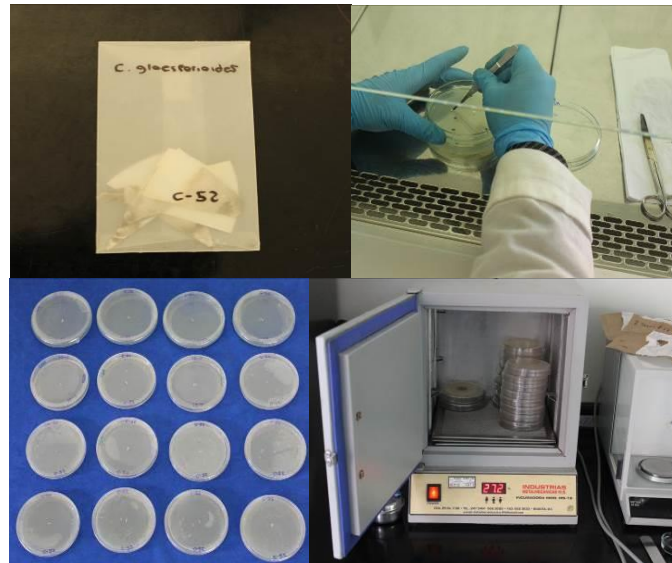


Figura 18. Reactivación de la CEPA 52 de *C. gloeosporioides* (Fotos: Autor).

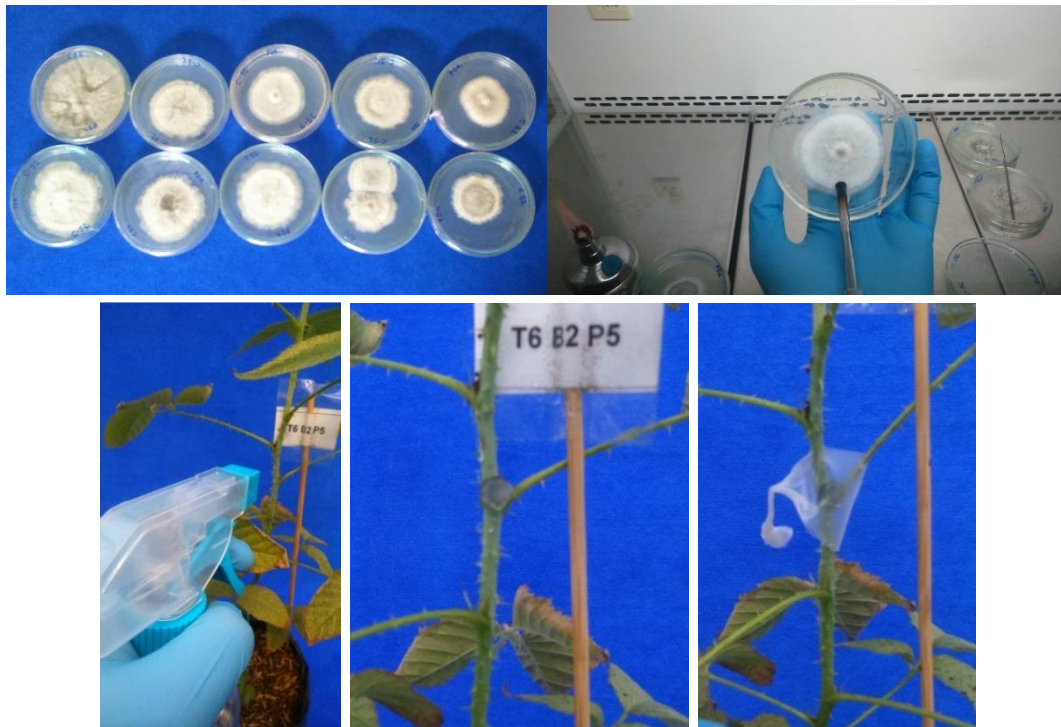


Figura 19. Proceso de inoculación de tallos de mora castilla con espinas mediante discos de micelio de la cepa 52. Arriba de izquierda a derecha: reactivación y cortes de discos con micelio. Debajo de izquierda a derecha: tallo humedecido con agua destilada, colocación de disco en el tejido y cubrimiento del mismo con cinta parafinada (Fotos: Autor).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

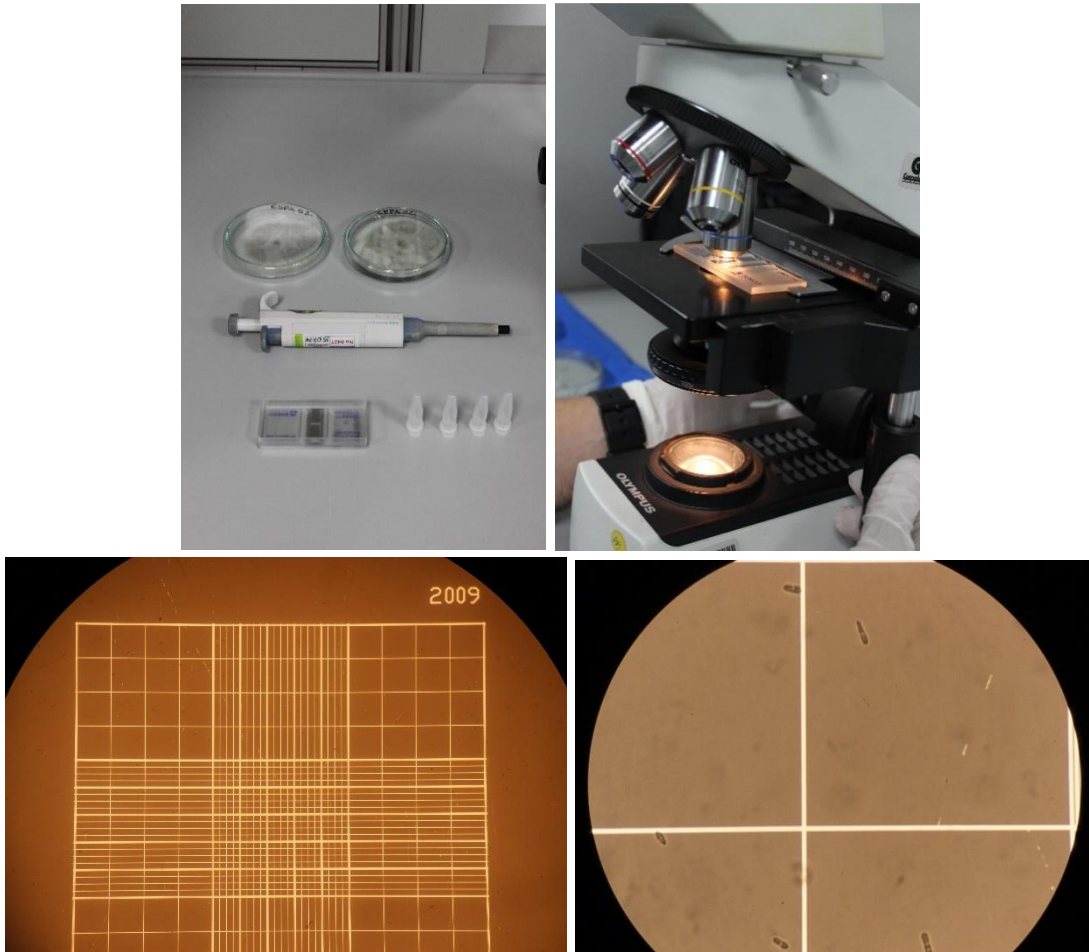


Figura 20. Conteo de esporas de la cepa 52 en discos de agar en cámara de Neubauer. Arriba: Proceso de disolución de células para observación microscópica. Abajo: células observadas en objetivos 20X y 40X (Fotos: Autor).

Severidad de la enfermedad. Después de la inoculación, semanalmente se estimó el índice de severidad de la enfermedad en tallos mediante un diagrama de severidad modificado y de autoría propia, a partir de un diagrama estándar elaborado por López *et al* (2013). Este último representa de manera ilustrativa diversos grados de severidad de la enfermedad (1%, 5%, 10%, 25% y 50%) distribuidos en cinco clases. Para homogenizar el diagrama desarrollado en la presente investigación, se colectó material con síntomas de antracnosis en condiciones de campo en la finca La Península, vereda Aguabonita, en el municipio de Sylvania, departamento de Cundinamarca, ubicada espacialmente en la latitud Norte 4°25'37.8", longitud Oeste 74°20'22.4" a 2.170 msnm.

Una vez realizado el reconocimiento de la sintomatología, se procedió a la elaboración de una escala diagramática de severidad mediante la relación entre el tejido sano y el peso de este. Considerando de antemano, que la severidad expresa

el área de tejido de la planta afectada por la enfermedad, involucra el tipo de tejido así como el tamaño y la frecuencia de las lesiones (Castaño-Zapata, 2002).

Este proceso inició con el trazo de un tallo representativo de mora sobre una hoja de papel grueso. Dicha figura denominada molde, fue recortada, pesada y trazada sobre una hoja en blanco, la cual posteriormente se digitalizó. Mediante el software libre ImageJ (Rasband, 2007), se le calculó el área superficial la cual se fijó como medida de referencia para las siguientes imágenes y correspondió al 100% del tejido sano (Figura 21).



Figura 21. Diseño de escala de severidad. Izquierda a derecha: daño observado en tallos de mora; figura molde; pesaje de la figura molde; corte simulando las lesiones y digitalización de la imagen (Fotos: Autor).

Sobre la figura molde se dibujó la lesión inicial producto de la inoculación con el disco, la cual fue recortada y retirada del molde, procediendo a pesar este una vez más, delineando su figura y digitalizándola nuevamente. Este paso se repitió hasta agotar el área de manera considerable; los datos de áreas y pesos se relacionaron mediante regresión simple para hallar los coeficientes de correlación y así estimar el porcentaje del área afectada (Navarro & Arauz, 1999).

La medición del área afectada en el software inició con la apertura de cada imagen digitalizada, dichas imágenes contenían un rectángulo de 1 x 2 cm como imagen de referencia. Sobre el rectángulo se trazó una línea y posteriormente se utilizaron de manera secuencial los comandos **Analyze>Set Scale>Known distance: 1, Unit of length: cm y Global scale**, proceso que permitió generar un patrón de medida para el cálculo de las áreas. Una vez definido el patrón de medida (Set Scale), se utilizó el comando **Wand (tracing) tool** y se amplió el rango de medida mediante la opción **Tolerance**. Finalmente, una vez definido el contorno del tejido afectado, se procedió a calcular el área de este mediante los comandos **Analyze>Measure** (Figura 22).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

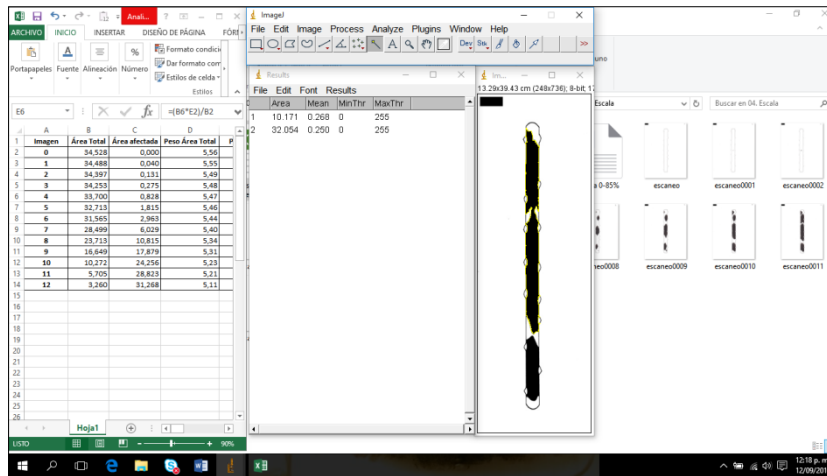


Figura 22. Medición del área afectada mediante el software ImageJ.

Se realizó el análisis de regresión sobre los pesos y áreas de los tallos de la escala, el cual mostró ajuste a un modelo lineal. El p-valor en el análisis de varianza fue menor a 0,05, lo cual reveló una relación estadísticamente significativa entre el área y el peso. El estadístico R cuadrado (R^2) indicó que el modelo ajustado explica el 94,34% de la variabilidad del área; mientras que el coeficiente de correlación fue igual a 0,971, indicando una relación altamente significativa entre las variables (Figura 23).

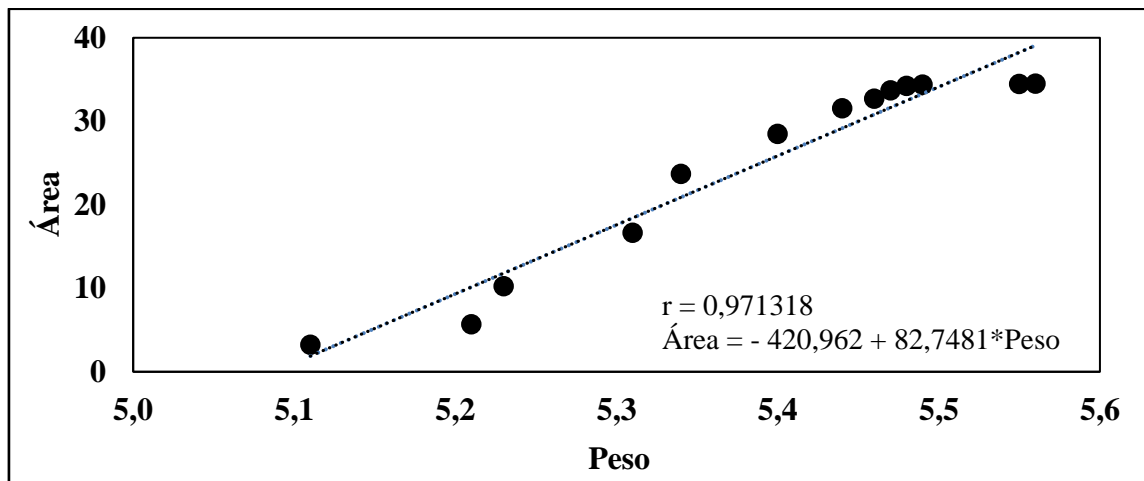


Figura 23. Relación entre el peso del tallo y su área superficial.

De acuerdo a la relación encontrada, se consideró el tallo sin síntomas como el cero por ciento de severidad y a partir de esta se organizaron en orden ascendente hasta el 91% (Figura 24). Finalmente, se escogió dentro de los diseños creados los porcentajes de severidad correspondientes al 0%, 1%, 5%, 10%, 25%, 50% y 85% para consolidar los grados de la escala, utilizarla en el experimento y registrar los datos correspondientes a cada tratamiento (Figura 25).

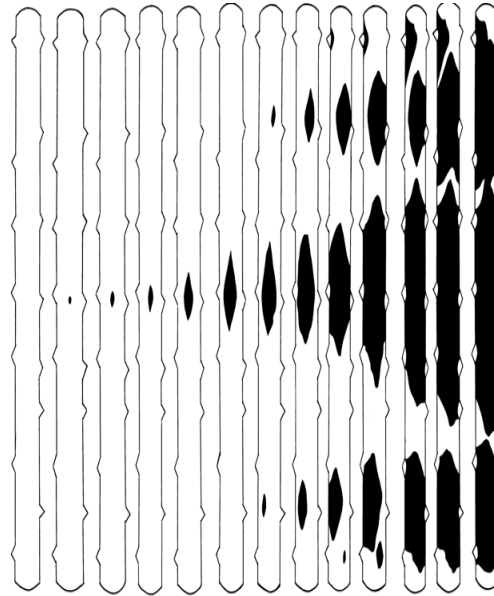


Figura 24. Escala diagramática de severidad de cero al 91 por ciento de acuerdo a la relación área foliar y peso del tallo.

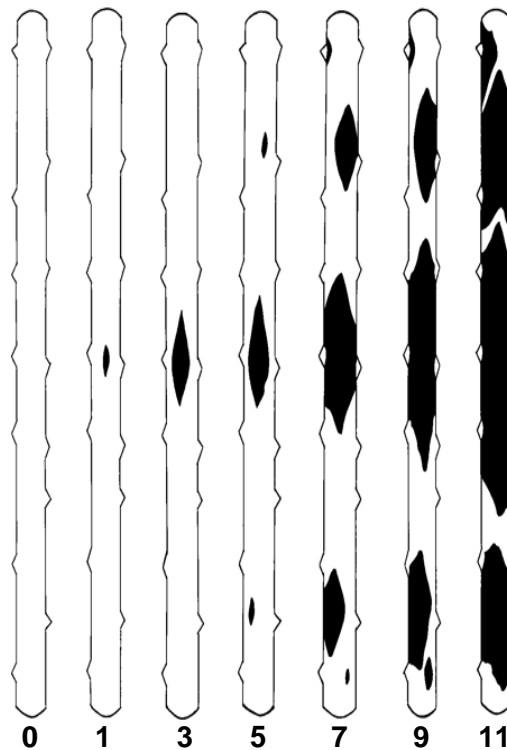


Figura 25. Diagrama de severidad de la antracnosis en tallos de plántulas de mora inoculados con discos de agar (Modificado de López *et al.*, 2013). 0: Sin lesión aparente o 0% del tejido afectado. 1: 1% del tejido afectado. 3: 5% del tejido afectado. 5: 10% del tejido afectado. 7: 25% del tejido. 9: 50% del tejido afectado. 11: 85% del tejido afectado.

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Semanalmente y durante 56 días, se calculó la severidad de la enfermedad (S) mediante la siguiente ecuación:

$$IS (\%) = \frac{\sum(n * b)}{N}$$

Dónde:

IS (%) = Índice de severidad de la enfermedad expresada en el porcentaje de tejido afectado.

n = Número de unidades de muestreo clasificadas en cada grado.

b = Grado de severidad.

N = Número total de unidades de muestreo observadas.

Una vez identificada la S, se calculó la tasa de desarrollo (r) mediante la siguiente ecuación (Castaño-Zapata, 2002):

$$r = \frac{1}{t_1 - t_0} \left(\text{Log}_e \frac{X_1}{1 - X_1} - \text{Log}_e \frac{X_0}{1 - X_0} \right)$$

Donde.

r = Tasa de desarrollo de la enfermedad.

t₁ = Tiempo final.

t₀ = Tiempo inicial.

X₁ = Severidad final.

X₀ = Severidad inicial.

Finalmente, con la información obtenida semanalmente, se calculó el periodo de incubación (PI), definido como el número de días transcurridos desde la inoculación hasta que los tallos de las plantas presentaran síntomas de antracnosis.

Reislamiento de la cepa 52. El proceso se llevó a cabo los laboratorios de Microbiología Agrícola del Centro de Investigación Tibaitatá de CORPOICA. Para ello se tomaron muestras representativas del tercio medio de tallos sintomáticos en cada uno de los tratamientos, a partir de los cuales se realizó un reislamiento para confirmar que las lesiones observadas fueron causadas por el microorganismo inoculado. Inicialmente, los tallos se lavaron con agua corriente, posteriormente fueron sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 2,5% durante un minuto; seguido a esto, el material se lavó con agua destilada estéril y puesto en alcohol al 70% durante un minuto; finalmente, los tallos tratados se lavaron nuevamente con agua destilada estéril para su posterior siembra en medio de cultivo. En la cámara de flujo laminar, se procedió a cortar en fragmentos los tallos con las lesiones, los cuales se sembraron en cajas de Petri con medio de cultivo PDA previamente acidificado con ácido láctico al 50%. Las cajas se sellaron e

incubaron a 25°C y se verificó el desarrollo y pureza de los aislamientos. Se realizó un repique de las siembras para observar las características macroscópicas de los aislamientos en el medio de cultivo, así como montajes al microscopio para la observación de las estructuras reproductivas. Para este proceso se requirió la reactivación de la cepa 52 utilizada en la inoculación como patrón de comparación y la descripción de la cepa dada por Saldarriaga *et al.* (2012) (Figura 26).

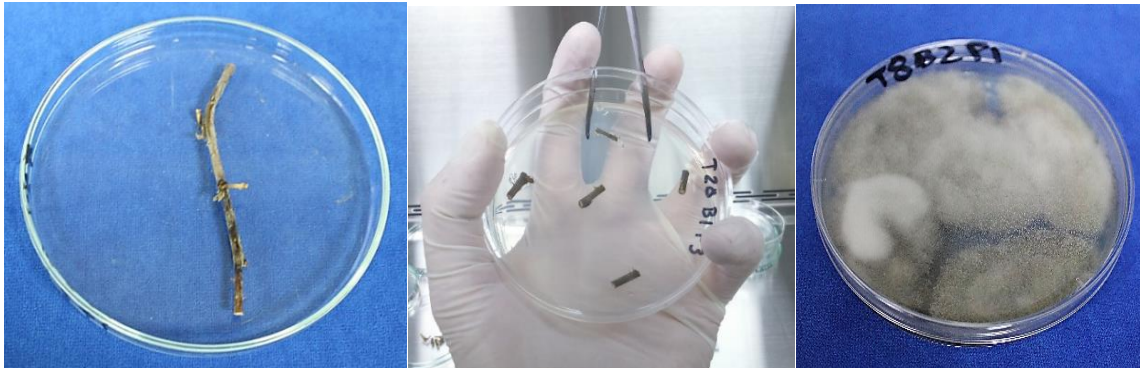


Figura 26. Reaislamiento de la cepa 52 a partir de tallos sintomáticos (Fotos: Autor).

Prueba biológica. Con el fin de constatar que los hongos aislados de las lesiones de tallos correspondían a la cepa utilizada en la inoculación inicial, se realizó una prueba de sensibilidad *in vitro* a los fungicidas benomil e hidróxido de cobre $[Cu(OH)_2]$, a una concentración de 250 ppm y 2460 ppm, respectivamente. En esta prueba se empleó como control la cepa 1164 de *C. acutatum* aislada del cultivo de mora y donada del cepario del laboratorio de fitopatología de CORPOICA – Tibaitatá; así como los repiques obtenidos a partir del tejido recolectado en los tratamientos evaluados (Figura 27). En este sentido, los fungicidas utilizados permiten diferenciar las especies *acutatum* y *gloeosporioides*, en cuanto a sus características macroscópicas y su velocidad de crecimiento en los medios.

Para el caso de la cepa 1164 de *C. acutatum* utilizada en el experimento, esta presentó tonalidades blancas a gris claro con una esporulación central de color amarillo rojizo a amarillo pálido; así como conidias rectas, fusiformes con extremos agudos coincidiendo con lo reportado por otros autores (Bailey y Jeger, 1992; Afanador *et al.*, 2010, 2014).

La metodología consistió en realizar la mezcla de la dosis comercial de los fungicidas con el medio de cultivo agar PDA acidificado. Posteriormente se procedió a la siembra de discos de 0,5 mm de cada aislamiento en el centro de las cajas de Petri. Se llevó a cabo la medición del crecimiento micelial a partir del segundo día de la siembra en laboratorio hasta el día 10.

El efecto de los dos fungicidas sobre el crecimiento micelial se evaluó de manera independiente, empleando un diseño completamente al azar (DCA), compuesto por tres repeticiones y un testigo experimental correspondiente a la cepa 1164 de *C. acutatum* (Figura 28).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

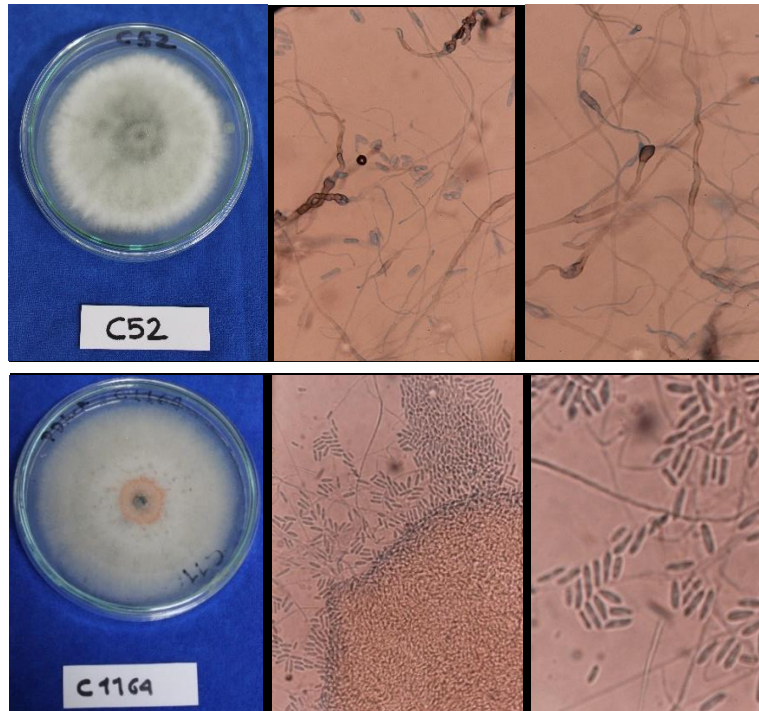


Figura 27. Características macroscópicas y microscópicas de *C. gloeosporioides* cepa 52 utilizada en la inoculación de plantas de mora (arriba) y *C. acutatum* cepa 1164 utilizada como control (abajo) (Fotos: Autor).

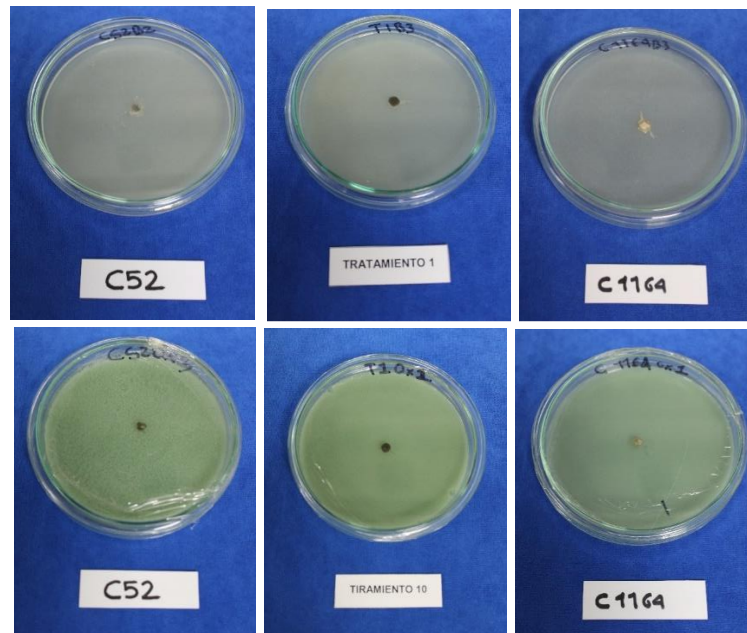


Figura 28. Siembra de discos para pruebas de sensibilidad a fungicidas. Arriba medio PDA en mezcla con benomil y abajo medio PDA en mezcla con hidróxido de cobre (Fotos: Autor).

3.4 Evaluación variables fisiológicas

Semanalmente y durante 122 días, se realizó el seguimiento de variables fisiológicas sobre las plantas tratadas con las soluciones nutritivas e inoculadas con la cepa 52 de *C. gloeosporioides* (Figura 29).

Estimación del contenido de clorofila. Se registró el Índice de Contenido de Clorofilas (ICC) mediante un clorofilómetro portátil (Chlorophyll Conter Meter CCM-200, Opti-Science, USA), realizando tres lecturas sobre un foliolo del tercer trifolio totalmente expandido.

Crecimiento. Se registró la altura (cm) desde la base del tallo al ápice de la planta utilizando cinta métrica (a) y el diámetro del tallo (mm) (b) a un centímetro de la base mediante un calibrador digital (Vernier 8 in - 3416) (c) (Figura 29). Por otro lado, al inicio y al final de las evaluaciones, se calculó el área foliar de las plantas utilizadas en el experimento (Figura 29 d), mediante imágenes digitales capturadas con una cámara Canon EOS Rebel T3i y procesadas en el software libre ImageJ (Rasband, 2007).



Figura 29. Medición de variables fisiológicas sobre las plantas tratadas. a) Altura de la planta. b) Diámetro del tallo. c) Calibrador digital. d) Plantas utilizadas en el experimento (Fotos: Autor).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Para la medición de las hojas, se procedió a abrir cada una de las fotografías y se fijó una medida de referencia a partir de una imagen en cada fotografía. Sobre la imagen de referencia se trazó una línea y posteriormente se utilizaron de manera secuencial los comandos **Analyze>Set Scale>Known distance: 3,6, Unit of length: cm y Global scale**. Seguido a esto, se dio contraste a blanco y negro a la imagen mediante los comandos **Image>Type>8-Bit>; Image>Adjust>Threshold**. Finalmente, con la imagen en blanco y negro, se calculó el área mediante los comandos **Analyze>Analyze; Particles>0.1-infinity; Analyze Particles>Summarize** (Figura 30).

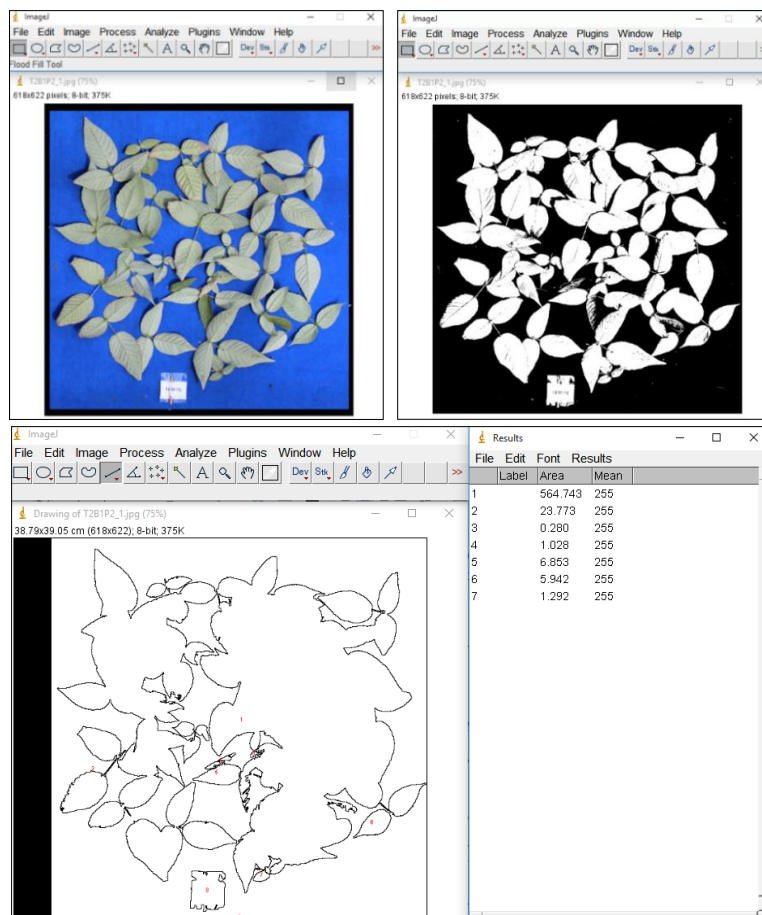


Figura 30. Cálculo de área foliar mediante el software libre ImageJ.

3.5 Manejo de plántulas

Teniendo en cuenta el objetivo de la investigación, no se realizaron podas sanitarias y/o aplicación de fungicidas específicos para el microorganismo en estudio, esto con el fin de estimular el establecimiento efectivo de la enfermedad sobre las plantas inoculadas. Por otro lado, con el fin de evitar la afectación del experimento a causa de patógenos ajenos al experimento, se llevó a cabo un

manejo preventivo de *Oidium* spp., agente causal del mildew polvoso, mediante la aplicación de un fungicida protectante a base de azufre elemental de acuerdo a la incidencia del mildew sobre las unidades experimentales.

3.6 Nivel de nutrientes en tejidos de mora

Al final de las evaluaciones, se colectaron las plantas sobrevivientes a la inoculación del patógeno y se realizó un muestreo destructivo para identificar la relación entre los nutrimentos absorbidos por la planta en la parte aérea. Las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Suelos, Aguas y Foliar de CORPOICA (Centro de Investigación Tibaitatá, Mosquera Cundinamarca) para su respectivo procesamiento (Figura 31).

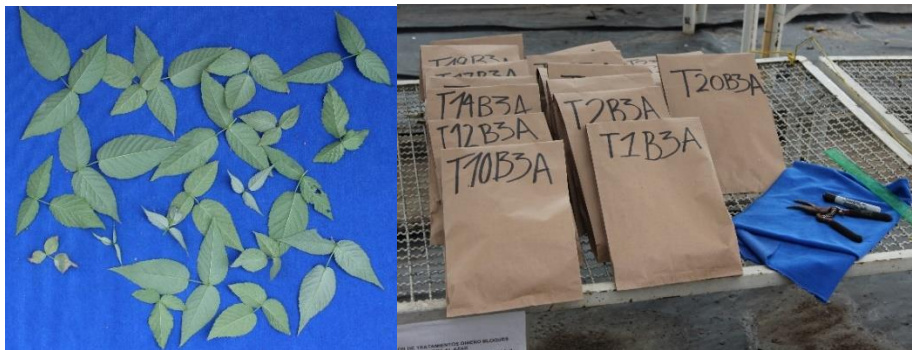


Figura 31. Colecta de material vegetal para análisis de tejido vegetal en laboratorio (Fotos: Autor).

3.7 Diseño experimental y análisis de datos

Se empleó un diseño experimental de bloques completos al azar con un arreglo de tratamientos correspondiente a un diseño compuesto central ortogonal y tres repeticiones, para un total de 375 plántulas ($25 \times 5 \times 3$). De acuerdo a los tratamientos a evaluar (Tabla 11) y los datos obtenidos en las evaluaciones, se estimó mediante un modelo cuadrático, los valores máximos y óptimos, así como las combinaciones óptimas de los nutrientes sobre la disminución de la severidad de la enfermedad y las mejores respuestas fisiológicas, mediante la generación de un modelo de superficie de respuesta correspondiente a un polinomio de segundo grado.

La superficie de respuesta se estimó de la siguiente forma:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 N + \beta_2 P + \beta_3 K + \beta_4 Ca + \beta_5 N^2 + \beta_6 P^2 + \beta_7 K^2 + \beta_8 Ca^2 + \beta_9 N*P + \beta_{10} N*K + \beta_{11} N*Ca + \beta_{12} P*K + \beta_{13} P*Ca + \beta_{14} K*Ca + \beta_{15} N*P*K + \beta_{16} N*P*Ca + \beta_{17} P*K*Ca + \beta_{18} N*P*K*Ca,$$

Dónde:

Y = Variable aleatoria observada (IS y/o variables fisiológicas).

β_i ($i = 0, 1, 2, \dots, 18$): Parámetros del modelo (coeficientes de regresión).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Las variables S y PI, fueron sometidas a un análisis de varianza (ANOVA) previa comprobación de los supuestos estadísticos del modelo asociado. Para detectar diferencias significativas entre tratamientos, se procedió a aplicar la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5% y así determinar los tratamientos de mejor respuesta.

Para evaluar la relación de los niveles de fertilización con la S, ICC, altura y diámetro, se empleó un análisis de regresión donde se ajustó una superficie de respuesta de las variables observadas en función de las diferentes dosis de nutrientes aplicados.

Al final del experimento, se realizaron análisis de correlación entre las variables S, ICC, altura, diámetro y área foliar; así como para los resultados obtenidos en los análisis de tejido foliar de las plantas inoculadas.

Todos los datos obtenidos se procesaron mediante los software Statistical Analysis System (SAS[®] 9.3), R (R Foundation for Statistical Computing) y Excel (Microsoft, 2013).

4. Resultados

4.1 Severidad de la enfermedad

El análisis de varianza realizado sobre el IS al día 122 ddie, permitió observar diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (T) (Tabla 12 y Anexo 2). De acuerdo con los resultados, se apreció que las plantas que recibieron el T23 presentó el menor IS con 7,58 %, seguido de las que recibieron el T21, T2 y T18, con el 18 %, 22 % y 28 %, respectivamente. Por otro lado, los T15 y T24 presentaron la mayor IS correspondiente a 100%, seguido de los T11, T7, T3 y T25, con 99 %, 90 %, 87 % y 83 %, respectivamente. Finalmente, en el resto de los tratamientos se registraron IS entre 29 % y 79 % (Tabla 12). Teniendo en cuenta las anteriores consideraciones, la menor *r* correspondió al T23, la cual fue de 0,0237. Por su parte, los tratamientos con IS superiores al 50% presentaron *r* entre 0,0340 y 0,0553. Referente al PI del patógeno, se apreció que los T23, T20, T8 y T6 presentaron el mejor resultado en esta variable al superar los 20 días después de realizada la inoculación (Tabla 12 y Figura 32).

Las condiciones climáticas presentadas durante el periodo de las evaluaciones, mostraron una temperatura máxima de 21 °C, media de 19 °C y mínima de 17 °C; en el caso de la humedad relativa, se registró una humedad máxima de 71 %, media de 57 % y mínima de 35 % (Figura 33). Previa inoculación con la cepa 52 de *C. gloeosporioides* (53 ddie), la temperatura promedio fue de 19 °C y disminuyó a 18 °C a partir de los 62 ddie, mientras que la humedad relativa en los dos periodos registró en promedio el 57 %.

Cuando se analizó la tendencia climática y el desarrollo de la enfermedad en las plantas a las que se les aplicó los T24 y T15, los cuales mostraron la mayor *r*, versus el T23 que presentó la menor (Figura 33), se apreció un crecimiento exponencial entre los 62 y 74 ddie, el cual se tornó lineal hasta los 110 ddie y finalizando con una tenencia a estabilizarse al acercarse al 100 % de severidad. En el periodo mencionado anteriormente, se registraron los mayores picos de humedad relativa a los 68, 102 y 110 ddie, que estuvieron a su vez acompañados de temperaturas inferiores a 19 °C.

Teniendo en cuentas las dosis aplicadas, el tratamiento de mejor respuesta en cuanto al IS (T23), estuvo compuesto por dosis medias de N, P y K (32, 35 y 48 g/planta); y la dosis mínima-mínima de Ca (9 g/planta). En este sentido, compartió dosis iguales para N y P con el T21; y P y K con el T18 (Tabla 12).

Por su parte, los tratamientos con IS superior a 79%, compartieron dosis mínimas de N (16 g/planta) en los T15, T11, T7 y T3 y dosis medias (32 g/planta) en los T24 y T25; dosis medias de P (35 g/planta) en los T24 y T25, y máximas (72 g/planta) en los T15, T11, T7 y T3; dosis mínima de K (24 g/planta) en los T11 y T3, media (48 g/planta) en los T24 y T25, y dosis máximas (72 g/planta) en los T15 y T7.

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Para el caso del Ca, se observó que los T7 y T3 compartieron la dosis mínima (12 g/planta); la dosis media se presentó en el T25 (20 g/planta); los T15 y T11 compartieron la dosis máxima (28 g/planta); mientras que la dosis máxima- máxima (31 g/planta) se apreció en el T24.

El análisis de correlación entre las variables evaluadas mostró relaciones significativas entre las mismas (Tabla 13). En este contexto, el IS se relacionó negativamente con el área foliar, la altura, el ICC y el diámetro, siendo estas dos últimas, las de mayor coeficiente de relación con valores de -0,711 y -0,776, respectivamente. En cuanto a las variables fisiológicas, es importante resaltar que las mayores relaciones positivas se observaron entre el ICC, el diámetro y el área foliar, con la altura de la planta.

Tabla 12. Índice de severidad (IS), tasa de desarrollo (r) y periodo de incubación de antracnosis en plantas inoculadas con la Cepa 52 de *C. gloeosporioides* a los 122 ddie.

Tratamiento	Gramos nutriente/planta				IS	r	PI
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO			
1	16	12	24	12	29,0 bcde	0,0268	15,0 ^{ns}
2	48	12	24	12	22,1 cde	0,0271	15,0
3	16	57	24	12	87,7 abc	0,0412	9,00
4	48	57	24	12	40,2 abcde	0,0269	9,00
5	16	12	72	12	28,7 bcde	0,0251	9,00
6	48	12	72	12	31,2 bcde	0,0272	21,0
7	16	57	72	12	90,4 ab	0,0410	9,00
8	48	57	72	12	38,4 abcde	0,0319	21,0
9	16	12	24	28	53,6 abcde	0,0340	15,0
10	48	12	24	28	41,5 abcde	0,0293	15,0
11	16	57	24	28	99,0 a	0,0538	9,00
12	48	57	24	28	28,3 bcde	0,0285	15,0
13	16	12	72	28	69,6 abcde	0,0347	15,0
14	48	12	72	28	60,1 abcde	0,0342	15,0
15	16	57	72	28	100 a	0,0553	9,00
16	48	57	72	28	72,0 abcde	0,0356	9,00
17	9	35	48	20	80,8 abcd	0,0370	9,00
18	55	35	48	20	28,1 bcde	0,0305	15,0
19	32	3	48	20	36,1 abcde	0,0275	15,0
20	32	66	48	20	57,0 abcde	0,0354	21,0
21	32	35	14	20	18,2 ed	0,0256	15,0
22	32	35	82	20	59,2 abcde	0,0433	15,0
23	32	35	48	9	7,58 e	0,0237	21,0
24	32	35	48	31	100 a	0,0549	9,00
25	32	35	48	20	83,4 abcd	0,0389	9,00

*Medidas seguidas de letras distintas denotan diferencias significativas, ns: no significativo según la prueba Tukey (p=0,05). S: Severidad (%). r: Tasa de desarrollo de la enfermedad. PI: Periodo de incubación (días).



Figura 32. Severidad en tallo por la inoculación de *C. gloeosporioides* en plantas de los tratamientos 23 (izquierda), 22 (centro) y 24 (dercha) a los 122 ddie (Fotos: Autor).

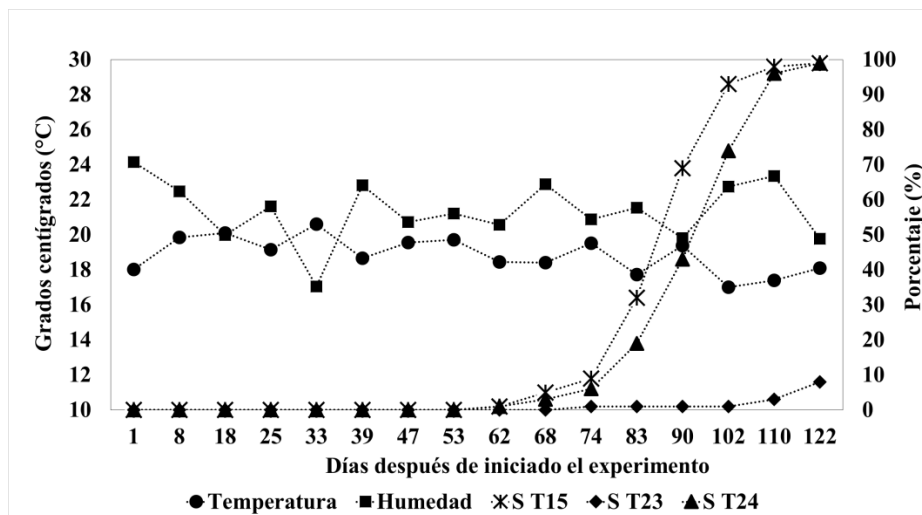


Figura 33. Severidad de *Colletotrichum* spp., en plantas que recibieron los tratamientos 15 (S T15), 23 (S T23) y 24 (S T24) con respecto a la temperatura (●) y la humedad relativa (■) durante 122 días de experimento.

Tabla 13. Correlación entre variables a los 122 ddie.

	IS	ICC	Altura (cm)	Diámetro (mm)
ICC	-0,711 <,0001			
Altura (cm)	-0,638 <,0001	0,805 <,0001		
Diámetro (mm)	-0,776 <,0001	0,711 <,0001	0,792 <,0001	
Área foliar (cm ²)	-0,497 <,0001	0,746 <,0001	0,584 <,0001	0,512 <,0001

*Coeficientes de correlación Pearson (p=0,05). N: 75. S: Severidad de enfermedad. ICC: Índice en el contenido de clorofilas.

La afectación de las plantas inoculadas fue coincidente con la reducción de las características fisiológicas. Al comparar las plantas, se observó que el material con los mayores porcentajes de severidad mostraron una clara disminución de la altura, así como el diámetro del tallo y el ICC (Figura 34).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero



Figura 34. Apariencia de plantas inoculación con *C. gloeosporioides* en los tratamientos 23 (izquierda), 10 (centro) y 24 (dercha) a los 122 ddie (Fotos: Autor).

Al observar las curvas de desarrollo de la enfermedad de los tratamientos en relación con el desarrollo fisiológico de las plantas, el ICC mostró un aumento gradual hasta los 33 dide en los T2, T8, T21, T22 y T23, los cuales en su respectivo orden, alcanzaron 22, 25, 20, 21 y 19 unidades ICC (UICC). Para las plantas que recibieron los T4, T5, T10, T12 y T18, dicho aumento se observó a los 53 ddie con valores de 22, 13, 18, 18 y 19 UICC, respectivamente. La tendencia en el ICC de los tratamientos mencionados, disminuyó progresivamente hasta el día 122, siendo los T23, T2 y T8 los de mayor valor con 9,49, 9,05 y 7,20 UICC (Figura 35 B e I; Figura 37 V). En las plantas bajo los tratamientos restantes (T1, T3, T6, T7, T9, T11, T11, T13, T14, T15, T16 y T17), se apreció un descenso progresivo sin ninguna tendencia de aumento en el ICC durante el periodo de evaluación. Los tratamientos que presentaron menor UICC fueron los T24 (0,0), T25 (1,10) T3 (1,26), T7 (1,30), T11 (1,80) y T17 (1,83); siendo más marcado a los ocho días después de la inoculación y presentando una disminución promedio de 16%, 60% y 87% a los 62, 83 y 122 ddie (Figura 35 C, H y J; Figura 36 P; Figura 37 W y X).

La variable altura mostró una tendencia exponencial de crecimiento en las plantas de todos los tratamientos exceptuando a los T3, T7, T9, T11, T13, T15, T17, T19, T22, T24 y T25. De estos, los T3, T9, T14, T17, T24 y T25, no superaron los 30 cm de altura (Figura 35 C, I; Figura 36 N y P; Figura 37 W y X). Para el resto de tratamientos, al finalizar el experimento registraron alturas de 33 cm hasta 82 cm, siendo los T14, T8, T18 y T23 los de que alcanzaron el mayor registro con 82,65 cm, 80,5 cm, 79,1 cm y 72,2 cm, respectivamente (Figura 36 N y Q; Figura 35 H; Figura 37 V). Finalmente, la variable diámetro tuvo un descenso constante durante los 15 muestreos realizados, el cual fue más marcado en las plantas de los T3, T7, T9, T11, T15, T19, T20, T22, T24 y T25, siendo los T24, T7 y T16 los que presentaron plantas de menor diámetro a los 122 ddie, con reducciones de 90 %, 45% y 36%, respectivamente (Figura 35 G; Figura 36 O y Figura 37 W). Por otro

lado, los T18, T21 y T23 alcanzaron los mayores registros con 2,71, 2,57 y 2,56 (Figura 36 Q; Figura 37 T y V).

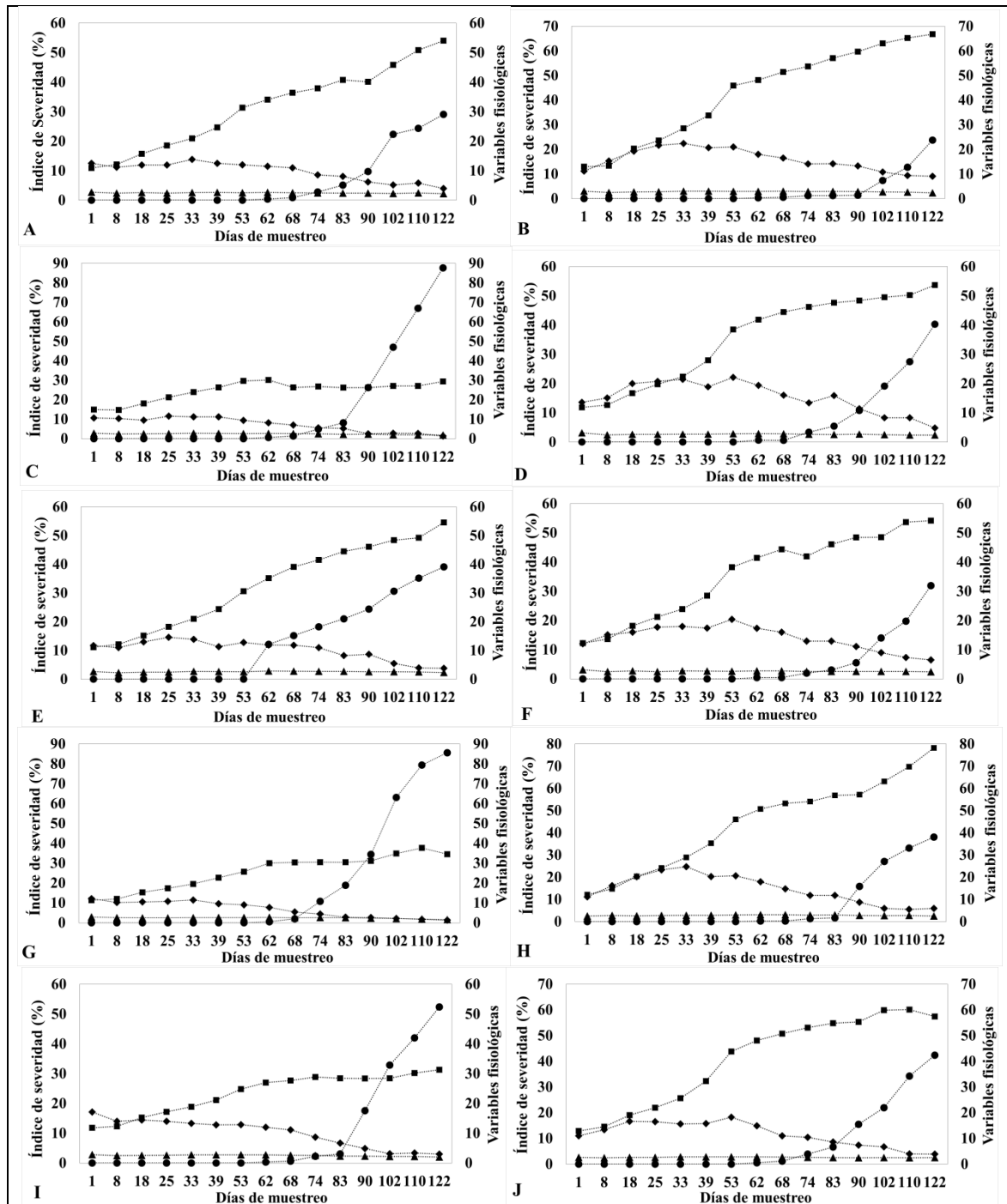


Figura 35. Variables observadas durante 122 días de experimento según trttamientos y dosis de N, P₂O₅, K₂O y CaO. Severidad de *Colletotrichum* spp. (●), UICC (◆), Altura (■) y Diámetro (▲). A: T1 (16-12-24-12), B: T2 (48-12-24-122); C: T3 (16-57-24-12), D: T4 (48-57-24-12), E: T5 (16-12-72-12), F: T6 (48-12-72-12), G: T7 (16-57-72-12), H: T8 (48-57-72-12), I: T9 (16-12-24-28), J: T10 (48-12-24-28).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

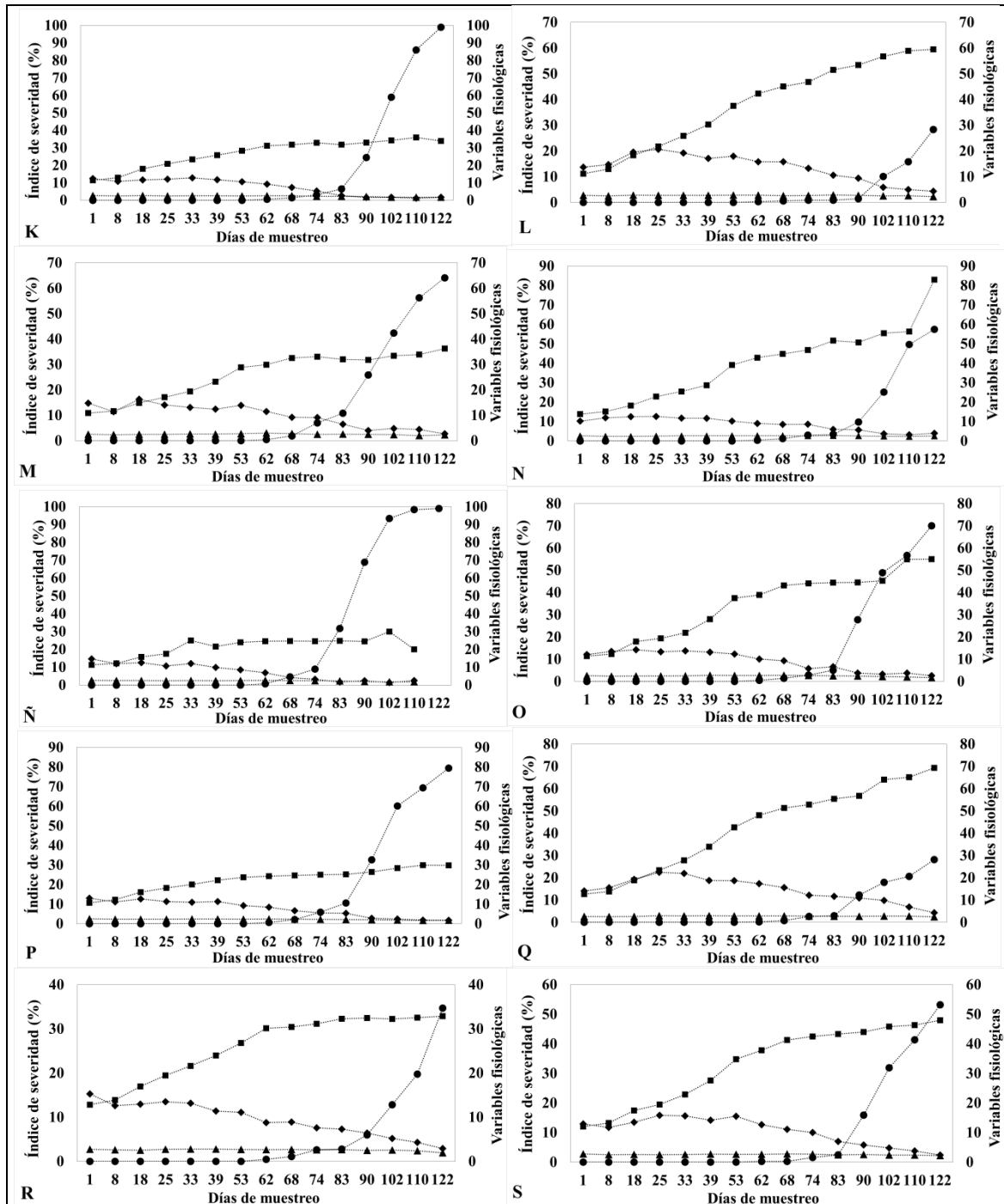


Figura 36. Variables observadas durante 122 días de experimento según tratamientos y dosis de N, P₂O₅, K₂O y CaO. Severidad de *Colletotrichum* spp. (●), UICC (◆), Altura (■) y Diámetro (▲). K: T11 (16-57-24-28), L: T12 (48-57-24-28), M: T13 (16-12-72-28), N: T14 (48-12-72-28), Ñ: T15 (16-57-72-28), O: T16 (48-57-72-28), P: T17 (9-35-48-20), Q: T18 (55-35-48-20), R: T19 (32-3-48-20), S: T20 (32-66-48-20).

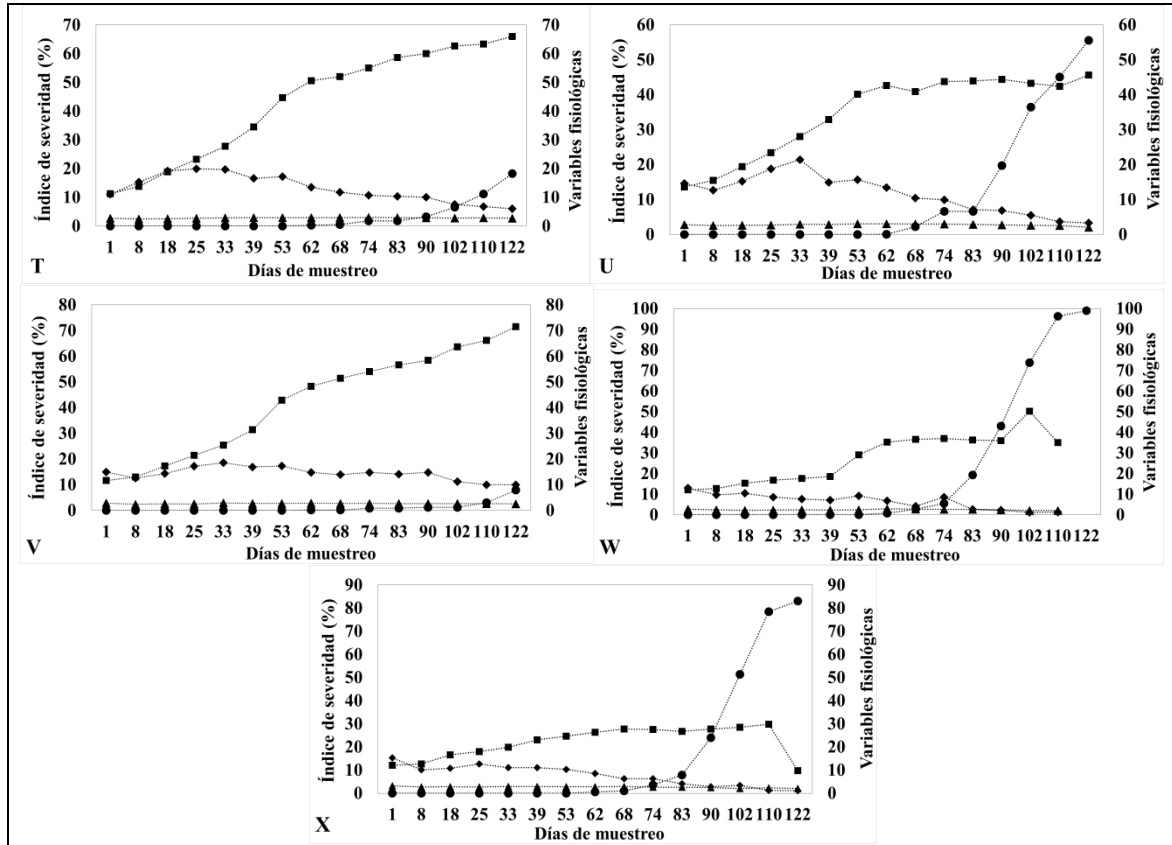


Figura 37. Variables observadas durante 122 días de experimento según tratamientos y dosis de N, P₂O₅, K₂O y CaO. Severidad de *Colletotrichum* spp. (●), UICC (◆), Altura (■) y Diámetro (▲). T: T21 (32-35-14-20), U: T22 (32-35-82-20), V: Tratamiento 23 (32-35-48-9); W: T24 (32-35-48-31), X: T25 (32-35-48-20).

El muestreo destructivo al final de las evaluaciones permitió observar que las plantas de los tratamientos con mayor IS (T3, T7, T11, T15, T24), presentaron muerte generalizada de los tejidos y por consiguiente nula producción tejido foliar.

Para la variable área foliar, las plantas de los T4, T23, T6 y T8 presentaron las mayores áreas con valores entre 688 cm² y 328 cm²; seguidos de las de los T2, T14, T18 y T10 con áreas 299 cm² y 215 cm²; T21, T22, T16, T1, T20 y T12 con áreas entre 192 cm² y 103 cm², y los T5, T13, T19, T9 y T17 con áreas entre 91 cm² y 27 cm².

En conclusión, de acuerdo a los resultados en las variables observadas y los nutrientes aplicados sobre las plantas inoculadas, se apreció que los T23 y T21 en su respectivo orden, presentaron los menores porcentajes de severidad (IS) y tasas de desarrollo (r), así como los mayores periodos de incubación e índices de contenido de clorofilas. Los mencionados tratamientos compartieron dosis medias de N y P; para el caso del K y el Ca, las plantas del T23 recibieron dosis media y mínima-mínima, respectivamente; mientras que las plantas del T21, recibieron las dosis mínima-mínima y media para el K y Ca, respectivamente (Tabla 14).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Para el caso de diámetro, las plantas del T21 fueron las que registraron mayor valor para esta variable, seguidas de las de los tratamientos T23 y T14, siendo este último el que mayor altura registró, seguido del T23. En este aspecto, las plantas del T14 les fueron aplicadas las dosis altas de N, K y Ca, y mínima de P. Para el caso del área foliar, el mayor registro fue para el T4, seguido del T23; siendo las plantas del T4 las que recibieron dosis altas de N y P, y mínimas de K y Ca (Tabla 14).

Tabla 14. Índice de severidad (IS), tasa de desarrollo (r), periodo de incubación (PI), índice de contenido de clorofilas (ICC), diámetro, altura y área foliar de plantas inoculadas con la Cepa 52 de *C. gloeosporioides* a los 122 ddie.

Tratamiento	Gramos nutriente/planta				IS	r	PI	ICC	Diámetro	Altura	Área foliar
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO							
4	48	57	24	12	40,2	0,0269	9,00	5,00	2,4	54	687,6
14	48	12	72	28	60,1	0,0342	15,0	4,00	2,6	83	246,6
21	32	35	14	20	18,2	0,0256	15,0	6,00	2,7	66	192,2
23	32	35	48	9	7,58	0,0237	21,0	10,0	2,6	71	494,9

*S = Severidad (%). r: Tasa de desarrollo de la enfermedad. PI: Periodo de incunación (días). ICC: UICC. Diámetro: mm. Altura: cm. Área foliar: cm².

4.2 Reaislamiento de la cepa 52

Los tallos de mora colectados para el proceso de reaislamiento, presentaron lesiones oscuras de color grisáceo y muerte del tejido en plantas con alta severidad (Figura 38); síntomas que coincidieron con los reportes dados por diferentes autores (Forero de La-Rotta *et al.*, 2002; Tamayo, 2003).

Las colonias de *C. gloeosporioides* en medio PDA acidificado, mostraron coloraciones gris a verde oliva y verde grisáceo (Figura 39); por otro lado, microscópicamente se observaron conidias ovoides a oblongas con constricción leve y apresorios de tipo clavado a irregulares, dichas características fueron similares entre tratamientos y la cepa 52 utilizada para la inoculación (Figura 39 y Anexo 3).



Figura 38. Síntomas iniciales en tallo, planta del tratamiento 23 (izquierda) y síntomas en tallo en planta bajo el tratamiento 22 (centro y derecha) (Fotos: Autor).

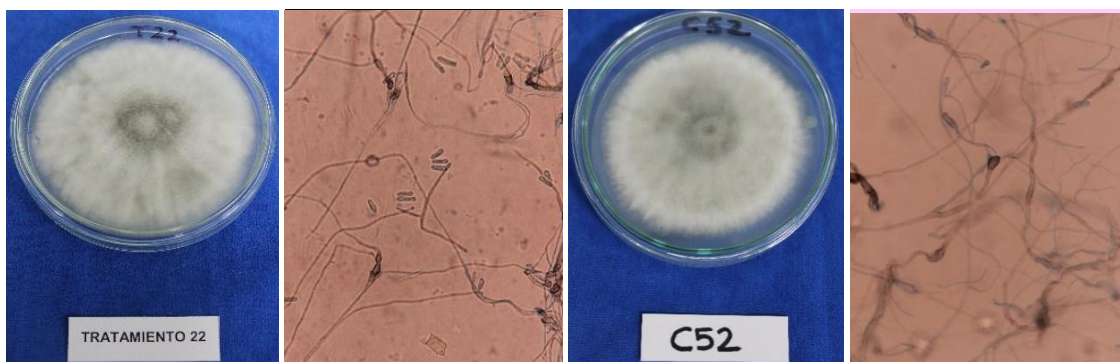


Figura 39. Colonia, conidias y apresorios de *C. gloeosporioides* aislado del tratamiento 22; colonia conidias y apresorios de *C. gloeosporioides* cepa 52 utilizada en las inoculaciones (Fotos: Autor).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

4.3 Prueba biológica

Para la variable crecimiento micelial (mm), el fungicida a base de benomil en su dosis comercial presentó un alto porcentaje de inhibición sobre los hongos aislados de los tratamientos estudiados (T); así como para la cepa 52 de *C. gloeosporioides* utilizada en la inoculación.

Para la cepa 1164 de *C. acutatum*, el efecto del fungicida se reflejó en un bajo efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial, el cual mostró una tendencia lineal fácilmente detectable durante los días de medición, alcanzando un diámetro máximo de 37,3 mm al final de las evaluaciones (Figura 40 y Figura 41 arriba/izquierda).

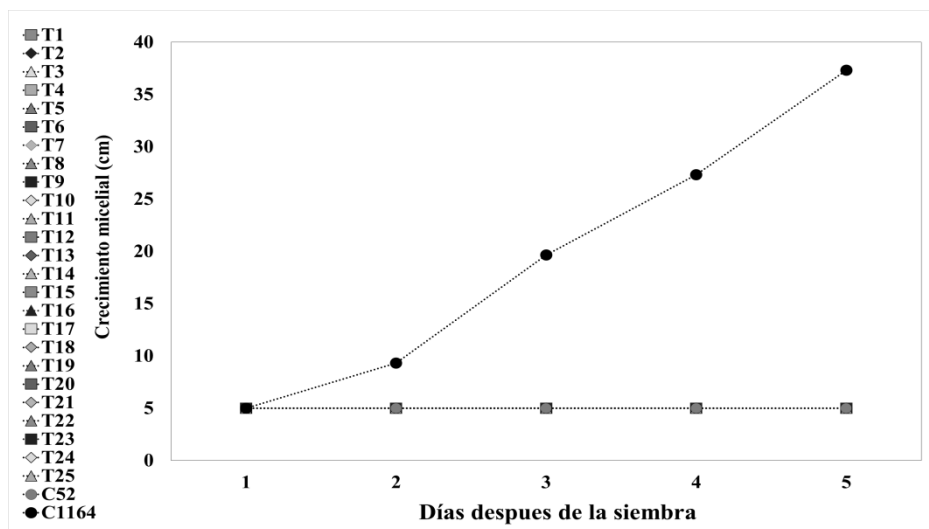


Figura 40. Crecimiento de colonias de *Colletotrichum* spp. en medio PDA+benomil durante cinco días de evaluación. T: *Colletotrichum* spp. aislado en cada tratamiento; C52: Cepa de *C. gloeosporioides* utilizada en las inoculaciones; C1164: Cepa de *C. acutatum* utilizada como testigo.

Macroscópicamente, se pudo apreciar en el medio PDA más benomil, tonalidades blancas a gris claro, con esporulación de color amarillo rojizo a amarillo pálido para la cepa C1164 de *C. acutatum* (Figura 41 arriba/izquierda).

Para el caso de las cepas aisladas de los tratamientos y la cepa 52 utilizada en las inoculaciones, a pesar de la inhibición en su diámetro, se pudo observar un crecimiento de biomasa con tonalidades gris a verde oliva y verde grisáceo (Figura 41 arriba).

Por otro lado, el fungicida a base de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ no presentó diferencias en el crecimiento micelial entre tratamientos, la cepa 52 y la cepa 1164 (datos no mostrados). La inhibición del crecimiento micelial con la dosis comercial de este ingrediente activo fue del 100% al final de las evaluaciones (Figura 41 abajo).

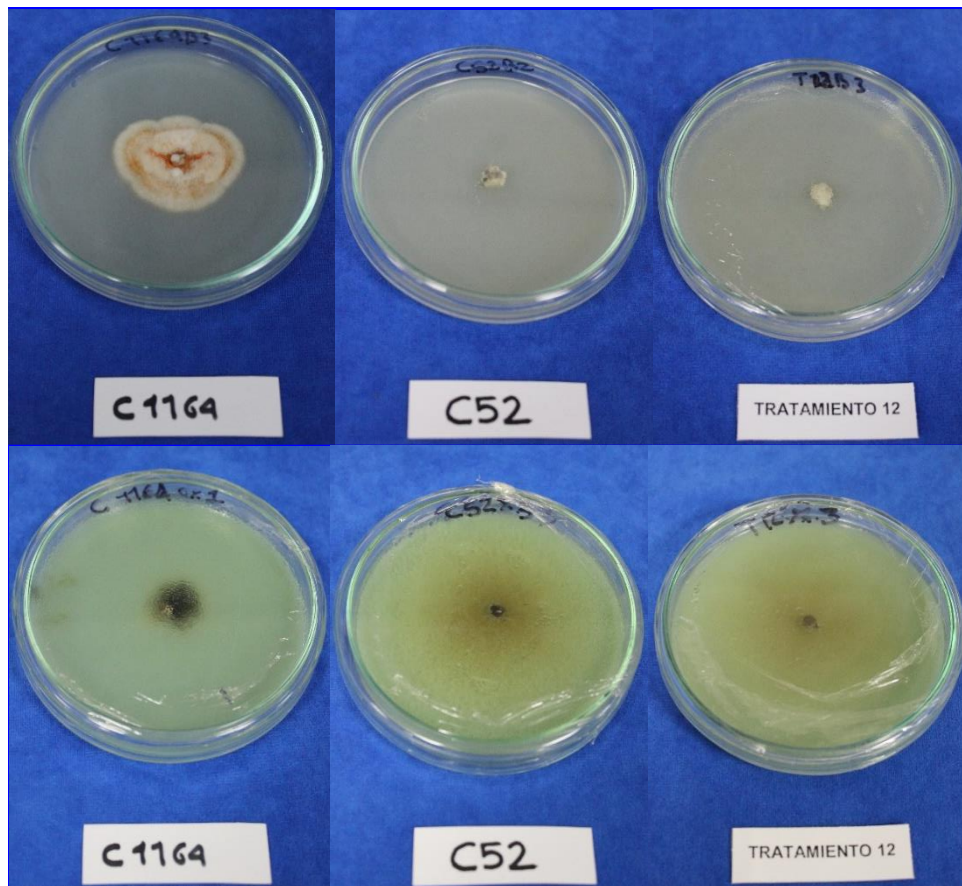


Figura 41. Crecimiento de *Colletotrichum* spp. en en medio PDA+benomil (arriba) e hidróxido de Cu (abajo). De izquierda a derecha: *C. acutatum* cepa 1164, *C. gloeosporioides* cepa 52 utilizada en la inoculación y *C. gloeosporioides* reaislada de tallos de plantas inoculadas (derecha) (Fotos: Autor).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

4.4 Efecto de los nutrientes evaluados

El análisis de regresión permitió ajustar modelos lineales simples y múltiples de las variables observadas en función de las dosis de los nutrientes aplicados, con P-valor inferiores a 0,05, lo cual determinó relaciones altamente significativas entre las variables dependientes e independientes (Anexo 2).

Índice de severidad de la enfermedad. El análisis de regresión se ajustó a un modelo lineal múltiple, donde el N tuvo un efecto negativo sobre el IS de la enfermedad, es decir al aumentar un gramo del elemento, se espera un descenso de 0,881 %. Para el caso del P y el Ca, se observó un efecto positivo, al aumentar el contenido de P y Ca en un gramo, se espera un incremento de 0,054 % y 1,773 %, respectivamente (Figura 42).

$$IS = 27,371 - 0,881N + 0,054P + 1,773Ca \quad R^2 = 0,5922$$

Índice de clorofila. Para esta variable, se ajustó un modelo de regresión lineal múltiple con un efecto positivo de N y negativo de Ca. Al aumentar un gramo de N y Ca, se espera un incremento de 0,078 UICC y un descenso de 1,773 UICC, respectivamente (Figura 43).

$$ICC = 4,278 + 0,078N - 0,152Ca \quad R^2 = 0,4386$$

Altura. El análisis mostró ajuste a un modelo de regresión lineal simple, donde el N presentó un efecto positivo sobre la altura de la planta. En consecuencia, al aumentar un gramo del elemento, se espera un incremento de 0,779 cm (Figura 44).

$$Altura = 24,555 + 0,779N \quad R^2 = 0,4115$$

Diámetro del tallo. Se ajustó un modelo de regresión lineal simple, donde el N presentó un efecto positivo sobre el diámetro de la planta. En este contexto, por cada gramo de N aplicado, se espera un aumento de 0,779 mm (Figura 44).

$$Diámetro = 1,826 + 0,011N \quad R^2 = 0,2725$$

Área foliar. El análisis de regresión permitió ajustar un modelo lineal múltiple, donde el N y el Ca tuvieron un efecto positivo y negativo, respectivamente. Con el aumento en un gramo de N se espera un incremento del área foliar de 7,142 cm², mientras que con el incremento en un gramo de Ca, se espera una disminución de 13,302 cm² (Figura 45).

$$Área\ foliar = 213,945 + 7,142N - 13,302Ca \quad R^2 = 0,6120$$

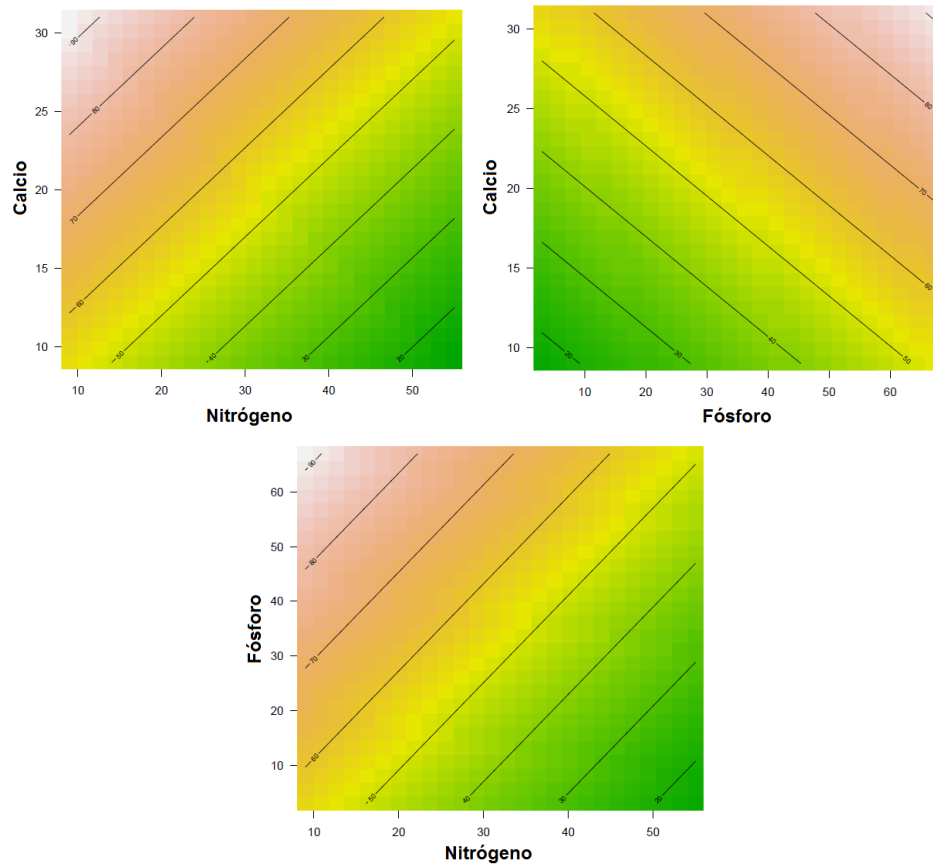


Figura 42. Gráfica de contorno para el modelo lineal múltiple del efecto de N, P y Ca sobre el IS de *C. gloeosporioides* cepa 52 en plantas de mora castilla.

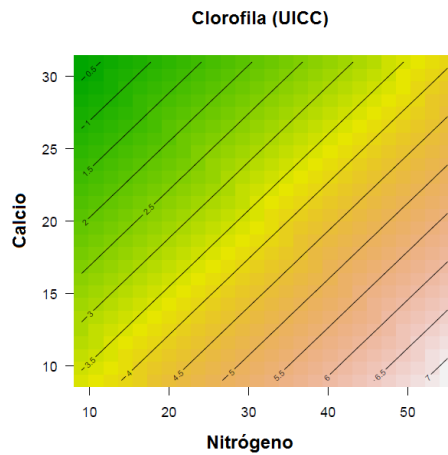


Figura 43. Gráfica de contorno para el modelo lineal múltiple del efecto de N y Ca sobre el índice de contenido de clorofilas (ICC) en plantas de mora castilla inoculadas con *C. gloeosporioides* cepa 52.

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

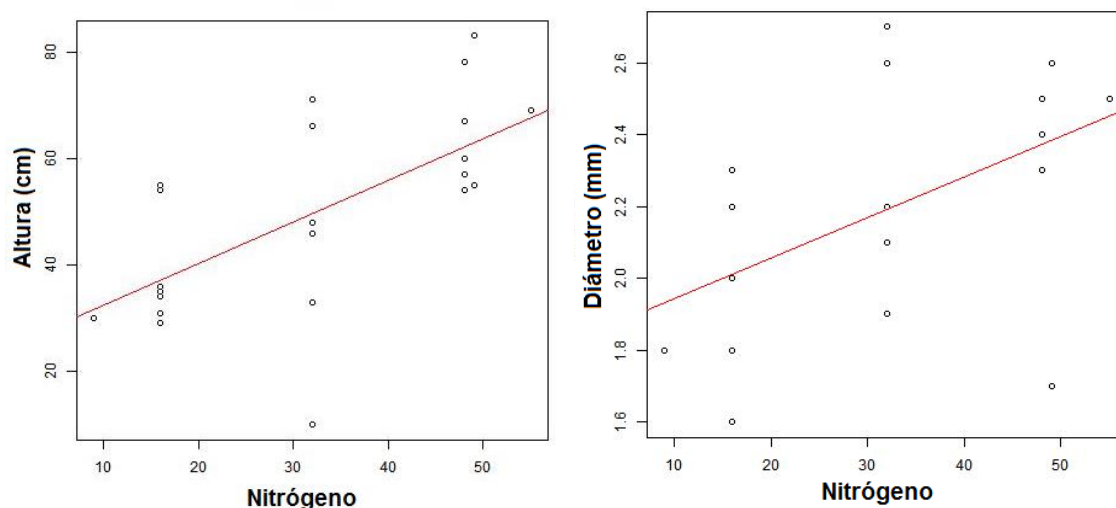


Figura 44. Gráfica del modelo lineal simple del efecto de N sobre la altura (cm) (izquierda) y el diámetro (mm) (derecha) en plantas de mora castilla inoculadas con *C. gloeosporioides* cepa 52.

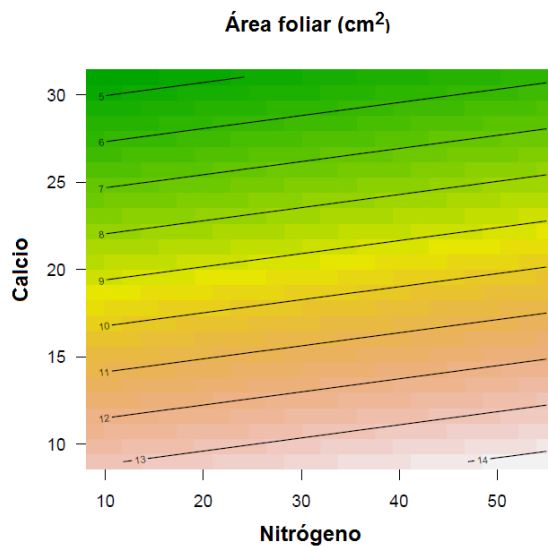


Figura 45. Gráfica de contorno para el modelo lineal múltiple del efecto de N y Ca sobre el área foliar (cm²) en plantas de mora castilla inoculadas con *C. gloeosporioides* cepa 52.

4.5 Nivel de nutrientes en tejidos de mora

Teniendo en cuenta la interpretación de la concentración de elementos en tejido foliar recomendada por Munson (1998), la concentración total de los nutrientes en los tejidos mostró deficiencia de N y S; concentraciones normales de P, K, Ca, Mg, Fe, Mn y Zn; y altos contenidos de B y Cu (Datos no mostrados).

En cuanto a los tratamientos, se presentaron concentraciones normales en las plantas de todos los tratamientos para el P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn y Zn; deficiencia de N en todos los tratamientos exceptuando los T2, T4, T6, T8 y T18; así como las concentraciones de S en los T2, T3, T4, T5, T6, T8, T14, T20 y T22; y presentándose finalmente exceso de B en los T1, T5, T9, T12, T13, T17, T20, T21, T22 y T23.

El análisis de correlación entre los niveles de nutrimentos foliares mostró correlaciones significativas entre P con Ca, S, Fe, Cu y Zn; el Ca con Mg y Na; el Mg con Na, Cu y Mn; el Na con Cu y Mn; así como el S con Fe, Cu y Zn, y el B con el Cu.

La totalidad de dichas correlaciones fueron positivas, exceptuando las relaciones entre el Mn con Mg y Na (Tabla 15), indicando que al aumentar las concentraciones de Mn disminuyen las de Mg y Na, situación contraria a lo encontrado en las relaciones positivas antes mencionadas.

En este sentido, y a pesar de no presentarse una relación significativa, se apreciaron relaciones negativas entre el N con el K, Ca, Mg, Na, Zn y B; el P con el K y B; el Ca con el S, Fe y Mn; el Mg con S y B; el Na con B; el S con B; el Fe con el B; y el Mn con el B.

Tabla 15. Correlación entre nutrientes absorbidos por las plantas a los 122 DDT.

	N	P	K	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Mn	Zn
P	0,230 0,101										
K	-0,246 0,078	-0,195 0,166									
Ca	-0,024 0,866	0,353 0,010	-0,045 0,751								
Mg	-0,157 0,267	0,256 0,067	-0,019 0,894	0,590 <,0001							
Na	-0,042 0,769	0,249 0,075	0,150 0,288	0,499 0,000	0,570 <,0001						
S	0,152 0,283	0,427 0,002	0,264 0,059	-0,056 0,695	-0,019 0,891	0,067 0,638					
Fe	0,159 0,261	0,380 0,006	-0,096 0,500	-0,010 0,943	0,173 0,220	0,203 0,149	0,313 0,024				

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

	N	P	K	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Mn	Zn
Cu	0,062	0,309	-0,068	0,235	0,367	0,485	0,335	0,215			
	0,662	0,026	0,632	0,094	0,008	0,000	0,015	0,127			
Mn	0,203	0,186	0,109	-0,019	-0,500	-0,314	0,092	0,192	-0,265		
	0,149	0,186	0,442	0,896	0,000	0,023	0,516	0,173	0,058		
Zn	-0,081	0,531	0,076	0,159	0,237	0,172	0,463	0,523	0,416	0,166	
	0,566	<,0001	0,593	0,260	0,091	0,222	0,001	<,0001	0,002	0,239	
B	-0,137	-0,097	-0,048	0,031	-0,083	-0,061	-0,033	-0,006	0,409	-0,122	0,157
	0,333	0,494	0,733	0,828	0,561	0,666	0,815	0,966	0,003	0,390	0,266

*Coeficientes de correlación Pearson ($p=0,05$). N = 52.

5. Discusión

Los tejidos colectados para el reaislamiento del patógeno en estudio presentaron los síntomas característicos de la enfermedad. Dichos síntomas, tal como lo reportan otros autores (Forero de La-Rotta *et al.*, 2002; Tamayo, 2001, 2003), al inicio de la infección (15 días después de realizada la inoculación), presentaron en los tallos lesiones rodeadas de manchas blancuzcas con diminutos puntos negros alrededor de las espinas, las cuales con el paso de los días, se expandieron en los tejidos llegando a causar la muerte de los tejidos en los tratamientos más susceptibles.

Actualmente, el uso de técnicas de biología molecular ha llevado a la reclasificación de un número de aislamientos de *C. gloeosporioides* como *C. acutatum* y se ha convertido en una herramienta indispensable para la caracterización de las especies asociadas al cultivo de mora (Afanador *et al.*, 2010, 2014; Saldarriaga *et al.*, 2012).

Pese a esto, la taxonomía clásica y la implementación de pruebas biológicas aún son necesarias en la identificación de microorganismos patógenos al cultivo de mora (Rueda, 2010; Saldarriaga *et al.*, 2012). Para inferir que los aislamientos analizados pertenecieran a la cepa 52 inoculada, después de recurrir a claves taxonómicas y a la observación de las estructuras reproductivas del patógeno, mediante la prueba biológica de inhibición de crecimiento micelial se corroboró que el hongo aislado de los tallos sintomáticos correspondió a *C. gloeosporioides*.

Los resultados obtenidos en el presente estudio coincidieron con los obtenidos por Gaviria-Hernández *et al.* (2013), quienes evaluaron la eficiencia in vitro de los fungicidas de síntesis química benomil e hidróxido de cobre [Cu(OH)₂], sobre la inhibición de *C. gloeosporioides* cepa 52 y *C. acutatum* cepa 168; reportaron un crecimiento micelial significativamente superior de *C. acutatum* sobre *C. gloeosporioides* en presencia de benomil; así como una inhibición micelial del 100 % en ambas cepas con Cu(OH)₂.

En la presente investigación, la severidad (S) de *C. gloeosporioides* cepa 52 se relacionó negativamente con el área foliar, la altura, el índice de contenido de clorofilas (ICC) y el diámetro de las plantas inoculadas. Dicho efecto fue más marcado en plantas con mayores tasas de desarrollo de la enfermedad, las cuales después de la inoculación, presentaron crecimiento lento, un descenso en el ICC y el diámetro de los tallos; así como baja producción de follaje acompañados de muerte generalizada, la cual como lo menciona Forero de La-Rotta (2001), puede ser causada por el taponamiento vascular a causa del hongo y/o anillamiento de los tallos en las zonas afectadas.

Este resultado podría ser interpretado como un efecto directo del patógeno sobre la fisiología de la planta. Las especies causantes de antracnosis pueden llegar a causar pérdidas severas en diversos frutales debido a la alta efectividad de las

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

infecciones, las cuales causan daños en diferentes partes de la planta y pueden presentar preferencia por algunos tejidos en particular (Wharton y Diéguez-Uribeondo, 2004; Agrios, 2005; Saldarriaga, 2006).

De acuerdo con estos resultados y los estudios de patogenicidad realizados por Saldarriaga *et al.* (2012) a partir de 108 aislamientos de *Colletotrichum* spp. (incluyendo la cepa 52 utilizada el presente experimento), permitieron observar la invasión de los tallos inoculados, los cuales posteriormente murieron con las hojas adheridas a este.

En la presente investigación, las plantas de los tratamientos con menor ICC presentaron un descenso marcado de esta variable a partir de los ocho días después de la inoculación y /o 62 días después de iniciado el experimento (ddie), con valores promedio de 16%, 60% y 87% a los 62, 83 y 122 (ddie).

Partiendo de esto, experimentos realizados en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y café (*Coffea arabica*), demostraron disminuciones de las tasas fotosintéticas por infecciones con *C. lindemuthianum* y *C. gloeosporioides*, respectivamente (Lobato *et al.*, 2010; Gonçalves Martins *et al.*, 2012).

Para el caso de las plantas de frijol infectadas con *C. lindemuthianum*, se presentaron disminuciones de 22%, 49,9% y 77,3% a los días 4, 8 y 12 después de la inoculación, respectivamente, a la par de respuestas negativas sobre la conductancia estomática, la transpiración, la fotosíntesis y la eficiencia del uso del agua. Mientras que para las plantas de café, 3 y 7 días después de la inoculación con *C. gloeosporioides*, se presentaron reducciones significativas en la cantidad de clorofila y la producción de fenoles y ligninas solubles.

El diámetro del tallo de las plantas estudiadas en la presente investigación mostró un descenso constante durante los 122 ddie, el cual fue mayor en plantas con alta S, presentando al final de las evaluaciones reducciones promedio del diámetro de 60%. Teniendo en cuenta que los tallos de las plantas utilizadas en el presente experimento contaban con una baja lignificación por encontrarse en un estado vegetativo inicial, el resultado encontrado difiere de lo encontrado por López-Vásquez *et al.* (2013), quienes reportan el ensanchamiento de los tallos afectados, acompañado de un cuarteamiento de los tejidos de mora castilla inoculada artificialmente con *C. gloeosporioides*, esto posiblemente como respuesta de la planta para contrarrestar el daño sobre los tallos y poder crear nuevos canales conductores de importancia fisiológica (Tamayo, 2003).

Finalmente, la muerte generalizada de los tejidos de las plantas y su nula producción del tejido foliar a causa de las altas tasas de desarrollo de la enfermedad y mayor S, puede ser considerada como un efecto directo del patógeno en la acumulación de biomasa. De acuerdo con esto, estudios enfocados en

evaluar la producción de cultivos de mora expuestos al ataque de antracnosis, han permitido demostrar que la pérdida del rendimiento está altamente correlacionado con la severidad de *Colletotrichum* spp. (Saldarriaga *et al.*, 2008; López-Vásquez *et al.*, 2013).

La incidencia de antracnosis observada en las condiciones del presente experimento fue del 100 % al final de las evaluaciones. No obstante, en las plantas de los 25 tratamientos se registró severidad en rangos desde 1 % hasta 100 %, en periodos comprendidos entre 8 a 56 días después de la inoculación. Por otro lado, a los 122 ddie se apreciaron severidades de 7,58 % al 100 %, con un promedio total de 53 % y frecuencias de 28 % para S entre 25 % al 40 %; 12 % para S entre 41 % al 55 %, 80 % al 95 %, y 96 % al 100 %; y 4 % para S inferiores a 14 %.

Al discriminar especies patógenas al cultivo de mora inoculadas en condiciones controladas del Centro de Investigación La Selva de CORPOICA (temperatura 17°C, humedad relativa 78% y 1.800 mm), Saldarriaga *et al.* (2012) reportan severidades de *C. gloeosporioides* entre 10 % y 100% en tiempos comprendidos de 19 a 55 días, y períodos de incubación entre 3 y 26 días, lo cual coincide con los resultados obtenidos en la presente investigación (9 a 21 días).

El proceso de infección de las especies de *Colletotrichum* en el cultivo de mora se ve favorecido por precipitaciones y humedades ambientales altas, así como temperaturas de 20 °C a 25 °C (Saldarriaga, 2006). Acorde con esto, investigaciones adelantadas en condiciones de campo por Forero de La-Rotta *et al.* (2002) señalan que temperaturas alrededor de 16 °C, humedad relativa superior a 85 % y precipitación semanal acumulada de 22 mm a 35 mm, son apropiadas para el incremento de las lesiones de antracnosis en el cultivo de mora.

Este reporte difiere de los datos registrados en el presente estudio, excepto a lo que se refiere a la temperatura; ya que la tendencia de esta durante las evaluaciones fue de 18 °C, con una máxima de 21 °C y mínima de 17 °C; mientras que la humedad relativa promedio fue de 57 %, con una máxima de 71 % y mínima de 35 %.

Sin embargo, estudios realizados con materiales de mora expuestos a inoculaciones con *C. gloeosporioides*, llevados a cabo por López-Vásquez *et al.* (2013), no reportan interacciones entre el desarrollo de la enfermedad y el porcentaje de humedad ambiental. En esta investigación, los autores registraron una humedad relativa promedio de 76,34%, con valores mínimos y máximos de 63,6 % y 87,0 %, respectivamente, condiciones en las cuales los genotipos susceptibles a antracnosis manifestaron severidades entre 45,6 % a 50 % e incidencias de 79,8 % a 99,4 %.

El modelo de regresión lineal múltiple, obtenido sobre el efecto de las dosis de los nutrientes aplicados a las plantas inoculadas, demostró un descenso de la S

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

cuando se incrementan las dosis de nitrógeno (N), así como un aumento de esta al acrecentar las dosis de fósforo (P) y calcio (Ca).

Estos resultados difieren de lo reportado por Nam *et al.* (2006), quienes estudiando el efecto del N, P, K y Ca sobre plantas de fresa (*Strawberry* cv. Nyoho) inoculadas artificialmente con *C. gloeosporioides* cepa CGF43, reportan que las concentraciones elevadas de N y K aumentan la severidad de antracnosis, las cuales contrastan con dosis elevadas de P y Ca que disminuyen la severidad de la enfermedad.

El N es el elemento más extensamente estudiado en relación con la nutrición del huésped y la prevalencia de enfermedades, esto debido a su esencialidad en el crecimiento de las plantas, su limitada disponibilidad en el suelo; y su efecto en el tamaño de las células y el espesor de las paredes celulares (Huber y Thompsom, 2007). Adicionalmente, el N juega un papel fundamental en la relación de nutrientes entre plantas y patógenos, esto debido a la movilización del elemento durante estrés abiótico y biótico como estrategia de defensa de la planta (Tavernier *et al.*, 2007).

De acuerdo con lo anterior, se han propuesto manejos de enfermedades mediante la disminución de las aplicaciones de N; pese a esto, dichos procedimientos exponen las plantas a deficiencias y desbalances nutricionales, debido a patrones fisiológicos no muy claros de las interacciones planta-patógeno, ya que generalmente la forma de N disponible para el huésped o el microorganismo, tiene mayor influencia que la cantidad del elemento aplicado (Huber y Watson, 1974).

Estudios nutricionales realizados en aislamientos de *Colletotrichum* spp. indican que estos difieren en sus requerimientos de C, N y S, así como el pH del medio, los cuales tienen un efecto directo sobre su crecimiento y esporulación (Tandon y Chandra, 1962; Srivastava y Saksena, 1967).

Deshmukh *et al.* (2012) reportan como mejores fuentes para el máximo peso micelial seco y esporulación de *C. gloeosporioides*, al nitrato de potasio (KNO_3), el almidón y la xilosa (carbono), así como pH de 5,5 y 6,5. Adicionalmente, estos autores mencionan que el uso de abonos orgánicos no degradados, fertilizantes a base de KNO_3 y suelo ligeramente ácido, favorece el desarrollo de la enfermedad.

A nivel molecular, diversos autores proponen que las señales nutricionales como la presencia de KNO_3 en un medio ligeramente ácido (pH 6,0), es influyente en los procesos de patogenicidad de *C. gloeosporioides*, tales como la acumulación de amoníaco y la expresión del gen *pelB*, el cual a su vez codifica la secreción de la enzima pectato liasa (PL), encargada de romper los enlaces glicosídicos del ácido poligalacturónico, componente principal de la pectina de la pared celular y de la

lámina media en las plantas (Drori *et al.*, 2003; Kramer-Haimovich, 2006; Miyara, 2009).

El P es un elemento indispensable para los ácidos ribonucleicos (ARN), además de ser requerido en diversos procesos bioquímicos y fisiológicos adicionales, incluyendo la transferencia de energía, el metabolismo proteico, entre otros (Dordas, 2009). El P es considerado como un nutriente que incrementa la resistencia de las plantas a enfermedades cuando sus contenidos en los tejidos aceleran la madurez y protegen los órganos jóvenes; a pesar de ello, los efectos del elemento sobre la severidad de enfermedades no es tan evidente cuando se observa en cultivares susceptibles y/o moderadamente resistentes (Prabhu *et al.*, 2007).

Considerando la susceptibilidad de las plantas bajo estudio en la presente investigación, la alta patogenicidad de *C. gloeosporioides* cepa 52 (Saldarriaga, 2012) así como la influencia del incremento de las dosis de P en el aumento de esta; los resultados coinciden con lo reportado por Prabhu *et al.* (2007), quienes mencionan que este elemento influye en el incremento de enfermedades causadas por diversos patógenos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutians*, *Plasmidiophora brassicae*, *Puccinia graminis*, *Thelaviopsis basicola*, *Diplodia zaeae*, *Cronartium fusiforme*, *Sclerotium oryzae*, *Septoria tritici*, entre otros.

Clement y Habte (1994) llevaron a cabo experimentos para determinar el efecto de la inoculación de hongos formadores de micorrizas arbusculares y la concentración de P en la solución de suelo, sobre el desarrollo de *C. gloeosporioides* y crecimiento de plántulas de chontaduro (*Bactris gasipaes*). La concentración de P en la solución del suelo tuvo efectos altamente significativos sobre variables fisiológicas y la disminución de la incidencia de antracnosis, medida por el daño fúngico.

No obstante, el P ha presentado efectos positivos frente a enfermedades causadas por *C. gloeosporioides* en diversos cultivos. En plantas de sorgo de uso eficiente de P, se ha reportado que estas pueden llegar a incrementar la resistencia a la antracnosis foliar acusada por *C. sublineolum* y *C. gloeosporioides*. Omondi y Onyango (2012), llevaron a cabo experimentos con 16 genotipos de sorgo utilizando súper fosfato triple $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ para evaluar la virulencia y patogenicidad de aislamientos de hoja, tallo y panícula. Mediante estudios moleculares, los autores reportan que genotipos considerados como eficientes en el uso de P, tienen estrecha relación con la resistencia a la antracnosis.

Acorde con lo anterior y considerando el efecto de P en la inducción de resistencia sistémica, así como la inducción de actividades enzimáticas (Arrieta-Guevara *et al.*, 2010); Bossea *et al.* (2013) asperjando ácido fosforoso pre-cosecha en árboles de aguacate (*Persea americana*), encontraron un incremento de las concentraciones antifúngicas al aumentar la actividad de la enzima fenilalanina amonio lasia (PAL) y las concentraciones fenólicas en los tejidos de la corteza de los frutos expuestos a la inoculaciones de *C. gloeosporioides*.

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Resultado similar fue encontrado por Zainuri *et al.* (2001), estos autores evaluaron el tratamiento de frutos de mango (*Mangifera indica*) con los inductores de resistencia fosfonato de potasio (K_3PO_4) y ácido salicílico ($C_7H_6O_3$), versus la supresión de *C. gloeosporioides*. Como resultado, se observaron reducciones significativas de la severidad de la antracnosis, concluyendo que los efectos son atribuibles a la inhibición de la maduración de la corteza del fruto.

Además del aporte de este elemento a los procesos antes mencionados, se le suma su función como molécula bioquímica implicada en términos de señalización de las células vegetales, en el reconocimiento de moléculas asociadas a patógenos (PAMP). La influencia del P se centra en procesos de fosforilación de proteínas, las cuales inducen la producción de especies reactivas del oxígeno y la inducción de cambios transcripciones (Kwon *et al.*, 2008; Schwessinger y Zipfel, 2008). En este contexto, estos procesos han sido expuestos para antracnosis en fresa (*Fragaria x ananassa*) (Grellet-Bournonville *et al.*, 2012; Amil, 2013).

En 2012, investigadores analizaron la participación del $C_7H_6O_3$ en las vías de señalización de respuesta sistémica inducida a *C. fragariae*, demostrando que la inoculación con una cepa avirulenta de *C. acutatum* induce la expresión del gen PR1 a la par de un incremento de $C_7H_6O_3$, antecedido de la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS), como peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el anión superóxido (O_2^-). Estas ROS alteran los sistemas biológicos y en ocasiones causan la muerte de tejido para así evitar el avance de la enfermedad (Grellet-Bournonville *et al.*, 2012).

Amil (2013) presentó una amplia colección de marcadores de secuencias (ESTs) con genes óptimos para la cuantificación de la expresión génica en fresa inoculada con *C. acutatum*, y la regulación entre las rutas de señalización dependientes de $C_7H_6O_3$ y ácido jasmonico ($C_{12}H_{18}O_3$), los cuales son considerados como factores importantes en el control de la respuesta de defensa en fresa.

El rol del Ca en el manejo de enfermedades en plantas ha sido descrito ampliamente en la literatura, numerosas investigaciones han reportado que la aplicación de este elemento al suelo, follaje y frutos, reduce la incidencia y severidad de enfermedades en cultivos de importancia económica. En consecuencia, las respuestas dependen en cierta medida, de la forma en la que sea aplicado así como cambios en el pH y/o inhibiciones de patógenos por la toxicidad de sales, tales como propionato y sorbato (aniones) (Rahman y Punja, 2007).

A nivel *in vitro*, Stošić *et al.* (2014) evaluaron los efectos del cloruro cálcico ($CaCl_2$) e hidróxido de calcio [$Ca(OH)_2$] sobre el crecimiento micelial, la germinación de esporas y el crecimiento de tubos germinativos de *C. acutatum*, *C. gloeosporioides*,

Alternaria alternata y *Penicillium expansum*. Los resultados obtenidos por estos investigadores mostraron que los aislamientos fueron estimulados en presencia de 1 y 1,5% de sales de Ca en comparación con el testigo, mientras que siete días después de incubación, la reducción del crecimiento micelial fue observado en PDA suplementado con sales de Ca al 2%. Finalmente, concluyeron que el CaCl_2 y el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en concentraciones de 1,5% y 2,0% disminuyen significativamente la germinación de esporas y el crecimiento del tubo germinal de todos los aislamientos fúngicos.

A nivel pre y pos cosecha, el Ca ha demostrado ser una opción viable en la protección de diversos frutos, esto debido a sus funciones estructurales en las paredes de las células (Hawkesford *et al.*, 2012) y como se mencionó anteriormente, a efectos tóxicos sobre microorganismos fitopatógenos.

Aplicaciones de Ca antes de la cosecha, fueron realizadas cada dos semanas a árboles de papaya (*Carica papaya*) en huertos experimentales en Malasia, a la par de pruebas in vitro e in vivo para probar el efecto del Ca sobre el contenido mineral en frutos, la germinación de esporas, el crecimiento micelial y la severidad de la enfermedad. Los resultados obtenidos permitieron deducir que el CaCl_2 a concentraciones del 1%, 1,5% y 2,0% disminuyó significativamente la germinación de esporas, mientras que el contenido de Ca en frutos fue incrementado significativamente con una concentración del 2,0%, lo cual redujo la incidencia de antracnosis durante cinco semanas de almacenamiento y retrasó en el inicio de los síntomas de la enfermedad por cuatro semanas (Madani *et al.*, 2014).

En este mismo patosistema, Sivakumar *et al.* (2002) examinaron el efecto del carbonato de amonio $[(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3]$ y el bicarbonato de sodio (NaHCO_3) en soluciones acuosas incorporadas a una formulación de cera, sobre la gravedad de antracnosis en frutos inoculados y/o infectados naturalmente. Los autores concluyeron que las dos sales tienen efectos significativos, siendo $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ al 3% más eficiente en el control de la enfermedad, esto debido a la reducción de la incidencia de la enfermedad en un 70%, así como la prolongación de la vida al mantener la firmeza, color y la calidad general del fruto en almacenamiento a baja temperatura.

Tratamientos poscosecha con CaCl_2 fueron evaluados sobre pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) para identificar su efecto en el tamaño de la lesiones de *C. gloeosporioides*. Como resultado del experimento, el CaCl_2 no produjo un efecto significativo sobre la incidencia de antracnosis. A pesar de ello, el tamaño de las lesiones se redujo linealmente con el aumento de la concentración, a la par de un incremento notable en el contenido de Ca de la cáscara de la fruta. Adicionalmente, la firmeza de la fruta aumentó con la aplicación de Ca mientras que la concentración de sólidos solubles y la acidez titulable no fueron afectados por el tratamiento (Awang *et al.*, 2011).

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Considerando que los hongos pertenecientes al género *Colletotrichum* producen sus apresorios en respuesta a señales fisicoquímicas de los tejidos vegetales, tales como ceras superficiales y el etileno (hormona de maduración de los frutos); se han desarrollado estudios moleculares para identificar eventos en las fases tempranas de contacto superficial de las conidias, donde la germinación y la formación de apresorios están influenciados por la proteína intracelular calmodulina (CaM) (Warwar y Dickman, 1996; Kim *et al.*, 1998).

A nivel molecular, la proteína CaM está estrechamente relacionada con el ión Ca^{2+} , esto debido a que los incrementos del Ca a nivel intracelular producen la activación de la CaM, complejo que a su vez induce la activación de enzimas involucradas en el crecimiento de hifas y apresorios (Jackson y Heath, 1993).

Acorde con lo mencionado, Uhm *et al.* (2003) investigaron el efecto de la adición exógena de Ca sobre el sistema de señalización dependiente del calcio/calmodulina (Ca/CaM) y la morfogénesis de prepenetración de *C. gloeosporioides*, agente causal de la antracnosis en pimiento rojo (*Capsicum annuum*). Los principales resultados obtenidos en los experimentos demostraron que la adición de CaCl_2 aumentó la germinación conidial, mientras que la diferenciación del apresorio disminuyó a mayores concentraciones. Por otro lado, mediante la adición de soluciones EGTA (quelante), utilizadas para determinar la dureza de Ca y reconocidas por su capacidad de formar complejos con este elemento; redujeron la germinación de conidios y la formación de los apresorios. Finalmente, mediante esta investigación, los autores concluyeron que el mantenimiento de los fenómenos de autorregulación del Ca en las células es de vital importancia para los procesos estructurales de *C. gloeosporioides*, los cuales están controlados por complejos mecanismos bioquímicos, incluyendo canales de Ca en la membrana celular, almacenamiento en el citosól y la unión con CaM.

El efecto del Ca a nivel molecular en la disminución de los procesos de colonización de *C. gloeosporioides* mencionados con anterioridad, difiere de lo reportado por Ahn *et al.* (2003). Estos autores evidenciaron en el mismo patosistema mediante secuenciaciones moleculares, que la adición exógena de CaCl_2 restaura la germinación de conidias y la formación de apresorios, esto debido en gran medida a la expresión del gen calmodulina codificado (CgCaM) por métodos de Reacción en Cadena de la Polimeras (PCR) y ADN genómico de *C. gloeosporioides*.

El análisis realizado sobre el índice de contenido de clorofilas (ICC) indicó una influencia positiva del incremento de la dosis N sobre esta variable, así como un efecto negativo con el aumento en la dosis de Ca.

Para lograr un crecimiento, desarrollo y reproducción eficientes, las plantas requieren cantidades adecuadas, pero no excesivas de N. La privación o limitación de este elemento conduce a una represión coordinada de los genes implicados en

la fotosíntesis, la síntesis de clorofila, la síntesis de proteínas de los plastidios, mientras que los genes implicados en el metabolismo secundario y la degradación de proteínas, son inducidos (Hawkesford *et al.*, 2012).

La clorofila existe en los tejidos como complejos de proteínas y la deficiencia de N generalmente provoca una disminución de estas en los cloroplastos, así como una degradación de la estructura lamelar del cloroplasto, lo cual puede ocasionar la pérdida de membranas y proteínas, dando lugar a la disminución del color verde de las hojas (Barker y Bryson, 2006).

Estudios a través de la historia han determinado la importancia del N sobre la concentración de clorofila en los tejidos. En 1935, Tam y Magistad analizaron muestras de hojas de cultivos de piña (*Ananas comosus*) fertilizados con cantidades variables de nitrógeno, con el fin de determinar las concentraciones totales de clorofila. Como resultado, los investigadores observaron que un aumento en la cantidad de N aplicado, da como resultado un aumento en la concentración total de clorofila.

En 2005, Zhao *et al.* llevaron a cabo un experimento para determinar los efectos de la deficiencia de N en el crecimiento, fisiología y propiedades de reflectancia hiperspectral foliar del sorgo (*Sorghum* spp.). En este cultivo, la deficiencia de N redujo significativamente el área foliar, el contenido de clorofila en hojas y las tasas fotosintéticas foliares, lo que resultó en una menor producción de biomasa y una menor conductancia estomática.

Torres *et al.* (2005) evaluaron la fertilización con el 100%, 80% y 0% de N, en soluciones nutritivas en diferentes etapas del cultivo de café (*Coffea canephora*). Aunque el estudio buscaba establecer una correlación entre el contenido de pigmentos fotosintéticos extraídos mediante métodos destructivos tradicionales y el medidor de clorofila SPAD-502, las lecturas de SPAD menores de 40 mostraron deterioro del proceso fotosintético a medida que el contenido de N fue restringido.

Finalmente, Prsa *et al.* (2007) estimaron la influencia de diferentes tasas de N aplicado al suelo sobre el contenido de clorofila, N de hojas y la fotosíntesis en manzanos (*Malus domestica*) de la variedad 'Golden Delicious'. Los árboles fueron fertilizados con 80 kg de N ha⁻¹, 250 kg de N ha⁻¹ y exentos de la fertilización (SF). Como resultado, los autores señalan que la fertilización aumentó el contenido de N foliar, con un efecto más prominente en el tratamiento de mayor dosis, el cual presentó a su vez un mayores contenidos de clorofila y tasas fotosintéticas.

Para el caso del Ca, este elemento tiene diversas funciones dentro de las plantas, tales como efectos sobre las membranas, las enzimas, las paredes celulares y las interacciones con fitohormonas (Pilbeam y Morley, 2006). Por otro lado, teniendo en cuenta su funcionalidad, cuando el Ca está presente de manera excesiva en la solución de la rizósfera, las plantas pueden sufrir toxicidad, la cual se manifiesta en

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

una baja a nula germinación de semillas y la reducción de las tasas de crecimiento de las plantas (White y Broadley, 2003).

De acuerdo a esto, Tanaka y Hideo (1980) investigando los efectos del Ca sobre la acumulación de clorofila y su estabilidad en la fase temprana de los cotiledones de pepino (*Cucumis sativus*), reportan que soluciones de Ca en concentraciones de 50 a 100 mM, inhiben la acumulación de clorofila y la formación de ácido aminolevulínico, el cual estimula la descomposición de la clorofila recién formada.

Por otro lado, Chondraki *et al.* (2012) evaluando el efecto de nitrato de calcio [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$] y la salinidad del cloruro de sodio (NaCl) mediante aplicaciones foliares a plantas de perejil (*Petroselinum crispum*), reportan que el contenido de clorofilas disminuye drásticamente a la par de bajos contenidos totales de fenol.

El efecto del Ca en las plantas expuestas a estrés salino está directamente relacionado con la especie, la etapa de crecimiento y la duración de exposición. En virtud de ello, Khayyat *et al.* (2009) determinaron el efecto del Ca en diversas formas y concentraciones sobre el contenido de clorofila y el peso seco de plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*) expuestas a salinidad. Como resultado de las evaluaciones, los autores encontraron que la aplicación de cloruro de sodio (NaCl) redujo las concentraciones de clorofila y peso seco de las hojas. Adicionalmente, aplicaciones de sulfato de calcio (CaSO_4) restauraron el contenido de clorofila cuando las plantas estuvieran expuestas al NaCl, los resultados obtenidos en dicha investigación sugieren que en condiciones de salinidad, el Ca aplicado en adecuadas concentraciones, podría ser un medio útil para mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas en estos ambientes.

El efecto de la disponibilidad de N en el crecimiento de las plantas ha demostrado correlaciones positivas y significativas entre la biomasa obtenida en diferentes cultivos y el N total del suelo (Tilman, 1986). El análisis sobre el crecimiento de las plantas de mora expresado en altura (cm) y diámetro (mm) en el presente estudio, mostró ajuste a un modelo de regresión lineal simple con una relación positiva al aumentar las dosis de N. Adicionalmente, el promedio de absorción de N en los tratamientos fue de 2,26 %, con una concentración mínima de 1,30 % y máxima de 2,98 %.

La concentración de N en hoja de un muestreo en plantas de *Rubus* spp. debería estar entre 2,3 y 3,0%; no obstante, las interpretaciones del estado de N pueden ser engañosas si no se tienen en cuenta observaciones del crecimiento y del rendimiento de las plantas, así como la fertilidad del suelo, las fuentes de fertilizantes utilizadas, la edad de las plantas y el cultivar utilizado (Hart *et al.*, 2006).

Estudios realizados por Bolaños-Benavides *et al.* (2014) sobre el crecimiento vegetativo inicial (tres primeros meses) de vitroplantas de mora sin espinas,

mostraron que la aplicación de una solución de 36 g/planta de N a los 90 ddie, se traduce en una mayor altura, la cual se refleja en un incremento mensual de 5 cm. Adicionalmente, las alturas antes mencionadas difirieron significativamente a la altura de plantas que recibieron soluciones con la concentración más baja de N, las cuales presentaron ganancia mensual de 2 a 3cm.

Por otro lado, Cardona *et al.* (2016) evaluando el efecto de dosis variables de N, P, K y Ca sobre el crecimiento de plántulas de mora con tunas en su fase inicial de desarrollo, encontraron que los materiales tratados con dosis de 48 g/plata de N presentaron alturas promedio de 20,5 cm 100 ddie.

En síntesis, al revisar lo reportado por los autores citados anteriormente, los resultados coinciden con los encontrados en la presente investigación, ya que 122 ddie las plantas de mora tratadas con dosis altas de 32 g/panta (T23), 48 g/planta (T8) y 49 g/planta (T14), registraron 72,2 cm, 80,5 cm y 82,65 cm de altura, respectivamente.

El diámetro del tallo de las plantas evaluadas en la presente investigación tuvo un descenso constante durante días de muestreo, lo cual coincide con lo reportado por Cardona *et al.* (2016). La respuesta en esta variable además de estar influenciada por la severidad de antracnosis, posiblemente fue causada por un desbalance nutricional de las soluciones aplicadas, dicho desbalance pudo afectar el contenido de agua en el tallo y por ende generó una disminución de la turgencia de los tejidos. De acuerdo con esto, Munns (2002) señala que las plantas expuestas a estrés salino presentan reducciones considerables en las tasas de crecimiento y su capacidad de absorción de agua, características influenciadas en este tipo de ambiente por señales hormonales generadas por las raíces.

Finalmente, Cardona *et al.* (2016) reportan áreas foliares en un rango de 62 cm² a 2.160 cm², con un promedio total de 717 cm², datos que difieren considerablemente de los resultados obtenidos en la presente investigación, ya que las plantas inoculadas con la cepa 52 desarrollaron áreas foliares de 26 cm² a 688 cm², con un promedio de 208 cm².

A pesar de observarse una diferencia promedio de 509 cm² en las áreas foliares entre las dos investigaciones, nuevamente se anota la influencia de la severidad del patógeno en estudio y su correlación negativa con todas las variables fisiológicas evaluadas. Esto se infiere al observar los datos registrados en los tratamientos de menor severidad, los cuales presentaron mayor área foliar con respecto a las dosis aplicadas.

El modelo obtenido en la presente investigación para evaluar el efecto de las dosis frente al área foliar de las plantas, mostró que esta se ve influenciada positivamente con el aumento en la dosis de N y negativa con el aumento en la dosis de Ca. Datos que coinciden con lo reportado por Cardona *et al.* (2016) en su estudio sobre nutrición en plantas de mora con espinas, estos autores reportan una correlación

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

lineal positiva y significativa entre el N suministrado y negativa con el Ca, esto último posiblemente dado por un desbalance que causó mayor concentración de Ca en el sistema radical, lo cual produjo menor potencial de regeneración de raíces y menor índice entre el peso seco aéreo y el peso seco total.

Como se mencionó anteriormente, el efecto de desbalances que causan salinidad del medio tienen un impacto directo en el crecimiento. Las cantidades excesivas de sal después de entrar en la planta por su sistema radical, son traslocadas y exceden la capacidad de las células de compartimentar las sales en la vacuola, lo cual inhibe el crecimiento de las hojas más jóvenes y aumenta los niveles tóxicos en las hojas más viejas que transpiran, traduciéndose en una senescencia prematura y la reducción del área foliar fotosintética de la planta hasta alcanzar un nivel que no pueda sostener crecimiento (Munns, 2002).

Considerando que el N es constituyente de la materia seca de las plantas y que puede ser usado para cumplir diferentes funciones, entre ellas el metabolismo de las clorofilas (Barker y Bryson, 2006; Hawkesford *et al.*, 2012); diversos estudios han resaltado su importancia en la producción de biomasa relacionada con las tasas de crecimiento y/o índices de área foliar de diferentes cultivos, al reportar incrementos de dichos parámetros con el aumento de las dosis del elemento (Anten *et al.*, 1998; Knops y Reinhart, 2000; Meziane y Shipley, 2001; Castaño *et al.*, 2008; Oikaway Ainsworth, 2016).

Teniendo en cuenta las anteriores consideraciones, además de la relación negativa entre la severidad de la enfermedad y el área foliar, el efecto reflejado del N en la presente investigación además de estar relacionado con sus dosis, puede ser asociado a la proliferación de rebrotes y posterior producción de biomasa aérea generadas como alternativa de escape de las plantas para contrarrestar el daño sobre los tejidos a causa del ataque del patógeno (Tamayo, 2003).

El análisis de correlación entre los niveles de nutrimentos foliares mostró correlaciones significativas de tipo positivo entre el P con el Ca, S, Fe, Cu y Zn; el Ca con Mg y Na; el Mg con Na y Cu; el Na con Cu; así como el S con Fe, Cu y Zn. Dichas correlaciones indican algún tipo de sinergismo ya que el incremento en la concentración de los primeros elementos favoreció la absorción de los demás.

El sinergismo y el antagonismo causan interacciones entre los nutrientes de las plantas, por lo tanto, la cantidad de cationes en una solución de suelo se mantiene por un efecto sinérgico de aniones, mientras que las relaciones entre los cationes están determinadas por la relación entre los cationes intercambiables. En este aspecto, una concentración excesiva de un catión actúa de forma antagónica al efecto de otros cationes sobre la absorción de nutrientes de las plantas (Jakobsen, 1992).

En este contexto, en la presente investigación se pudo observar una correlación significativa de tipo negativo entre el Mn con Mg y Na, lo cual indica que al aumentar los contenidos Mn disminuye la absorción de Mg y Na.

La deficiencia de Mg inducida por los cationes competidores es un fenómeno bastante extendido y la absorción de este elemento puede ser fuertemente deprimida por otros cationes, tales como K, NH₄, Ca y Mn, así como por un pH bastante bajo (Lohnis, 1960; Marschner 2012). Pese a esto, los suelos ácidos soportan también el riesgo de toxicidad, particularmente Mn y Al. De acuerdo con esto, el Mg es un macronutriente esencial de la planta, mientras que el Al no es requerido a pesar de que algunas especies lo acumulan en su tejido (Gransee y Führs, 2013).

Las funciones de Mg en las plantas están relacionadas principalmente con: 1) la unión directa a proteínas y enzima para determinar su estructura y/o desempeñar un papel catalítico, tal como el átomo central de la molécula de clorofila o como elemento conector en la agregación de ribosomas; (2) la unión al sustrato de una enzima aumentando así el rendimiento de la reacción catalítica, tal como en la fosforilación de Mg-ATP (Marschner, 2012); 3) el crecimiento general de las plantas y el estado oxidativo (Farzadfar, 2016); y 4) como un activador de enzimas involucradas en la formación ROS así como un factor que disminuye la viabilidad de esporas de hongos cuando se encuentra una alta relación con el Ca y K (Chuang, 1988).

Por otro lado, el antagonismo del Mn sobre el Na no es muy claro y posiblemente pudo estar influenciado por las interacciones bioquímicas del patosistema en estudio. El papel del Na en la nutrición de las plantas radica en: 1) la medida en que puede sustituir las funciones del K en las plantas, y 2) su influencia en el mejoramiento del crecimiento de las plantas (Marschner, 2012).

Finalmente, teniendo en cuenta la concentración de los nutrientes en los tejidos de los tratamientos evaluados, cabe resaltar los altos contenidos de B en los tratamientos de mejor respuesta en cuanto a la severidad de la enfermedad y por ende el efecto contrario en aquellos tratamientos con mayor tasa de desarrollo de la enfermedad. En este sentido, y a pesar de no presentarse una relación significativa, esta condición puede ser debida a las relaciones negativas con el N y Ca.

A nivel fisiológico, la deficiencia de boro puede causar reducciones en los rendimientos de los cultivos, deteriorar la calidad de los cultivos o tener ambos efectos. Estos trastornos están relacionados con peculiaridades en el transporte y distribución del elemento que inician con la captación por las raíces e influyen en funciones metabólicas tales como: 1) el crecimiento de las raíces, 2) la dinámica de proteínas y compuestos nitrogenados, 3) la síntesis de azúcares, 4) la regulación del suministro de auxina en las plantas, 5) la protección del sistema de

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

oxidasa de ácido indolacético (IAA) y 6) la producción de semillas y/o la producción de flores funcionales (Gupta, 2006.).

El papel del B en el manejo de enfermedades está estrechamente relacionado con sus efectos sobre los procesos estructurales y metabólicos que controlan la defensa de las plantas, y su deficiencia conduce a la susceptibilidad del huésped comprometiendo la capacidad de la planta de fabricar lignina y compuestos fenólicos que son necesarios para inhibir la invasión de patógenos como parte del sistema de defensa bioquímica de la planta (Spann y Schumann, 2010; Elmer y Datnoff, 2014).

Para el caso específico del cultivo de mora, la deficiencia de B causa el incremento en los contenidos foliares de K (Castaño *et al.*, 2008), adicionalmente, las plantas deficientes manifiestan la formación de frutos agrietados y alargados, la muerte de tallos y ápices de las raíces, hojas con engrosamiento, marchitez, rizado y presencia de moteados cloróticos (Morales y Villegas, 2012).

6. Conclusiones

La incidencia de antracnosis causada por la inoculación con la cepa 52 fue del 100 % al final de las evaluaciones y presentó severidades en rangos del 1 % hasta 100 %, en periodos comprendidos de 8 a 56 días después de la inoculación. Al final de las evaluaciones, se observó severidad de 7,58 % a 100 %, con periodos de incubación entre nueve a 21 días. Temperatura promedio de 18 °C y humedad relativa del 57 % contribuyeron a los procesos de infección y desarrollo de la cepa 52, lo cual respalda la alta patogenicidad del hongo sobre plantas de mora castilla.

El presente trabajo de investigación permitió verificar el efecto negativo de la cepa 52 sobre las condiciones fisiológicas de la mora castilla. Dicho efecto radicó en un descenso marcado en el contenido de clorofilas, el cual a su vez influyó negativamente en el desarrollo de las plantas al disminuir el crecimiento y el área foliar.

El modelo de regresión lineal múltiple obtenido sobre el efecto de las dosis de los nutrientes aplicados a las plantas inoculadas, demostró la disminución de la severidad con el incremento de las dosis de nitrógeno, así como un aumento de esta al acrecentar las dosis de fósforo y calcio. El resultado obtenido posiblemente se debe a patrones fisiológicos de interacciones entre la planta y el patógeno, influenciados por la susceptibilidad y estado de desarrollo del material vegetal utilizado, así como la alta patogenicidad de la cepa 52 de *C. gloeosporioides*.

Dosis de 32-35-48-9 g/planta de N, P₂O₅, K₂O y CaO, aplicadas a plantas de mora castilla mostraron un efecto positivo sobre la sanidad de la planta relacionada con antracnosis, debido a la reducción en el porcentaje de severidad y la tasa de desarrollo de *C. gloeosporioides* cepa 52; y permitió a la vez un mayor índice de contenido de clorofilas. Las plantas de mora castilla que recibieron dosis de 48-12-72-28 g/planta de N, P₂O₅, K₂O y CaO, respectivamente, desarrollaron mayor área foliar y altura.

Los resultados obtenidos en la presente investigación demostraron la importancia del nitrógeno y el calcio para el desarrollo vegetativo inicial de las plantas de mora castilla y su efecto frente a infecciones de *C. gloeosporioides* cepa 52 agente causal de antracnosis. La aplicación de 32-35-48-9 g/planta de N, P₂O₅, K₂O y CaO, identificada en el presente trabajo de investigación, puede contribuir al incremento de la tolerancia del material a antracnosis en las etapas iniciales de desarrollo, así como a un establecimiento adecuado en campo.

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

7. Recomendaciones

A partir de los resultados obtenidos en la presente investigación, se debe ampliar el espacio exploratorio de análisis de datos a partir de las dosis aplicadas y así aplicar modelos estadísticos que permitan la definición de dosis óptimas, en busca de respuestas fisiológicas adecuadas de las plantas de mora castilla a la fertilización y que contribuya en la disminución de la susceptibilidad al hongo *C. gloeosporioides* agente causal de antracnosis en el cultivo.

Dada la influencia de la nutrición mineral sobre la producción del cultivo de mora castilla y sobre enfermedades fitosanitarias, se recomienda tener en cuenta los resultados obtenidos en el patosistema estudiado en investigaciones más detalladas sobre interacciones planta - patógeno.

Para contribuir a un establecimiento adecuado de la mora castilla en campo y reducir la susceptibilidad del cultivo a antracnosis causada *C. gloeosporioides*, se recomienda tener en cuenta en los planes de fertilización la aplicación de 32 – 35 – 48 - 9 g/planta de N, P₂O₅, K₂O y CaO en fase de vivero.

8. Bibliografía

- Abella, Y. 2015. Estudio de la incidencia de infecciones quiescentes de *Colletotrichum* spp., en flores y frutos de mora (*Rubus glaucus* Benth). Trabajo de grado. Universidad de Cundinamarca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Ingeniería Agronómica. Fusagasugá.
- Acevedo, N. y Ospina, J. 2010. Evaluación in vitro del efecto de canela (*Cinnamomum zeylanicum* nees), para el control de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Penz. & Sacc.) en el cultivo de mora (*Rubus glaucus* Benth.). pp. 109-110. Informe final técnico proyecto “Productores de lulo y mora competitivos mediante selección participativa de clones élite, manejo integrado del cultivo y fortalecimiento de cadenas de valor Fontagro mora lulo”. Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, Cali.
- Afanador, L., González, A., Gañán, L., Mejía, J., Cardona, N. y Alvarez, E. 2014. Characterization of the *Colletotrichum* species causing anthracnose in Andean blackberry in Colombia. *Plant Dis.* 98: 1503-1513.
- Afanador, L.; Álvarez, E. y Mejía, J. 2009. Especies de *Colletotrichum* causantes de antracnosis de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth.) en Colombia. pp. 107-108. En: Memorias del XXIX Congreso Nacional Fitopatología y Ciencias Afines –ASCOLFI-. Medellín, Editorial ASCOLFI.
- Afanador; L.; Álvarez, E. y González, A. 2010. Antracnosis de la mora de Castilla (*Rubus Glaucus* Benth.): Variabilidad en especies y razas del agente causante e identificación de fuentes de resistencia a la enfermedad. pp. 66-84. En: Informe final técnico proyecto “Productores de lulo y mora competitivos mediante selección participativa de clones élite, manejo integrado del cultivo y fortalecimiento de cadenas de valor Fontagro mora lulo”. Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, Cali.
- Agrios, G. 2005. *Plant pathology*, 5th. ed. Academic Press, London.
- Ahn, Il., Kim, S., Choi, W. y Lee, Y. 2003. Calcium restores prepenetration morphogenesis abolished by polyamines in *Colletotrichum gloeosporioides* infecting red pepper. *FEMS Microbiology Letters* 227: 237-241.
- Álvarez, P.; García, R.; Mora, M.; González, J. y Salgado, M. 2013. Current status of *Peronospora sparsa*, causal agent of downy mildew on rose (*Rosa* sp.) *Rev. Mex. Fitopatol.* 31 (2): 113-125.
- Amil, F. 2013. Molecular mechanisms of strawberry plant defence against *Colletotrichum acutatum*. Tesis de doctorado. Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Córdoba, España.
- Amtmann, A.; Troufflard, S. y Armengaud, P. 2008. The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants. *Physiologia Plantarum* 133 (4): 682–691.
- Anten, N., Werger, M. y Medina, E. 1998. Nitrogen distribution and leaf area indices in relation to photosynthetic nitrogen use efficiency in savanna grasses. *Plant Ecology* 138: 63-75.

- Arabi, M.; MirAli, N. y Jawhar. M. 2002. Effect of foliar and soil potassium fertilisation on wheat yield and severity of *Septoria tritici* blotch. *Australasian Plant Pathology*. 31: 359–362.
- Arango, L. 2010. Evaluación de alternativas de control biológico de *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum acutatum* por antagonismo con *Trichoderma* spp. pp. 84-101. Informe final técnico proyecto “Productores de lulo y mora competitivos mediante selección participativa de clones élite, manejo integrado del cultivo y fortalecimiento de cadenas de valor Fontagro mora lulo”. Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, Cali.
- Aranzazu, F. 1999. Determinación de la presencia de enfermedades quiescentes causadas por (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz). pp 20. En: Frutos de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*). Convenio CORPOICA-PRONATTA. Santafé de Bogotá DC.
- Arrieta-Guevara, M., Higuera-Mancipe, B. y Martínez-Peralta, S. 2010. Induction of phenylalanine ammonia lyase and variation in phenolic compounds content in lulo fruits (*Solanum quitoense* Lam) infected by *Colletotrichum acutatum*. *Acta Biol. Colomb.* 15 (1): 129 – 144.
- Artunduaga, B. 2010. Efecto de la fertilización en dos ecotipos de mora (*Rubus* sp.) y su relación con el rendimiento en Andisoles. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Palmira.
- Awang, Y., Azlan, M., Ghani, A., Sijam, K. y Mohamad, R. 2011. Effect of calcium chloride on anthracnose disease and postharvest quality of red-flesh dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *African Journal of Microbiology Research* 5 (29): 5250-5259.
- Bailey, J. A. & M. J. Jeger. 1992. *Colletotrichum*: Biology, pathology and control. Redwood Press Ltd., CAB International, Wallingford, UK.
- Bankole, S. y Adebajo, A. 2002. Biocontrol of brown blotch of cowpea caused by *Colletotrichum truncatum* with *Trichoderma viride*. *Crop Protection* 15: 633–636.
- Barker, A. y Bryson, G. 2006. Nitrogen metabolism and nitrogenous constituents in plants. pp. 22-23. En: Allen V. Barker and David J. Pilbeam (eds.). *Handbook of Plant Nutrition*. Taylor & Francis Group. New York, USA.
- Barnett, L. y Hunter, B. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4ta ed. APS Press. Minnesota, USA.
- Barrero, L. (ed). 2009. Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado. Cundinamarca - Colombia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - CORPOICA. Mosquera, Colombia.
- Becerril, A. 2010. Nutrición de especies frutales. pp. 13-14. En: Memorias VII Seminario Internacional de Frutales Tropicales “Agroindustria e Innovación”. Medellín, Colombia.
- Bentham, G. 1839-1857. *Plantas Hartwegianas Imprimis Mexicanas*. Londres. En: Morales, C.S. y Villegas, B. 2012. Mora (*Rubus glaucus* Benth.). Manual para el cultivo de frutales en el trópico (G. Fischer, ed.). Produmedios, Bogotá.
- Berkeley, J. 1862. Fungi on rose leaves. *Gardener's Chronicle*: 307-308. En: Álvarez, P.; García, R.; Mora, M.; González, J.; y Salgado, M. 2013. Estado Actual de *Peronospora sparsa*, Causante del Mildiu Velloso en Rosa (*Rosa* sp.).

- Rev. Mexicana de fitopatología. 31 (2): 113-125. En línea: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000200004&lng=es&tlng=es [Consultado el 13 de agosto de 2016].
- Berlanger, I. y Powelson, M. 2000. Verticillium wilt. The Plant Health Instructor. American Phytopathological Society (APS). En línea: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/ascomycetes/Pages/VerticilliumWilt.aspx> [Consultado el 29 de agosto de 2016].
- Bolaños-Benavides, M, Cardona, W., Ramírez, W. y Arguelles, J. 2014. Requerimientos Nutricionales (N, P, K y Ca) de *Rubus glaucus* B., durante crecimiento vegetativo. Memorias XX Congreso Latinoamericano y XVI Congreso Peruano de la Ciencia del Suelo. Cuzco, Perú. En línea: [http://www.lamolina.edu.pe/Eventos/agronomia/2015/Latinoamericano_suelos/C3/C3.%20Bola%20C3%B1os%20Martha_REQUERIMIENTOS%20NUTRICIONALES%20\(N,%20P,%20K%20y%20Ca\).pdf](http://www.lamolina.edu.pe/Eventos/agronomia/2015/Latinoamericano_suelos/C3/C3.%20Bola%20C3%B1os%20Martha_REQUERIMIENTOS%20NUTRICIONALES%20(N,%20P,%20K%20y%20Ca).pdf) [Consultado el 11 de enero de 2017].
- Bolaños-Benavides, M. 2016. Proyecto: Requerimientos nutricionales (N, P, K y Ca) del cultivo de mora (*Rubus glaucus* B.), determinados y manejo eficiente de la fertilización integrada. Corporación Colombiana de Investigación agropecuaria CORPOICA. Centro de Investigación Tibaitatá. Mosquera Cundinamarca.
- Bossea, R., Bower, J. y Bertling, I. 2013. Systemic resistance inducers applied preharvest for *Colletotrichum gloeosporioides* control in avocados. Proc. 2nd All Africa Horticulture Congress Eds. Acta Hort. 1007. 153-160.
- Botero M. 2001. Interacción biológica de microorganismos relacionados con *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz y Sacc., agente causal de antracnosis en tomate de árbol (*Solanum betaceae* (Cav.) Sendt). Universidad de Caldas. Manizales, Colombia.
- Bravo N. 1996. Efecto in vitro de *Bacillus* sp., sobre el crecimiento, esporulación y germinación de conidias y esporas de nueve hongos. Fitopatología Colombiana. 17 (2): 62-72.
- Brunings, A.M., Liu, G. y Simmone, E.H. 2012. Are phosphorus and phosphoric acids equal phosphorus sources for plant growth? HS1010. Gainesville: Horticultural Science Department, IFAS, University of Florida. En: Elmer, W. y Datnoff, L. 2014. Mineral Nutrition and Suppression of Plant Disease. Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. 4: 231-244.
- Cardona, W., Monsalve-Camacho, O., Gutiérrez-Díaz, J y Bolaños-Benavides, M. 2016. Efecto de N, P, K y Ca sobre crecimiento de mora con tunas en vivero. Memorias XVIII Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo. Villa de Leyva, Colombia.
- Carrillo, J.; García, R.; Muy, M.; Sañudo, A.; Márquez, I.; Allende, R.; de la Garza, M.; Patiño, M. y Galindo, E. 2005. Control biológico de antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc.] y su efecto en la calidad poscosecha del mango (*Mangifera indica* L.) en Sinaloa, México. Rev. Mexicana de fitopatología. 3 (1): 24-32.
- Carris, L., Little, C. y Stiles, C. 2015. Introduction to Fungi. The Plant Health Instructor. American Phytopathological Society - APS.

- Castaño, C.; Morales, C.S. y Obando, F. 2008. Evaluación de las deficiencias nutricionales en el cultivo de la mora (*Rubus glaucus*) en condiciones controladas para bosque montano bajo. Revista Agronomía – Universidad de Caldas. 16 (1): 75 – 88.
- Castaño-Zapata, J. 2002. Principios básicos de fitoepidemiología. Centro Editorial. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia.
- Castaño-Zapata, J. y del Río, L. 1994. Guía para el diagnóstico y control de enfermedades en cultivos de importancia económica. 3ra edición. Zamorano Academic Pres. Zamorano, Honduras.
- Castro, J. y Cerdas, M. 2005. Mora (*Rubus* spp.). Cultivo y manejo pscosecha. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Universidad de Costa Rica, Consejo Nacional de Producción. Sistema unificado de información institucional, Fundación para el fomento y promoción de la investigación y transferencia de tecnología agropecuaria de Costa Rica.
- Chaboussou, F. 1967. La trophobiose ou les rapports nutritinels entre la Plante-hôte et ses parasites. Ann. Soc. Ent. Fr. 3 (3): 797-809.
- Cheval, C.; Aldon, D.; Galaud, J. y Ranty, B. 2013. Calcium/calmodulin-mediated regulation of plant immunity. Biochimica et Biophysica Acta. 1833: 1766–1771.
- Chondraki, S., Tzerakis, C. y Tzortzakis, N. 2012. Influence of sodium chloride and calcium foliar spray on hydroponically grown parsley in nutrient film technique system. Journal of Plant Nutrition. 35: 1457–1467.
- Chuang, Y. 1988. Studies on the soils suppressive to banana Fusarium wilt ii. Nature of suppression to Race 4 of *Fusarium oxysporum* fs. *cubense* in Taiwan soils. Plant Protection. 30 (2): 125-134.
- Clement. R. y Habte, M. 1994. Effect of soil solution phosphorus on seedling growth of the pejibaye palm in an oxisol. Journal of Plant Nutrition. 17(4): 639-655.
- Conti, M. 2001. Disponibilidad de potasio, aspectos relacionados a la dinámica de liberación y renovación de la solución del suelo. 1: 13-59. En: El potasio en Sistemas agrícolas argentinos. 1º Simposio FAUBA/PI- INTA. Buenos Aires Argentina.
- CORPOICA - Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. 2015. Tecnologías de manejo integrado de enfermedades (antracnosis y Botrytis) con bioinsumos por cultivar de mora en Antioquia, Cundinamarca y Santander (2014). Informe técnico final de producto. Macroproyecto: Desarrollo integral de modelos productivos sostenibles de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) en Colombia.
- CORPOICA - Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. 2014. Página principal. En línea: <http://www.CORPOICA.org.co/> [Consultado el 6 de marzo de 2017].
- DANE - ENA. 2012. Informe Agropecuario Cundinamarca.
- de Goes, A.; Garrido, R.; Reis, R.; Baldassari, R. y Soares, M. 2008. Evaluation of fungicide applications to sweet orange at different flowering stages for control of postbloom fruit drop caused by *Colletotrichum acutatum*. Crop Protection. 27 (1): 71–76.

- de los Santos, B.; de Paredes, G. y Romero, F. 2002. Effect of different fungicides in the control of *Colletotrichum acutatum*, causal agent of anthracnose crown rot in strawberry plants. *Crop Protection*. 21 (1): 11–15.
- Deshmukh, A., Mehta, B., Sabalpara, A. y Patil, V. 2012. *In vitro* effect of various nitrogen, carbon sources and pH regimes on the growth and sporulation of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. and Sacc causing anthracnose of Indian bean. *JBiopest*. 5 (Supplementary): 46-49.
- Díaz, C.; Navas, G. y Tamayo, A. 2010. La fertilización química de la mora San Antonio, dentro de la implementación de las BPA en Antioquia y Caldas. 68 p. En: Memorias VII Seminario Internacional de Frutas Tropicales, Agroindustria e Innovación. Medellín, Colombia, 22 y 23 de julio de 2010.
- Dordas, C. 2009. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture: A Review. 443-460. En: Lichtfouse, E.; Navarrete, M.; Debaeke, P.; Véronique y S.; Alberola, C. 2009. Sustainable agricultura.
- Drori, N., Kramer-Haimovich, H., Rollins, J., Dinooor, A., Okon, Y., Pines, O. and Prusky, D. 2003. External pH and nitrogen source affect secretion of pectate lyase by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Applied and environmental microbiology*. 3258–3262.
- Elmer, W. y Datnoff, L. 2014. Nutrition and suppression of plant disease. *encyclopedia of agriculture and food systems*. 4: 231-244.
- ERS MIDAS CROPS. 2009. Situación actual y perspectivas del mercado de la mora. 2-16.
- Espín, M. 2012. Validación de los componentes tecnológicos limpio y orgánico, con y sin *Trichoderma* para el manejo del cultivo de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth.) en el Cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Recursos Naturales. Escuela de Ingeniería Agronómica. Riobamba, Ecuador.
- Espinosa, N., Sánchez, D.; García, A.; Ariza, M.; Ariza, C. y Barrero, Luz. 2009. Evaluación agronómica, nutricional y selección participativa de materiales de mora en Sylvania, Cundinamarca. pp. 34-42. En: Barrero, L. (Ed). 2009. Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado. Cundinamarca - Colombia. CORPOICA. Mosquera, Colombia.
- Faisal, M.; Nagendran, K.; Gandhi, K.; Raguchander, T. y Prabakar, K. 2014. Water in oil based PGPR formulation of *Pseudomonas fluorescens* (FP7) showed enhanced resistance against *Colletotrichum musae*. *Crop Protection*. 65: 186-193.
- Fallahi, E.; Conway, W.; Hickey, K. y Sams, C. 1997. The role of calcium and nitrogen in postharvest quality and disease resistance of apples. *Hort science* 32: 831-835.
- Farzadfar, S., Zarinkamar, F. Behmanesh, M. Hojati, M. 2016. Magnesium and manganese interactively modulate parthenolide accumulation and the antioxidant defense system in the leaves of *Tanacetum parthenium*. *Journal of Plant Physiology*. 202 (1): 10–20.
- Forero de la Rotta, M. 2001. Enfermedades de la mora castilla. Instituto Colombiano Agropecuario – ICA.

- Forero de La-Rotta, M.; Avila, W. y González, R. 2002. Estudio sobre "Antracnosis" en mora de Castilla. En: Seminario frutales de clima frío moderado. 2002. Memorias del Cuarto seminario nacional de frutales de clima frío moderado. Medellín, Colombia.
- Franco, G. y Giraldo, C. 1998. El cultivo de la mora. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA. Programa Nacional de Transferencia de Tecnología Agropecuaria, PRONATTA. Santafé de Bogotá DC.
- Franco, G. y Giraldo, M. 1999. El cultivo de mora. 2da edición. CORPOICA - Federación Nacional de Cafeteros de Colombia - Comité de Cafeteros de Risaralda. Pereira, Colombia.
- Franco, G. y Giraldo, M. 2001. El cultivo de mora. 3da edición. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA – Regional Nueve. Pereira, Colombia.
- Franco, G.; Gallego, J.; Tamayo, A.; Heredia, L. y Medina, G. 2000. Fertilización de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth.) en zonas frías del departamento de Caldas. pp. 81-87. Memorias del tercer seminario frutales de clima frío moderado. Centro de Desarrollo Tecnológico de Frutales C.D.T.F. Manizales, Colombia.
- García-Velasco, R.; González-Díaz, J.; Domínguez-Arizmendi, G.; Ayala-Escobar, V. y Aguilar-Medel, S. 2012. *Rosellinia necatrix* en *Rosa* sp. y su evaluación a sensibilidad de fungicidas. Rev. Chapingo Serie Horticultura. 18 (1): 39-54.
- Gaviria-Hernández, V.; Patiño-Hoyos, L. y Saldarriaga-Cardona, A. 2013. In vitro evaluation of commercial fungicides for control of *Colletotrichum* spp., in blackberry. CORPOICA Cienc. Tecnol. Agropecu. 14 (1): 67-75.
- Gierth, M. & Mäser, P. 2007. Potassium transporters in plants – Involvement in K⁺ acquisition, redistribution and homeostasis. Federation of European Biochemical Societies. FEBS Letters. 581 (12): 2348–2356.
- Gillard, C. y Ranatunga, N. 2013. Interaction between seed treatments, surfactants and foliar fungicides on controlling dry bean anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). Crop Protection. 45: 22–28.
- Gillard, C.; Ranatunga, N. and Conner, R. 2012. The control of dry bean anthracnose through seed treatment and the correct application timing of foliar fungicides. Crop Protection. 37: 81–90.
- Gimenez, S. y Rathjen, J. 2010. The case for the defense: plants versus *Pseudomonas syringae*. Microbes and Infection. 12: 428-437.
- Gómez, I. 2012. Fertilización de frutales. pp. 141-168. En: Fischer, G. (ed). 2012. Manual para el cultivo de frutales en el trópico. Santafé de Bogotá DC.
- Gonçalves, M., Ogoshi, C., Fernandes, J., Oliveira, R., Braga, J., Martins, P. y Sobral, M. 2012. Pigments, total soluble phenols and lignin levels of coffee seedlings inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides*. Coffee Science, Lavras. 7 (2): 152-159.
- Gracia-Garza, J.; Blom, T.; Brown, W.; Roberts, D.; Schneider, K.; Freisen, M. y Gombert, D. 2004. Increased incidence of *Erwinia* soft-rot on calla lilies in the presence of phosphorous. European journal of plant pathology. 110: 293–298.

- Gransee, A. y Führs, H. 2013. Magnesium mobility in soils as a challenge for soil and plant analysis, magnesium fertilization and root uptake under adverse growth conditions. *Plant Soil*. 368: 5–21
- Grellet-Bournonville, C., Martínez-Zamora, M., Castagnaro, A. y Díaz-Ricci, J. 2012. Temporal accumulation of salicylic acid activates the defense response against *Colletotrichum* in strawberry. *Plant physiology and biochemistry*. 54: 10 – 16.
- Gupta; U. 2006. Boron. 241-268 p. En: Allen V. Barker y David J. Pilbeam. 2006. *Handbook of Plant Nutrition*. Taylor & Francis Group. New York, USA.
- Gutiérrez, M.; Galvis, J. y Ochoa, C. 2002. Eficiencia agronómica y económica de la aplicación de gallinaza y fósforo, en mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth.) para la zona fría de Boyacá. En: IV Seminario Nacional de Frutales de Clima Frio Moderado. Medellín, Colombia.
- Hart, J., Strik, B. y Sheets, A. 2006. Caneberry fertilizer guide. Ore. State Univ. Ext. Serv. FG 51.
- Hawkesford, M.; Horst, W.; Kichey, T.; Lambers, H.; Schjoerring, J.; Møller, I. y White, P. 2012. Functions of Macronutrients. 123-189. En: Marschner, P. (ed). 2012. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Elsevier Ltd. San Diego, USA.
- Huber, D. 1997. Manejo de la nutrición para el combate de patógenos de plantas. *Agronomía Costarricense*. 21 (1): 99-102.
- Huber, D. y R., Watson. 1974. Nitrogen form and plant disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 12: 139-165.
- Huber, D. y Thompsom, I. 2007. Nitrogen and plant disease. 31-43. En: Datnoff, L.; Elmer, W. y Huber, D. 2007. *Mineral nutrition and plant disease*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.
- Huber, D. y Watson, R. 1974. Nitrogen Form and Plant Disease. *Annual Review of Phytopathology*. 12: 139-165 (Volume publication date September 1974)
- Huber, D.; Römheld, W. y Weinmann, M. 2012. Relationship between nutrition, plant diseases and pests. 283-298. En: Marschner, P. (ed). 2012. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Elsevier Ltd. San Diego, USA.
- ICA - Instituto Colombiano Agropecuario. 2011. Manejo fitosanitario del cultivo de la mora (*Rubus glaucus* Benth.). Medidas para la temporada invernal.
- Imas, P. y Bansal, S. 1999. Potassium and integrated nutrient management in potato. *Proceedings of the global conference on potato*, New Delhi, 6-11 December 1999, 6-11.
- Index Fungorum. 2016. En línea en: <http://www.indexfungorum.org/names/names.asp> [Consultado el 29 de agosto de 2016].
- Jackson, S. y Heath, I. 1993. Roles of calcium ions in hyphal tip growth. *Microbiol. Rev.* 57:367-382.
- Jakobsen, S. 1992. Interaction between plant nutrients: 1. Theory and analytical procedures. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science*. 42(4): 208-212.
- Katan, J. 2009. Mineral nutrient management and plant disease. *Optimizing crop nutrition*. 21: 6-8.

- Kim, Y., Li, D. y Kolattukudy, P. 1998. Induction of Ca²⁺-calmodulin signaling by hard-surface contact primes *Colletotrichum gloeosporioides* conidia to germinate and form appressoria. J. Bacteriol. 180: 5144-5150.
- Knops, J. y Reinhart, K. 2000. Specific leaf area along a nitrogen fertilization gradient. Am. Midl. Nat. 144: 265-272.
- Kramer-Haimovich, H., Servi, E., Katan, T., Rollins, J., Okon, Y. y Prusky, D. 2006. Effect of ammonia production by *Colletotrichum gloeosporioides* on *pelB* activation, pectate lyase secretion, and fruit pathogenicity. Applied and environmental microbiology. 1034–1039.
- Kuppera, K.; Corrêa, F.; de Azevedo, F. and da Silva, A. 2012. *Bacillus subtilis* to biological control of postbloom fruit drop caused by *Colletotrichum acutatum* under field conditions. Scientia Horticulturae. 134: 139-143
- Kwon, C., Neu, C., Pajonk, S., Yun, H., Lipka, U., Humphry, M., Bau, S., Straus, M., Kwaaitaal, M., Rampelt, H., Kasmi, F., Jurgens, G., Parker, J., Panstruga, R., Lipka, V. y Schulze-Lefert, P. 2008. Co-option of a default secretory pathway for plant immune responses. Nature. 451: 835-40.
- Leroux, P. 2003. Mode of action of agrochemicals towards plant pathogens. Comptes rendus biologiques. 326: 9-21.
- Lobato, A., Gonçalves-Vidigal, M. Filho, V., Andrade, C. Kvitschal, M. y Bonato, C. 2010. Relationships between leaf pigments and photosynthesis in common bean plants infected by anthracnose, New Zealand journal of crop and horticultural science. 38 (1): 29-37.
- Lohnis, M. 1960. Effect of magnesium and calcium supply on the uptake of manganese by various crop plants. Plant and soil XII. 4: 339 -376.
- Long, D.; Lee, F. y TeBeest, D. 2000. Effect of nitrogen fertilization on disease progress of rice blast on susceptible and resistant cultivars. Plant Dis. 84: 403-409.
- López, J.; Castaño-Zapata, J.; Marulanda, M. y López, A. 2013. Caracterización de la resistencia a antracnosis causada por *Glomerella cingulata* y productividad de cinco genotipos de mora (*Rubus glaucus* Benth.). Acta agronómica. 62 (2): 174-105.
- Madani, B., Muda; M., Biggs, A., Kadir, J., Awang, Y., Tayebimeigooni, A. y Roodbar, T. 2014. Effect of pre-harvest calcium chloride applications on fruit calcium level and post-harvest anthracnose disease of papaya. Crop protection 55: 55-60.
- MADR - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 2006. Apuesta Exportadora Agropecuaria 2006-2020.
- Mansfield, J.; Genin, S.; Magori, S.; Citovsky, V.; Sriariyanum, M.; Ronald, P.; Dow, M.; Verdier, V.; Beer, S.; Machado, M.; Toth, I.; Salmond, G. y Foster, G. 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. Molecular plant pathology. 13 (6): 614–629
- Marulanda, M.; López, A. y Aguilar, S. 2007. Genetic diversity of wild and cultivated *Rubus* species in Colombia using AFLP and SSR markers. Crop breeding and applied biotechnology. 7: 242-252.

- McMahon, P. 2012. Effect of Nutrition and Soil Function on Pathogens of Tropical Tree Crops. 243-272. En: Cumagun, C. (Ed). 2012. Plant pathology.
- Méndez, M. y Viteri, S. 2007. Alternativas de biofertilización para la producción sostenible de cebolla de bulbo (*Allium cepa*) en Cucaita, Boyacá. *Agronomía colombiana*. 25 (2): 168-175.
- Mengel, K. 2007. Potassium. pp. 91-116. En: Barker, A. & Pilbeam, D. Handbook of plant nutrition. Taylor and Francis. New York, USA.
- Meziane, D. y Shipley, B. 2001. Direct and indirect relationships between specific leaf area, leaf nitrogen and leaf gas exchange. Effects of irradiance and nutrient supply. *Annals of botany*. 88: 915-927.
- Miyara, I., Shnaiderman, C., Meng, X., Vargas, W., Diaz-Minguez, J., Sherman, A., Thon, M., y Prusky, D. 2009. Role of nitrogen-metabolism genes expressed during pathogenicity of the alkalinizing *Colletotrichum gloeosporioides* and their differential expression in acidifying pathogens. *MPMI Vol.* 25 (9): 1251–1263.
- Monrroy, M. y Reyes R. 2013. ¿Como implementar las buenas prácticas agrícolas?. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria –CORPOICA. Mosquera, Colombia.
- Montoya, C.; Vargas, E. y Villegas L. 2004. Evaluación de bacterias con potencial de biocontrol sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal de antracnosis en frutos de aguacate (*Persea americana*). *Revista ASIAVA*. 64: 13-18.
- Morales - Londoño, C.S. 2012. Síntomas de deficiencias nutricionales en mora de Castilla. En: Morales, C.S. y Villegas, B. 2012. Mora (*Rubus glaucus* Benth.). pp. 738. En: Fischer, G. (ed). 2012. Manual para el cultivo de frutales en el trópico. Produmedios, Bogotá.
- Morales, C.S. y Villegas, B. 2012. Mora (*Rubus glaucus* Benth.). pp. 728-754. En: Fischer, G. (ed). 2012. Manual para el cultivo de frutales en el trópico. Produmedios, Bogotá.
- Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant cell environ.* 25: 239-250.
- Munson, R. 1998. Principles of plant analysis. pp. 1-24. En: Kalra, Y. (ed). 1998. Handbook of Methods for Plant Analysis. CRC Press. Washington DC. New York.
- Nakaune, R. y Nakano, M. 2007. Benomyl resistance of *Colletotrichum acutatum* is caused by enhanced expression of b-tubulin 1 gene regulated by putative leucine zipper protein CaBEN1. *Fungal Genetics and Biology*. 44: 1324-1335.
- Navarro, G & Navarro, S. 2013. Química agrícola: Química del suelo y de los nutrientes esenciales para las plantas. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Navas, G.; Díaz, C. y Tamayo, A. 2010. Efecto de la fertilización biológica en la producción y calidad de mora San Antonio, en Antioquia y Caldas. 71 p. En: Memorias VII Seminario Internacional de Frutas Tropicales, Agroindustria e Innovación. Medellín, Colombia.
- Núñez-Zofío, M.; Larregla, S. y Garbisu, C. 2011. Application of organic amendments followed by soil plastic mulching reduces the incidence of *Phytophthora capsici* in pepper crops under temperate climate. *Crop protection* 30: 1563-1572.

- Oikawa, S. y Ainsworth, E. 2016. Changes in leaf area, nitrogen content and canopy photosynthesis in soybean exposed to an ozone concentration gradient. *Environmental pollution*. 215: 347-355.
- Ojito-Ramos, K. y Portal, O. 2010. Introducción al sistema inmune en plantas. *Biotecnología vegetal*. 10 (1): 3-19.
- Okori, P.; Pubaihayo, P. y Adipala, E. 2004. Interactive effects of host, pathogen and mineral nutrition on grey leaf spot epidemics in Uganda. *European journal of Plant Pathology*. 110 (2): 119.
- Omondi, J. y Onyango, J. 2012. Virulence and pathogenicity of *Colletotrichum sublineolum* and *Colletotrichum gloeosporioides* from leaf, stem panicle tissues on advanced sorghum genotypes and genetic basis of observed responses. *International journal of agricultural sciences*. 2 (12): 336-345.
- Orozco, R. y Muñoz, R. 2012. Efecto de abonos orgánicos en las propiedades químicas del suelo y el rendimiento de la mora (*Rubus adenotrichus*) en dos zonas agroecológicas de Costa Rica. *Tecnología en Marcha*. 25 (1): 16-31.
- Pilbeam, D. y Morley, P. 2006. Calcium. Functions in plants. En: Allen V. Barker and David J. Pilbeam. 2006. *Handbook of Plant Nutrition*. New York, USA.
- PLM. 2009. Diccionario de especialidades agroquímicas. Decima Novena edición. PLM. México DF.
- PLM. 2012. Diccionario de especialidades agroquímicas. Edición 22. Versión digital. México DF.
- Arauz L. 2000. Mango Anthracnose: Economic impact and current options for integrated management. *Plant disease*. 86 (6): 600–611.
- Prabhu, A.; Fageria, N. y Berni, R. 2007. Phosphorus and plant disease. pp 45-55. En: Datnoff, L.; Elmer, W. y Huber, D. 2007. *Mineral nutrition and plant disease*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.
- Prsa, I., Stampar, F., Vodnik, D. y Veberic, R. 2007. Influence of nitrogen on leaf chlorophyll content and photosynthesis of 'Golden Delicious' apple. *Acta agriculturae scandinavica section b-soil and plant science*. 57: 283-289.
- Pruna, W. 2007. Respuesta del cultivo de mora (*Rubus glaucus*, variedad castilla) a tres niveles de materia orgánica (3, 6, 12%), cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi. Universidad Nacional de Loja. Área Agropecuaria Y Recursos Naturales Renovables Carrera de Ingeniería en administración y Producción Agropecuaria. Loja, Ecuador.
- Prusky, D.; Freeman, S. y Dickman, M. 2000. *Colletotrichum* host specificity, pathology and host-pathogen interaction. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA.
- Pyo, Y., Gierth, M., Schroeder, J. & Cho, M. 2010. High-affinity K(+) transport in Arabidopsis: AtHAK5 and AKT1 are vital for seedling establishment and postgermination growth under low-potassium conditions. *Plant Physiology*. 153 (2): 863-875.
- R Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

- Rahman, M. y Punja, Z. 2007. Calcium and plant disease. 79-93. En: Datnoff, L.; Elmer, W. y Huber, D. 2007. Mineral nutrition and plant disease. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.
- Ramírez, C.; Castaño, J.; Villegas, B. y Aristizábal, M. 2012. Effect of quematical inducers of disease resistance to black (*Mycosphaerella fijiensis* MORELET) and yellow Sigatokas (*Mycosphaerella musicola* LEACH) in plantain. Revista U.D.C.A actualidad y divulgación científica.15 (2): 363 – 371.
- Ramírez, M.; Roveda, G.; Bonilla, R.; Peñaranda, A.; Díaz, C.; Tamayo, A. y Navas. G. 2008. Evaluación de biofertilizantes mixtos. 52-58. En: Roveda, G.; Cabra, L. y Ramírez M. (ed). 2008. Uso de microorganismos con potencial como biofertilizantes en el cultivo de mora. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA. Centro de Investigación Tibaitata. Mosquera, Colombia.
- Reuveni, M.; Agapov, V. y Reuveni, R. 1996. Controlling powdery mildew caused by *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber by foliar sprays of phosphate and potassium salts. Crop protection. 15 (1): 49-53.
- Ríos, M. 2010. Control biológico de la antacnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el ecotipo: Amarillo puntón, mediante hongos endofíticos antagonistas. Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Facultad de ciencias agropecuarias y ambientales. Paute – Azuay, Ecuador.
- Riveros, A. 2010. Inducción de resistencia en plantas. Interacción: planta-patógeno. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). San Jose, Costa Rica.
- Roveda, G. Ramírez, M. y Cabra, L. 2008. Potencial de microorganismos como biofertilizantes. 44-51. En: Roveda, G.; Cabra, L. y Ramírez M. (ed). 2008. Uso de microorganismos con potencial como biofertilizantes en el cultivo de mora. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA. Centro de Investigación Tibaitata. Mosquera, Colombia.
- Rueda, K. 2010. Caracterización molecular de especies de *Colletotrichum* prevalentes en las zonas productoras de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth.) en Antioquia. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín.
- Salazar, M. y Pardo, M. 2007. Species from Colombia, Ecuador and Peru belonging to the genus *Gerwasia* Raciborski from the order Uredinales. Caldasia. 29 (1):105-120.
- Saldarriaga, A. 2006. Caracterización del agente causal de antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Fitotecnia, Programa de Maestría en Fitopatología.
- Saldarriaga, A. y Bernal J. 2000. Enfermedades asociadas al cultivo de mora (*Rubus glaucus* Benth.) en el departamento de Antioquia. pp. 132-135. En: Memorias del tercer seminario de frutales de clima frío moderado. Manizales, Colombia.
- Saldarriaga, A.; Navas, G.; Navas, A.; Franco, G.; Ríos; G.; Vásquez, L.; Londoño, M.; Macías, A.; Hincapié, M.; Gómez, E.; González, S.; Gaviria, V.; Arango, R.;

- Cañas, G.; Rueda, N.; Ochoa, M.; Salamandro, C.; Osorio, J.; Martínez, E.; Hio, J.; Forero, C.; Abaunzá, C.; González, A.; Segura, J.; Gómez, R. y Palacios, X. 2012. Informe técnico final del proyecto “Biología, caracterización y comportamiento del patógeno de antracnosis de la mora (*Rubus glaucus* Benth.), como base para establecer estrategias de manejo”. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA. Rionegro, Colombia.
- Saldarriaga-Cardona, A. 2017. Principales enfermedades de la mora, avances de investigación y prácticas de manejo integrado. CORPOICA, Centro de Investigación La Selva, Rionegro, Antioquia.
- Saldarriaga-Cardona, A.; Castaño-Zapata, J. y Arango-Isaza, R. 2008. Caracterización del agente causante de antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora. Rev. Academia colombiana de ciencias exactas, físicas y naturales. 32 (123): 145-156.
- Sanchez, A. 2006. Phosphorus functions in plants. pp. 52-53. En: Allen V. Barker and David J. Pilbeam. 2006. Handbook of Plant Nutrition. New York, USA.
- Schwessinger, B. y Zipfel, C. 2008. News from the frontline: recent insights into PAMP-triggered immunity in plants. Current opinion in plant biology. 11: 389-395.
- SIEMBRA. 2014. Agenda de I+Di del sector agropecuario. En línea: <http://www.siembra.gov.co/siembra/Agenda.aspx> [Consultado el 6 de marzo de 2017].
- Sivakumar, D., Hewarathgamagae, N., Wijeratnam, W. y Wijesundera, R. 2002. Effect of ammonium carbonate and sodium bicarbonate on Anthracnose of papaya. Phytoparasitica. 30 (5): 486-492.
- Snoeiijers, S.; Pérez, A.; Joosten, M. y De Wit, P. 2000. The effect of nitrogen on disease development and gene expression in bacterial and fungal plant pathogens. European Journal of Plant Pathology. 106 (6): 493-506
- Spann, T. and y Schumann, A. 2010. Mineral nutrition contributes to plant disease and pest resistance. The horticultural sciences department, Florida cooperative Extension service, Institute of food and agricultural sciences, University of Florida. En línea en: <https://edis.ifas.ufl.edu/hs1181> [Consultado el 29 de agosto de 2016].
- Srivastava, K. y Saksena, R. 1967. Carbon and nitrogen requirement of *Colletotrichum gloeosporioides* Pez. Def. Sci. J. 17: 119-123.
- Stošić, S., Stojanović, S., Milosavljević, A., Dolovac, E. y Živković, E. 2014. Effect of calcium salts on postharvest fungal pathogens in vitro. Plant protection. 65 (1): 40-46.
- Strik, B.; Clark, J.; Finn, C. y Bañados, M. 2007. Worldwide blackberry production. Hortotechnology. 17 (2): 205-313.
- Sugimoto, T.; Watanabe, K.; Yoshida, S.; Aino, M.; Irie, K.; Matoh, T. y Biggs, A. 2008. Select calcium compounds reduce the severity of *Phytophthora* stem rot of soybean. Plant Dis. 92: 1559-1565.
- Tam, R. y Magistad, G. 1935. Relationship between nitrogen fertilization and chlorophyll content in pineapple plants. Plant Physiol. 10 (1): 159–168.

- Tamayo, P. 2001. Principales enfermedades del tomate de árbol, la mora y el lulo en Colombia. Boletín técnico 12. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA - Alcaldía de Medellín. Rionegro, Colombia.
- Tamayo, P. 2003. Principales enfermedades del tomate de árbol, la mora y el lulo en Colombia. Boletín Técnico 20. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA – Alcaldía de Medellín. Rionegro, Colombia.
- Tanaka, A. y Hideo, A. 1980. Effects of calcium on chlorophyll synthesis and stability in the early phase of greening in cucumber cotyledons. *Plant Physiol.* 65: 1211-1215.
- Tandon, R. y Chandra, S. 1962. The nutrition of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *Mycopath. et Mycol. Appl.* 18: 213–224.
- Tavernier, V., Cadiou, S., Pageau, K., Lauge, R., Reisdorf-Cren, L., Langin, T. y Masclaux-Daubresse, C. 2007. The plant nitrogen mobilization promoted by *Colletotrichum lindemuthianum* in *Phaseolus* leaves depends on fungus pathogenicity. *Journal of Experimental Botany.* 58 (12): 3351–3360.
- Tian, S.; Fan; Q.; Xu, Y. Y Jiang, A. 2002. Effects of calcium on biocontrol activity of yeast antagonists against the postharvest fungal pathogen *Rhizopus stolonifer*. *Plant Pathology.* 51: 352-358.
- Tilman, D. 1986. Nitrogen-limited growth in plants from different successional stages. *Ecology.* 62 (2): 555-563.
- Torres, A., Campostrini, E., Goç Alves, J. Bressan-Smith, R. 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia horticultrae.* 104: 199–209.
- Uhm, K., Ahn, I, Kim, S. y Lee, Y. 2003. Calcium/Calmodulin-Dependent Signaling for Prepenetration Development in *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology.* 93 (1): 82-87.
- Vayas, J. 2002. Niveles de fertilización en el cultivo de mora de castilla (*Rubus glaucus*). Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ingeniería Agronómica, Ambato, Ecuador.
- Velasco, V. 2000. Role of mineral nutrition on plant disease tolerance. *Terra.* 17 (3): 193-200.
- Viswanathan, R. y Samiyappan, R. 2010. Resistencia sistémica inducida por *Pseudomonas fluorescens* contra la podredumbre roja de la caña de azúcar causada por *Colletotrichum falcatum*. *Crop protection.* 21 (1): 1–10.
- Viteri, S.; Méndez, M. y Villamil, J. 2012. Verification of alternatives for sustainable onion production (*Allium cepa* L.) in Cucaita, Boyacá. *Agronomía colombiana.* 30 (1): 124-132.
- Walters, D. y Bingham, I. 2007. Influence of nutrition on disease development caused by fungal pathogens: implications for plant disease control. *Annals of applied biology.* 151 (3): 307–324 p.
- Wang, M.; Zheng, Q.; Shen, Q. y Guo, S. 2013. The critical role of potassium in plant stress response. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 7370-7390.
- Warwar, V. y Dickman, M. 1996. Effects of calcium and calmodulin on spore germination and appressorium development in *Colletotrichum trifolii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 74-79.

- Wharton, P. y Diéguez-Uribeondo, J. 2004. The biology of *Colletotrichum acutatum*. Anales del jardín botánico de Madrid. 61 (1): 3-22.
- White, P. y Broadley, M. 2003. Calcium in plants. Annals of Botany. 92: 487-511.
- Wisniewski, M.; Droby, S.; Chalutz, E. y Eilam, Y. 1995. Effects of Ca²⁺ and Mg²⁺ on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* in vitro and on the biocontrol activity of *Candida oleophila*. Plant pathology. 44: 1016-1024.
- Zainuri, D., Joyce, C., Wearing, H., Coates, L. y Terry, L. 2001. Effects of phosphonate and salicylic acid treatments on anthracnose disease development and ripening of 'Kensington Pride' mango fruit. Australian journal of experimental agriculture. 41 (6): 805 – 813.
- Zhang, S.; Raza, W.; Yang, X.; Hu, J.; Huang, Q; Xu, Y.; Liu, X.; Ran, W.; Shen, Q. 2008. Control of *Fusarium* wilt disease of cucumber plants with the application of a bioorganic fertilizer. Biol Fertil Soils. 44: 1073–1080.
- Zhao, D., Raja, K., Gopal, V. y Reddy, V. 2005. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum. Europ. J. agronomy. 22: 391 - 403.

9. Anexos

Anexo 1. Base para la preparación de solución nutritiva Hoagland y Arnon (1950).

Macronutrientes		
Elemento	Solución stock	Volumen solución stock (ml / 1l)
2M KNO ₃	202 g/l	2,5
1M Ca(NO ₃) ₂ •4H ₂ O	236 g /0,5l	2,5
2M MgSO ₄ •7H ₂ O	493 g/l	1
1M NH ₄ NO ₃	80 g/l	1
NaFeDTPA	15 g/l	1,5

Micronutrientes		
Elemento	Solución stock	Volumen solución stock (ml / 1l)
H ₃ BO ₃	2,86 g/l	1
MnCl ₂ •4H ₂ O	1,81 g/l	1
ZnSO ₄ •7H ₂ O	0,22 g/l	1
CuSO ₄ •5H ₂ O	0,051 g/l	1
H ₃ MoO ₄ •H ₂ O or	0,09 g/l	1
Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	0,12 g/l	1
Fosfato	136 g/l	0,5

Anexo 2. Salida de los análisis realizados a través del software Statistical Analysis System (SAS® 9.3).

```

Sistema SAS
Procedimiento GLM
Información de nivel de clase

Clase      Niveles  Valores
Bloque          3    1 2 3
Tratamiento    25    1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22
                23 24 25

Número de observaciones leídas      79
Número de observaciones usadas      75
    
```

```

Sistema SAS
Procedimiento GLM
Variable dependiente: IS_122 IS_122

Fuente          DF      Suma de cuadrados    Cuadrado de la media    F-Valor    Pr > F
Modelo          26      68619.04092          2639.19388          5.94      <.0001
Error           48      21312.14846          444.00309
Total corregido 74      89931.18938

R-cuadrado      0.763017
Coef Var       38.64455
Raíz MSE       21.07138
IS_122 Media   54.52613
    
```

```

Fuente          DF      Tipo I SS      Cuadrado de la media    F-Valor    Pr > F
Bloque          2      10413.01387    5206.50694          11.73      <.0001
Tratamiento     24      58206.02705    2425.25113          5.46      <.0001
    
```

```

Fuente          DF      Tipo III SS      Cuadrado de la media    F-Valor    Pr > F
Bloque          2      10413.01387    5206.50694          11.73      <.0001
Tratamiento     24      58206.02705    2425.25113          5.46      <.0001
    
```

Sistema SAS

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para IS_122

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	48
Error de cuadrado medio	444.0031
Valor crítico del rango estudentizado	5.48459
Diferencia significativa mínima	66.723

Sistema SAS

Procedimiento UNIVARIATE

Variable: RIS_122

Momentos

N	75	Sumar pesos	75
Media	0	Observ suma	0
Desviación std	16.9706219	Varianza	288.002006
Asimetría	0.34457558	Curtosis	0.09475907
SC no corregida	21312.1485	SC corregida	21312.1485
Coef. variación	.	Media error std	1.95959862

Medidas estadísticas básicas

Ubicación		Variabilidad	
Media	0.0000	Desviación std	16.97062
Mediana	-0.2927	Varianza	288.00201
Moda	-16.3883	Rango	86.94560
		Rango intercuantil	25.77333

NOTA: La moda mostrada es la menor de 2 modas con un conteo 2.

Tests para posición: $\mu_0=0$

Test	-Estadístico-	-----P-valor-----	
T de Student	t	0	Pr > t 1.0000
Signo	M	-0.5	Pr >= M 1.0000
Puntuación con signo	S	-40	Pr >= S 0.8343

**Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis
causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus
glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero**

Tests para normalidad

Test	-Estadístico--	-----P-valor-----
Shapiro-Wilk	W 0.987516	Pr < W 0.6745
Kolmogorov-Smirnov	D 0.049982	Pr > D >0.1500
Cramer-von Mises	W-Sq 0.032864	Pr > W-Sq >0.2500
Anderson-Darling	A-Sq 0.223538	Pr > A-Sq >0.2500

Cuantiles (Definición 5)

Cuantil	Estimador
100% Máx	51.557333
99%	51.557333
95%	26.528400
90%	21.224000
75% Q3	12.404267
50% Mediana	-0.292667
25% Q1	-13.369067
10%	-21.919067
5%	-27.585733
1%	-35.388267

Sistema SAS

135

Procedimiento UNIVARIATE
Variable: RIS_122

Cuantiles (Definición 5)

Cuantil	Estimador
0% Mín	-35.388267

Observaciones extremas

-----Inferior-----		-----Superior-----	
Valor	Observación	Valor	Observación
-35.3883	22	26.2117	9
-30.7593	60	26.5284	20
-27.5927	67	27.3907	75
-27.5857	50	38.1917	5
-25.2524	45	51.5573	72

Valores ausentes

Valor ausente	Conteo	-----Porcentaje de----- Todas las observaciones	Observaciones ausentes
.	4	5.06	100.00

Stem Hoja	#	T. caja
5 2	1	0
4		
4		
3 8	1	
3		
2 5677	4	
2 0114	4	
1 55678	5	
1 011222234	9	+-----+
0 56669	5	
0 00111334	8	+
-0 4442110	7	*-----*
-0 998888765	9	
-1 43311	5	+-----+
-1 76666655	8	
-2 4220	4	
-2 885	3	
-3 1	1	
-3 5	1	

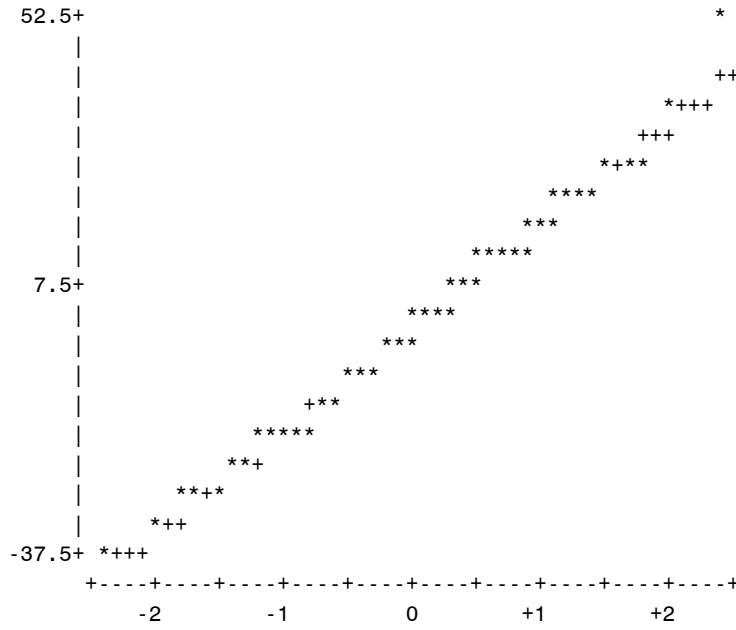
-----+-----+-----+-----+
Multiplicar Stem.Leaf por 10**+1

Sistema SAS

Procedimiento UNIVARIATE

Variable: RIS_122

Trazado de probabilidad normal



Sistema SAS

Procedimiento GLM

Número de observaciones leídas	25
Número de observaciones usadas	25

Sistema SAS

Procedimiento GLM

Variable dependiente: IS_122 IS_122

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	11151.81243	3717.27081	10.17	0.0002
Error	21	7676.42457	365.54403		
Total corregido	24	18828.23700			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	IS_122 Media
0.592292	35.74619	19.11921	53.48600

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
NO	1	4021.876958	4021.876958	11.00	0.0033
PO	1	3082.411362	3082.411362	8.43	0.0085
CaO	1	4047.524105	4047.524105	11.07	0.0032

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
NO	1	4052.492412	4052.492412	11.09	0.0032
PO	1	3082.264464	3082.264464	8.43	0.0085
CaO	1	4047.524105	4047.524105	11.07	0.0032

Parámetro	Estimador	Error estándar	Valor t	Pr > t
Término in	27.37181379	15.59247341	1.76	0.0938
NO	-0.88104620	0.26461071	-3.33	0.0032
PO	0.54776028	0.18863637	2.90	0.0085
CaO	1.77357701	0.53299750	3.33	0.0032

Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero

Sistema SAS

Procedimiento GLM

Número de observaciones leídas 25

Número de observaciones usadas 23

Sistema SAS

Procedimiento GLM

Variable dependiente: ICC_122 ICC_122

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	51.9067509	25.9533754	7.81	0.0031
Error	20	66.4306404	3.3215320		
Total corregido	22	118.3373913			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	ICC_122 Media
0.438634	46.11404	1.822507	3.952174

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
NO	1	27.05839439	27.05839439	8.15	0.0098
CaO	1	24.84835647	24.84835647	7.48	0.0128

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
NO	1	30.59153676	30.59153676	9.21	0.0065
CaO	1	24.84835647	24.84835647	7.48	0.0128

Parámetro	Estimador	Error estándar	Valor t	Pr > t
Término in	4.278524064	1.37482985	3.11	0.0055
NO	0.078811003	0.02596901	3.03	0.0065
CaO	-0.152278263	0.05567475	-2.74	0.0128

Sistema SAS

Procedimiento GLM

Número de observaciones leídas	25
Número de observaciones usadas	23

Sistema SAS

Procedimiento GLM

Variable dependiente: ALT_122 ALT_122

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	1	3003.107329	3003.107329	14.69	0.0010
Error	21	4294.315692	204.491223		
Total corregido	22	7297.423020			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	ALT_122 Media
0.411530	28.48737	14.30004	50.19783

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
NO	1	3003.107329	3003.107329	14.69	0.0010

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
NO	1	3003.107329	3003.107329	14.69	0.0010

Parámetro	Estimador	Error estándar	Valor t	Pr > t
Término in	24.55577285	7.32551946	3.35	0.0030
NO	0.77902364	0.20328369	3.83	0.0010

**Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis
causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus
glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero**

Sistema SAS

Procedimiento GLM

Número de observaciones leídas 25
Número de observaciones usadas 23

Sistema SAS

Procedimiento GLM

Variable dependiente: DIAT_122 DIAT_122

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	1	0.61143750	0.61143750	7.87	0.0106
Error	21	1.63236019	0.07773144		
Total corregido	22	2.24379769			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	DIAT_122 Media
0.272501	12.71888	0.278804	2.192045

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
NO	1	0.61143750	0.61143750	7.87	0.0106

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
NO	1	0.61143750	0.61143750	7.87	0.0106

Parámetro	Estimador	Error estándar	Valor t	Pr > t
Término in	1.826160875	0.14282342	12.79	<.0001
NO	0.011115813	0.00396336	2.80	0.0106

Sistema SAS

Procedimiento GLM

Número de observaciones leídas	25
Número de observaciones usadas	20

Sistema SAS

Procedimiento GLM

Variable dependiente: A_FOL_122 A_FOL_122

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	351429.6487	175714.8243	13.41	0.0003
Error	17	222774.2478	13104.3675		
Total corregido	19	574203.8964			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	A_FOL_122 Media
0.612029	55.07978	114.4743	207.8336

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
NO	1	185604.9188	185604.9188	14.16	0.0015
CaO	1	165824.7299	165824.7299	12.65	0.0024

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
NO	1	218469.0730	218469.0730	16.67	0.0008
CaO	1	165824.7299	165824.7299	12.65	0.0024

Parámetro	Estimador	Error estándar	Valor t	Pr > t
Término in	213.9452377	92.64978244	2.31	0.0338
NO	7.1425689	1.74931286	4.08	0.0008
CaO	-13.3023753	3.73949175	-3.56	0.0024

**Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis
causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus
glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero**

Procedimiento CORR

5 Variables: IS_CEPA_52 ICC ALT_CM DIAT_MM A_FOL

Estadísticos simples

Variable	N	Media	Dev tip	Suma	Mínimo	Máximo
IS_CEPA_52	75	53.48333	34.73600	4011	0	100.00000
ICC	75	3.35067	3.15815	251.30000	0	12.60000
ALT_CM	75	40.86313	33.27584	3065	0	133.00000
DIAT_MM	75	1.70000	1.04932	127.50000	0	3.00000
A_FOL	75	152.07004	209.37237	11405	0	827.70000

Estadísticos simples

Variable	Etiqueta
IS_CEPA_52	IS_CEPA_52
ICC	ICC
ALT_CM	ALT_CM
DIAT_MM	DIAT_MM
A_FOL	A_FOL

Coeficientes de correlación Pearson, N = 75
Prob > |r| suponiendo H0: Rho=0

	IS_CEPA_52	ICC	ALT_CM	DIAT_MM	A_FOL
IS_CEPA_52	1.00000	-0.71178	-0.63817	-0.77629	-0.49752
IS_CEPA_52		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
ICC	-0.71178	1.00000	0.80555	0.71178	0.74675
ICC	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001
ALT_CM	-0.63817	0.80555	1.00000	0.79281	0.58465
ALT_CM	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001
DIAT_MM	-0.77629	0.71178	0.79281	1.00000	0.51220
DIAT_MM	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001
A_FOL	-0.49752	0.74675	0.58465	0.51220	1.00000
A_FOL	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	

Sistema SAS

Procedimiento CORR

12 Variables: N P K Ca Mg Na S
 Fe Cu Mn Zn B

Estadísticos simples

Variable	N	Media	Dev tip	Suma	Mínimo	Máximo
N	52	2.25087	0.35834	117.04500	1.30000	2.98000
P	52	0.22135	0.04097	11.51000	0.15000	0.34000
K	52	1.70221	0.22037	88.51500	1.16000	2.04000
Ca	52	0.90038	0.26699	46.82000	0.54000	1.68000
Mg	52	0.42538	0.05375	22.12000	0.28000	0.53000
Na	52	0.36087	0.15608	18.76500	0.08000	0.74000
S	52	0.19644	0.06151	10.21500	0.07000	0.36000
Fe	52	225.23048	39.83864	11712	148.10000	312.04000
Cu	52	33.31288	20.30669	1732	9.92000	82.33000
Mn	52	93.51038	44.60281	4863	41.71000	340.82000
Zn	52	64.45029	14.53437	3351	45.08000	105.50000
B	52	50.43135	7.35195	2622	33.91000	62.25000

Estadísticos simples

Variable Etiqueta

N	N
P	P
K	K
Ca	Ca
Mg	Mg
Na	Na
S	S
Fe	Fe
Cu	Cu
Mn	Mn
Zn	Zn
B	B

**Evaluación del efecto de cuatro nutrientes en la severidad de antracnosis
causada por *Colletotrichum gloeosporioides* CEPA 52 en mora (*Rubus
glaucus*, Benth.) bajo condiciones de invernadero**

Sistema SAS

Procedimiento CORR

Coeficientes de correlación Pearson, N = 52

Prob > |r| suponiendo H0: Rho=0

	N	P	K	Ca	Mg	Na
N	1.00000	0.22997	-0.24639	-0.02406	-0.15679	-0.04167
N		0.1010	0.0783	0.8655	0.2670	0.7693
P	0.22997	1.00000	-0.19520	0.35309	0.25620	0.24910
P	0.1010		0.1655	0.0102	0.0668	0.0749
K	-0.24639	-0.19520	1.00000	-0.04500	-0.01899	0.15006
K	0.0783	0.1655		0.7514	0.8937	0.2883
Ca	-0.02406	0.35309	-0.04500	1.00000	0.58974	0.49877
Ca	0.8655	0.0102	0.7514		<.0001	0.0002
Mg	-0.15679	0.25620	-0.01899	0.58974	1.00000	0.56982
Mg	0.2670	0.0668	0.8937	<.0001		<.0001
Na	-0.04167	0.24910	0.15006	0.49877	0.56982	1.00000
Na	0.7693	0.0749	0.2883	0.0002	<.0001	
S	0.15177	0.42675	0.26404	-0.05561	-0.01945	0.06680
S	0.2828	0.0016	0.0586	0.6954	0.8912	0.6380
Fe	0.15883	0.37971	-0.09562	-0.01017	0.17300	0.20318
Fe	0.2607	0.0055	0.5001	0.9430	0.2200	0.1486
Cu	0.06200	0.30945	-0.06809	0.23480	0.36690	0.48490
Cu	0.6624	0.0256	0.6315	0.0938	0.0075	0.0003
Mn	0.20303	0.18631	0.10894	-0.01855	-0.49988	-0.31398
Mn	0.1489	0.1860	0.4420	0.8961	0.0002	0.0234
Zn	-0.08141	0.53116	0.07595	0.15911	0.23715	0.17222
Zn	0.5661	<.0001	0.5926	0.2599	0.0905	0.2221
B	-0.13689	-0.09689	-0.04846	0.03092	-0.08256	-0.06124
B	0.3332	0.4944	0.7330	0.8278	0.5607	0.6663
	S	Fe	Cu	Mn	Zn	B
N	0.15177	0.15883	0.06200	0.20303	-0.08141	-0.13689
N	0.2828	0.2607	0.6624	0.1489	0.5661	0.3332
P	0.42675	0.37971	0.30945	0.18631	0.53116	-0.09689
P	0.0016	0.0055	0.0256	0.1860	<.0001	0.4944
K	0.26404	-0.09562	-0.06809	0.10894	0.07595	-0.04846
K	0.0586	0.5001	0.6315	0.4420	0.5926	0.7330

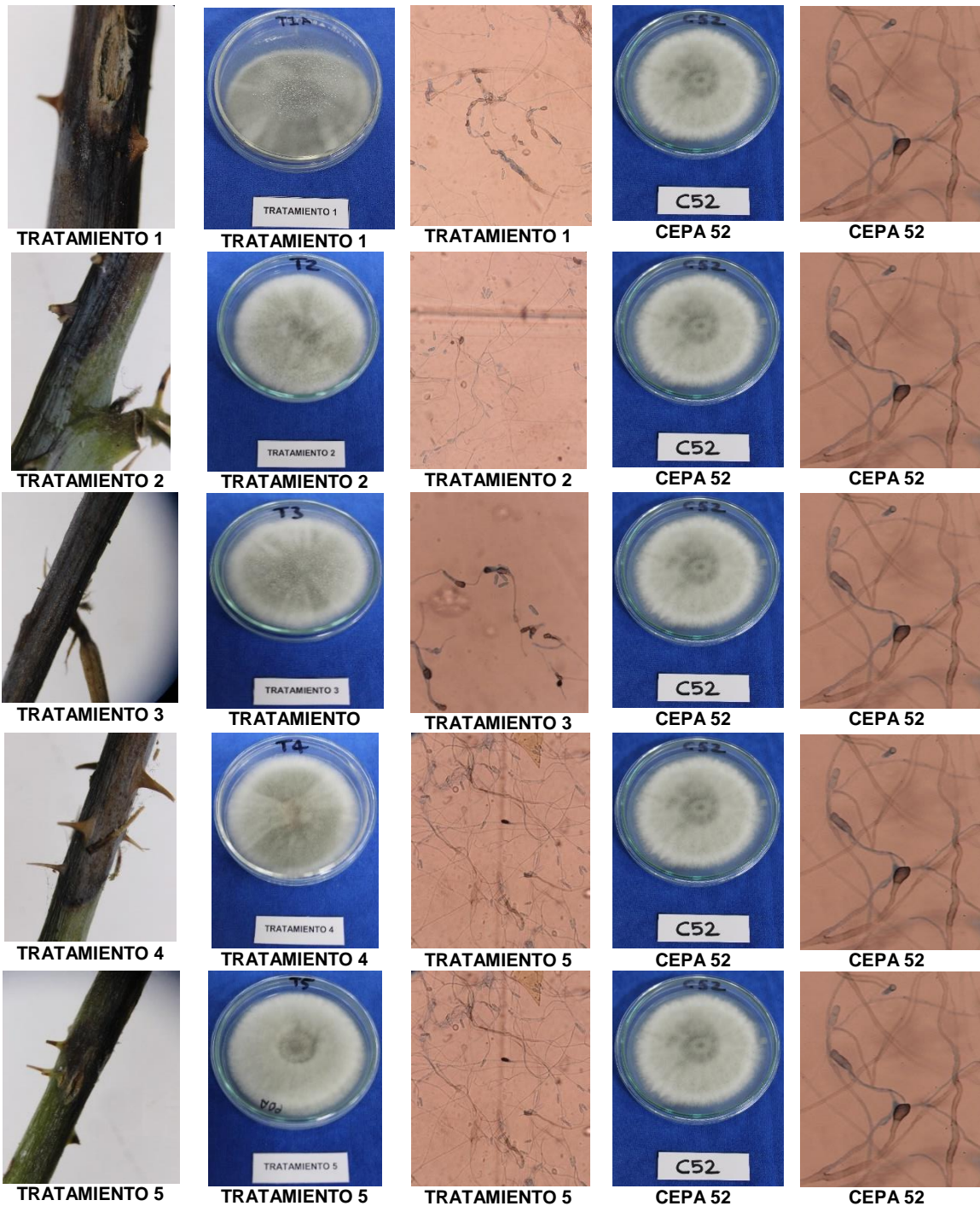
Sistema SAS

Procedimiento CORR

Coefficientes de correlación Pearson, N = 52
 Prob > |r| suponiendo H0: Rho=0

	S	Fe	Cu	Mn	Zn	B
Ca	-0.05561	-0.01017	0.23480	-0.01855	0.15911	0.03092
Ca	0.6954	0.9430	0.0938	0.8961	0.2599	0.8278
Mg	-0.01945	0.17300	0.36690	-0.49988	0.23715	-0.08256
Mg	0.8912	0.2200	0.0075	0.0002	0.0905	0.5607
Na	0.06680	0.20318	0.48490	-0.31398	0.17222	-0.06124
Na	0.6380	0.1486	0.0003	0.0234	0.2221	0.6663
S	1.00000	0.31347	0.33496	0.09206	0.46305	-0.03323
S		0.0236	0.0152	0.5163	0.0005	0.8151
Fe	0.31347	1.00000	0.21451	0.19168	0.52342	-0.00606
Fe	0.0236		0.1267	0.1734	<.0001	0.9660
Cu	0.33496	0.21451	1.00000	-0.26491	0.41562	0.40928
Cu	0.0152	0.1267		0.0577	0.0022	0.0026
Mn	0.09206	0.19168	-0.26491	1.00000	0.16632	-0.12166
Mn	0.5163	0.1734	0.0577		0.2386	0.3903
Zn	0.46305	0.52342	0.41562	0.16632	1.00000	0.15701
Zn	0.0005	<.0001	0.0022	0.2386		0.2663
B	-0.03323	-0.00606	0.40928	-0.12166	0.15701	1.00000
B	0.8151	0.9660	0.0026	0.3903	0.266	

Anexo 3. De izquierda a derecha, síntoma en tallos, características macroscópicas y microscópicas de la cepa 52 reislada a partir de plantas de mora inoculadas, características macroscópicas y microscópicas de la cepa 52 utilizada para la inoculación.

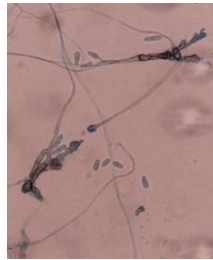




TRATAMIENTO 6



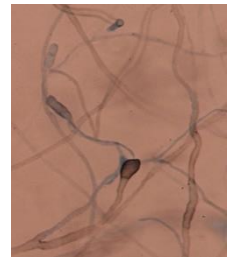
TRATAMIENTO 6



TRATAMIENTO 6



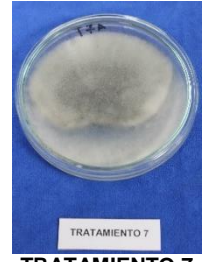
CEPA 52



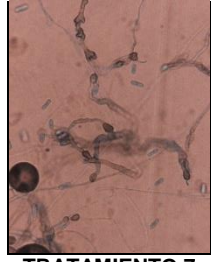
CEPA 52



TRATAMIENTO 7



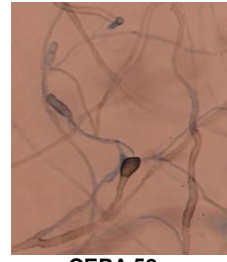
TRATAMIENTO 7



TRATAMIENTO 7



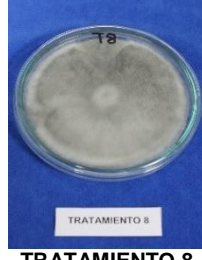
CEPA 52



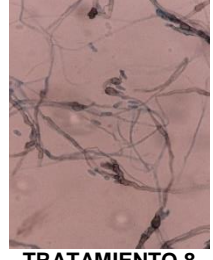
CEPA 52



TRATAMIENTO 8



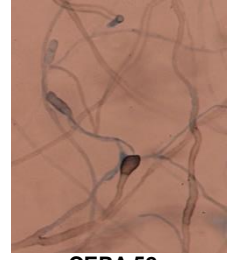
TRATAMIENTO 8



TRATAMIENTO 8



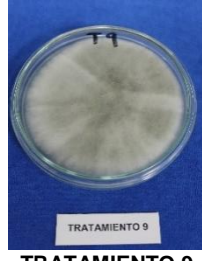
CEPA 52



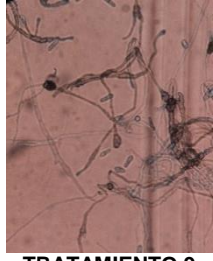
CEPA 52



TRATAMIENTO 9



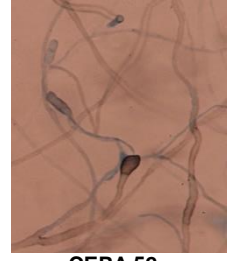
TRATAMIENTO 9



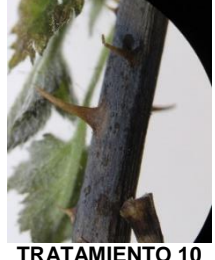
TRATAMIENTO 9



CEPA 52



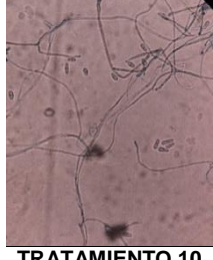
CEPA 52



TRATAMIENTO 10



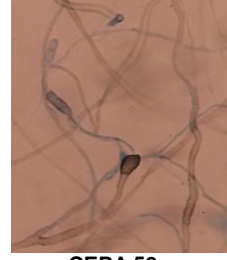
TRATAMIENTO 10



TRATAMIENTO 10



CEPA 52



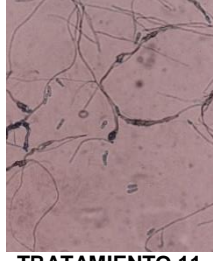
CEPA 52



TRATAMIENTO 11



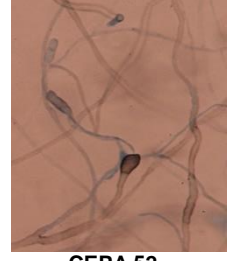
TRATAMIENTO 11



TRATAMIENTO 11



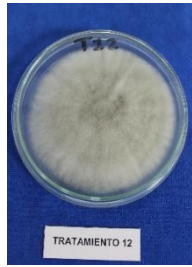
CEPA 52



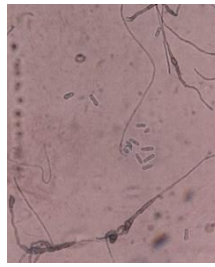
CEPA 52



TRATAMIENTO 12



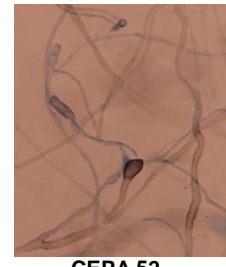
TRATAMIENTO 12



TRATAMIENTO 12



CEPA 52



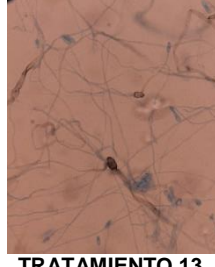
CEPA 52



TRATAMIENTO 13



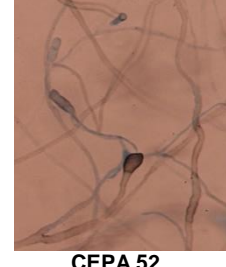
TRATAMIENTO 13



TRATAMIENTO 13



CEPA 52



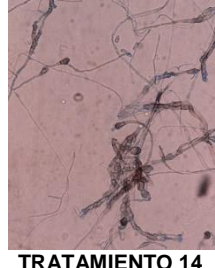
CEPA 52



TRATAMIENTO 14



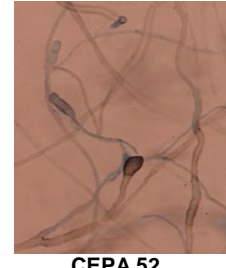
TRATAMIENTO 14



TRATAMIENTO 14



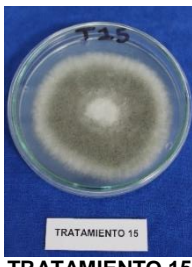
CEPA 52



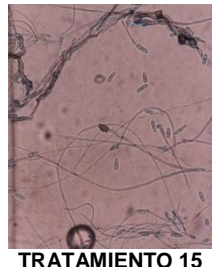
CEPA 52



TRATAMIENTO 15



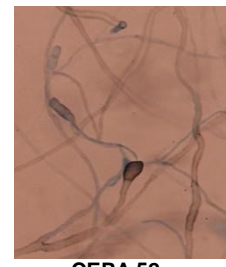
TRATAMIENTO 15



TRATAMIENTO 15



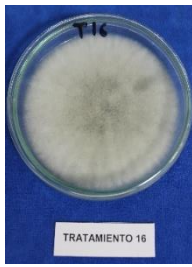
CEPA 52



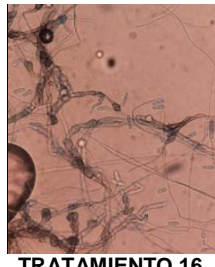
CEPA 52



TRATAMIENTO 16



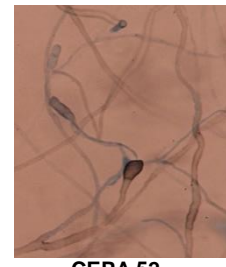
TRATAMIENTO 16



TRATAMIENTO 16



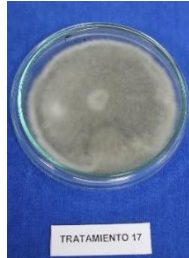
CEPA 52



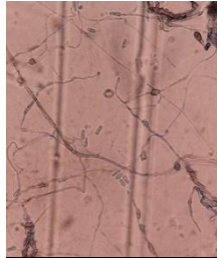
CEPA 52



TRATAMIENTO 17



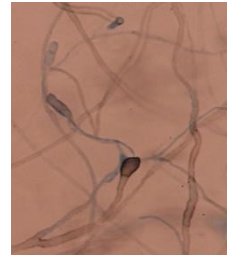
TRATAMIENTO 17



TRATAMIENTO 17



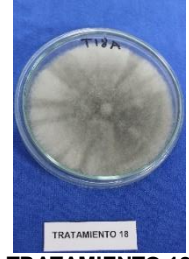
CEPA 52



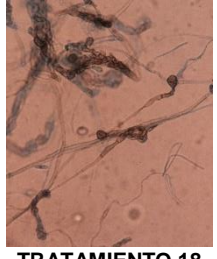
CEPA 52



TRATAMIENTO 18



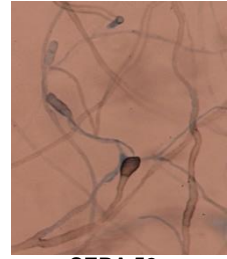
TRATAMIENTO 18



TRATAMIENTO 18



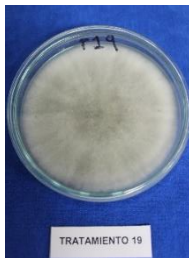
CEPA 52



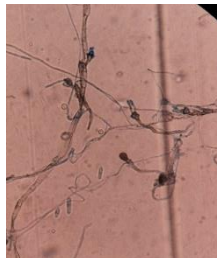
CEPA 52



TRATAMIENTO 19



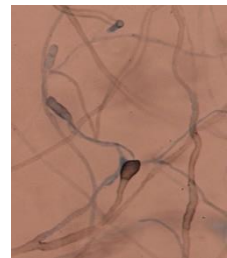
TRATAMIENTO 19



TRATAMIENTO 19



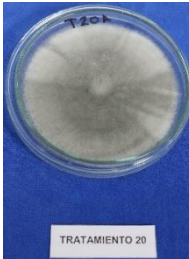
CEPA 52



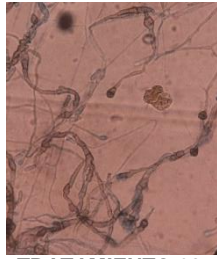
CEPA 52



TRATAMIENTO 20



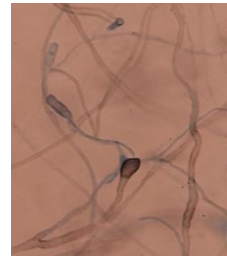
TRATAMIENTO 20



TRATAMIENTO 20



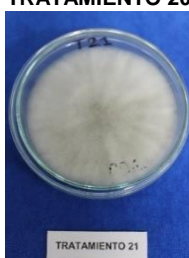
CEPA 52



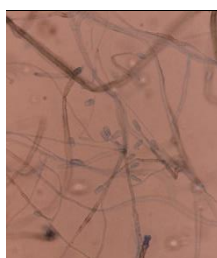
CEPA 52



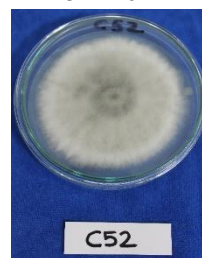
TRATAMIENTO 21



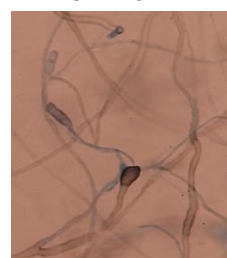
TRATAMIENTO 21



TRATAMIENTO 21



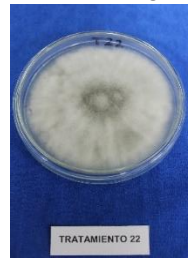
CEPA 52



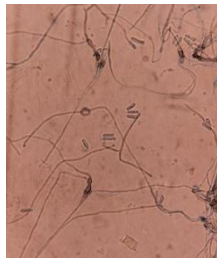
CEPA 52



TRATAMIENTO 22



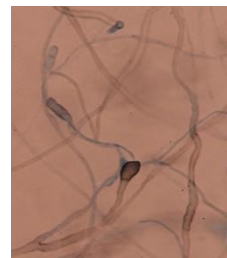
TRATAMIENTO 22



TRATAMIENTO 22



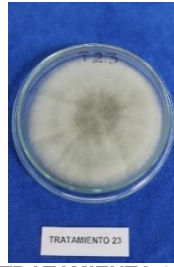
CEPA 52



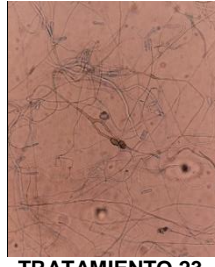
CEPA 52



TRATAMIENTO 23



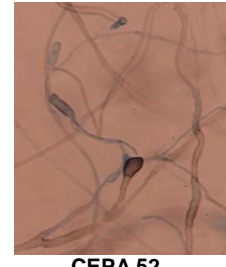
TRATAMIENTO 23



TRATAMIENTO 23



CEPA 52



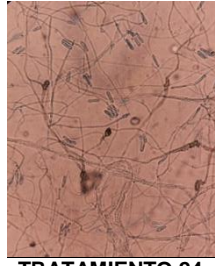
CEPA 52



TRATAMIENTO 24



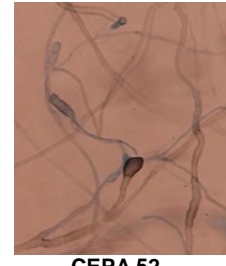
TRATAMIENTO 24



TRATAMIENTO 24



CEPA 52



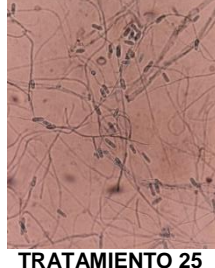
CEPA 52



TRATAMIENTO 25



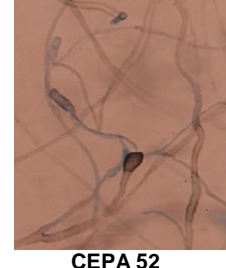
TRATAMIENTO 25



TRATAMIENTO 25



CEPA 52



CEPA 52