

## Identificación de hongos asociados a enfermedades del fruto de la fresa en el municipio Jáuregui del estado Táchira

Characterization of associate fungi to strawberry fruit diseases at the Jauregui municipality, Tachira State

R.E. Farrera P.<sup>1</sup>, A.E. Zambrano V.<sup>2</sup> y F.A. Ortiz M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INIA – Táchira. Centro experimental Bramón.

<sup>2</sup>INIA – Táchira. Estación Local Pueblo Hondo.

<sup>3</sup>Universidad de Pamplona, Colombia. Microbiología.

### Resumen

Para identificar los patógenos causantes de algunas enfermedades en el fruto de la fresa (*fragaria x ananassa*), se realizaron una serie de muestreos de frutos dañados en las localidades de Pueblo Hondo y Páramo El Rosal del municipio Jáuregui. Se describieron los síntomas, se hicieron aislamientos de los posibles fitopatógenos, se purificaron, se caracterizaron las estructuras y se desarrollaron las pruebas de patogenicidad. De un total de 50 muestras se obtuvieron 13 aislamientos de *Colletotrichum* sp.; 4 de *Botrytis* sp. y 1 de *Rhizopus* sp. Las características morfológicas tales como color y aspecto de colonias y forma de conidios dieron como resultado la identificación de las especies *Colletotrichum acutatum*, *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*. Los aislamientos se realizaron en PDA y posteriormente replicados para las pruebas de patogenicidad. Se realizaron microcultivos e inoculaciones sobre frutos con una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios/mL para las tres especies identificadas. Las sintomatologías obtenidas fueron similares a las observadas inicialmente y se caracterizaron por manchas acuosas amarillentas y luego necróticas para el caso de *Colletotrichum*, en donde se destacó la presencia abundante de conidios fusiformes de color salmón. *Botrytis* se caracterizó por manchas marrones, firmes y la presencia posterior de micelio algodonoso de color gris donde se destacó la presencia de conidios globosos, mientras que en *Rhizopus* se observó una

---

Recibido el 1-4-2005 ● Aceptado el 12-6-2006

Autor de correspondencia e-mail: rfarrera@inia.gob.ve; azambrano@inia.gob.ve; faom81@hotmail.com

decoloración inicial y luego la presencia de un micelio de color blanco con puntuaciones negras que correspondieron a la presencia de esporangios y esporangiosporas características de esta especie. Se hicieron los reaislamientos correspondientes y se constataron las especies descritas.

**Palabras clave:** *Fragaria x ananassa*, fruto, aislamientos, enfermedades.

## Abstract

With the purpose of identifying the pathogens causing diseases in strawberry fruit (*fragaria x ananassa*), a sampling series of damaged fruits were carried out at Pueblo Hondo and El Rosal of the Jauregui municipality. Symptoms were described, isolations of possible phytopathogen agents were made and purified, the structures were characterized and the pathogenic test was developed. From a total of 50 samples, 13 isolations of *Colletotrichum* sp., 4 of *Botrytis* sp. and 1 of *Rhizopus* sp. were obtained. The morphological characteristics such as colour and colonies aspect and conidia shape, gave as a result the species identification: *Colletotrichum acutatum*, *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer*. Isolations were made in PDA and replicates for Pathogenic test. Micro cultures and inoculations on fruits with a concentration of  $1 \times 10^6$  conidia/ml were made for the three identified species. Symptomatology obtained were similar to those observed initially and they were characterized by yellowish watery spots that become necrotics for the case of *Colletotrichum* in where stood out the abundant presence of fusiform salmon colour conidia. *Botrytis* was characterized by brown firm spots and the later presence of grey cottony mycelium where stood out the presence of spherical conidia while in *Rhizopus* an initial fading was observed and then a white mycelium with black points, which correspond to the sporangium and sporangiophores of this specie. The corresponding re isolations was made and species described were verified.

**Keys words:** *Fragaria x ananassa*, fruit, Isolations, diseases

## Introducción

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duchense), es quizás uno los frutos más apetecibles por su exquisito sabor, cultivado en la mayoría de los países templados y muchas áreas tropicales, atemperadas por la altitud (6). En Venezuela, aunque es un cultivo menor, ha representado importantes fuentes de ingresos para los productores ubicados en las zonas altas de las montañas Andinas y la Cor-

## Introduction

Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duchense) fruit perhaps is one of more tempting fruits because its delicious flavor cultured in the higher part of temperate countries and many tropical areas, which are tempered by altitude. In Venezuela, although is a little crop have represented important income sources for producers located at high zones of Andinas Mountains and Cost

dillera de La Costa. Su explotación ha dependido casi totalmente de semillas importadas y la producción subsidiante de estolones obtenidos de plantas madres.

En el Táchira el Plan de Siembra y Producción Agrícola del Ministerio de Agricultura y Tierras (MAT-Táchira) correspondiente al año 2005, refleja una superficie sembrada de 250 ha con una producción de 6.000 t.ha<sup>-1</sup> (datos no publicados). Sin embargo, la tendencia observada en los últimos años en las plantaciones (observación personal), es una reducción significativa de la producción, debido a ataque de enfermedades de los frutos, lo cual está ocasionando una disminución de la superficie dedicada al cultivo de la fresa.

Varias enfermedades principalmente fungosas han sido detectadas atacando al fruto de la fresa en plantaciones de varios países. Entre las más importantes se pueden citar el moho gris causado por *Botrytis cinerea* Pes.ex Fr, la antracnosis, causada por diferentes especies de *Colletotrichum* spp., la pudrición seca por *Rhizoctonia solani* Kühn y pudriciones por *Rhizopus* spp., *Mucor* spp, *Sphaerotheca* spp. y *Aspergillus* spp. (10). La incidencia y severidad de los síntomas van a estar en función de los patógenos prevalentes en una determinada región y de su interacción con los cultivares en uso.

El moho gris y la antracnosis son considerados como las enfermedades más importantes de la fresa. En el caso del moho gris se han reportado pérdidas del 50% o más de la producción (1) mientras que, para la antracnosis las

Cordillera. Its exploitation has depended almost totally of imported seeds and the subsequent production of stolons obtained from mothers plants.

At Tachira region, the Sowing and Agricultural Production Plan of Ministerio de Agricultura y Tierras (MAT-Tachira) corresponding to 2005 year reflects a sowing surface of 250 ha with a production of 6000 t.ha<sup>-1</sup>. However, trend observed in plantations at last years, is a significative reduction of production because a disease attack which is causing a decreasing on surface dedicated to strawberry fruit crop. Several diseases, especially fungal, have been detected by attacking the strawberry fruit in plantations of some countries. Between the most important ones, it can be noted the grey mildew caused by *Botrytis cinerea* Pes.ex Fr, the anthracnose, caused by different species of *Colletotrichum* spp., the dry rot by *Rhizoctonia solani* Kühn and rots by *Rhizopus* spp., *Mucor* spp., *Sphaerotheca* spp. and *Aspergillus* spp. (10). Incidence and severity of symptoms are in function of pathogens prevalent in a determined region and of its interaction with crops in use. Grey mildew and anthracnose are considered as diseases more important of strawberry fruit. In case of grey mildew, losses of 50% or more (1) have been reported, whereas for anthracnose, losses are 60-75% are known, which could be limiting for its culture because of its damaging nature, the susceptibility of crops and the little efficiency of control measures of problem (1, 7). In Vene-

perdidas han estado entre el 60-75%, pudiendo ser limitante para su cultivo, en virtud de su naturaleza devastadora, la susceptibilidad de los cultivares y la baja eficiencia de medidas de control del problema (1,7). En Venezuela se ha identificado a *Colletotrichum acutatum* como causante de la antracnosis del fruto de la fresa en el estado Mérida (3). El objetivo del presente trabajo fue identificar y caracterizar los agentes causantes de enfermedades del fruto de la fresa en el municipio de Jáuregui del estado Táchira, Venezuela.

## Materiales y métodos

**Toma de muestras.** Se hizo un recorrido previo por las zonas productoras de fresa del municipio Jáuregui para observar los problemas fitosanitarios. Se realizaron inspecciones de campo en Pueblo Hondo y el Páramo de El Rosal en donde se recolectaron 50 muestras de frutos enfermos entre los meses de abril y septiembre del 2004. Se describieron los síntomas observados y las muestras fueron llevadas al laboratorio para sus respectivos análisis.

**Identificación de patógenos.** Signos de los posibles patógenos fueron extraídos de la lesiones de los frutos dañados para su observación al microscopio, seguidamente fueron lavados con agua corriente durante 15 min y agua destilada. Se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5% por espacio de 5 min y luego en una de alcohol etílico al 70% para su flameado en el mechero. Cortes de tejidos internos de las lesiones

zuela, *C. acutatum* has been identified as the causal agent of anthracnose on strawberry fruit at Merida state (3). The objective of this paper was to identify and to characterize the causal agents of diseases of strawberry fruit at Jáuregui municipality, Tachira state, Venezuela.

## Materials and methods

**Samples taking.** A previous journey was accomplished by strawberry fruit producer regions of Jáuregui municipality by looking the phytosanitary troubles. After, five field inspections were planed between April – September, 2004 for recollecting of 50 samples of damaged fruits of Pueblo Hondo (INIA-Tachira) and El Paramo El Rosa. Symptoms observed were described and samples were taken to the laboratory for its respective analysis.

**Pathogens identification.** Signs of possible pathogens were extracted from lesions of damaged fruits for being observed at optical microscope, follow were cleaned with water during 15 min and distilled water. Fruits were immersed in a sodium hypochlorite at 0.5% during 5 min and after, in a ethylic alcohol one at 70% before flaming on burner. Cuts of lesions internal tissues were placed at Petri dishes of 9 cm diameter by containing a potato-dextrose-agar culture medium (PDA) incubated at  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  during 5 days, under laboratory conditions and the appearance and color of developed colonies was described. Pure cultures of isolations were obtained in a test

se sembraron en placas de Petri de 9 cm de diámetro conteniendo medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) e incubadas a  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 5 días, bajo condiciones de laboratorio y se describió la apariencia y color de las colonias desarrolladas. Cultivos puros de los aislamientos se obtuvieron en tubos de ensayos de 2 x 15 cm con PDA de donde se tomó inóculo para realizar microcultivos. Tanto en las muestras de campo, como en los aislamientos puros y los microcultivos, se caracterizaron las estructuras reproductivas que permitieron la identificación de los agentes patógenos.

#### **Pruebas de patogenicidad.**

Frutos de fresa en diferentes estadíos de crecimiento de la variedad Camarosa fueron desinfectados superficialmente con alcohol al 70%, durante 1 min, hipoclorito de sodio al 1% durante 3 min y seguidamente lavados con agua destilada estéril. Se colocaron en cajas plásticas de 28 x 16 x 10 cm, sobre toallas de papel humedecidas con agua destilada. En cada caja se colocaron 6 frutos y la inoculación fue efectuada depositándose una gota de 20  $\mu\text{l}$  de la suspensión de esporas sobre heridas realizadas con una aguja desinfectada en cada uno de los frutos. Tres cajas con frutos inoculados y otra sin inoculación, para cada aislamiento, fueron mantenidas en condiciones de laboratorio. Evaluaciones diarias fueron realizadas durante 8 días para describir el desarrollo de los síntomas y las estructuras del patógeno. Reaislamientos de los patógenos fueron realizados para su comparación con los aislados inicialmente.

tube de 2 x 15 cm with PDA from which inoculums was taken for making microcultures. In field samples like pure isolations and microcultures, the reproductive structures were characterized and permitted the pathogens agents identification.

#### **Pathogenicity tests.**

Strawberry fruits at different growing stages of Camarosa variety were disinfected in a superficial way with alcohol to 70% during 1 min., sodium hypochlorite at 1% during 3 min, and they were cleaned with sterile distilled water. They were placed on plastic boxes of 28 x 16 x 10 cm, on paper towel moisturized with distilled water. Six fruits were placed on each box and inoculation was made by adding a drop of 20  $\mu\text{l}$  of spores' suspension over injuries made with a disinfected needle in each one of fruits. Three boxes with inoculated fruits and another one without inoculation, each of isolations, were kept on laboratory conditions. Daily evaluation was carried out during 8 days for describing the symptoms and the pathogen structure. Re isolations were accomplished for its comparison with isolations initially.

## **Results and discussion**

Fruits samples studied showed characteristic symptoms of diseases know as anthracnose, grey mildew and soft rot. Anthracnose was characterized in fruits semi ripe and ripe, by presence of sunken lesions, of circular shape or irregular, initially aqueous and after dries, brown color (obscure to black), in where salmon color areas are detached which

## Resultados y discusión

Las muestras de frutos estudiadas presentaron síntomas característicos de las enfermedades conocidas como antracnosis, moho gris y pudrición blanda. La antracnosis se caracterizó, en frutos semimaduros y maduros, por la presencia de lesiones hundidas, de forma circular o irregular, inicialmente acuosas y posteriormente secas, de color marrón oscuro a negro, en donde se destacan áreas de color salmón, las cuales corresponden a masas de conidios (figura 1). Sobre frutos verdes, se observaron manchas pardas o negras, en la región apical para luego extenderse hasta cubrir todo el fruto, llegando a momificarlo y alcanzar el cáliz y el pecíolo. Síntomas similares han sido reportados por varios autores (1, 3, 5, 7).

correspond to conidia mass (figure 1). In no ripe fruits it were observed brownish or black spots at apical region, for being extended to covering all fruit, by mummifying it, and to reach the calyx and the petiole. Similar symptoms have been reported by several authors (1, 3, 5, 7).

Grey mildew symptoms were irregular spots, diffuses, firms, of yellow color or clear brown initially, which occurs at any part of fruit, but specially in those in contact with soil or another damages fruits. At advanced stages, fruits are covered by a mycelium of grey color of phylamentous appearance (figure 2), characteristics totally agreed with those reported by Ellis, 2004 (4) and Howard, 1992 *et al.* (6).

Fruits with soft rot showed a clear brown discoloring, followed by



**Figura 1. Síntomas de fruto de fresa con antracnosis.**

**Figure 1. Strawberry fruit with anthracnose symptoms.**

Los síntomas del moho gris fueron manchas irregulares, difusas, firmes e inicialmente de color amarillento o marrón claro, las cuales ocurren en cualquier parte del fruto, pero especialmente en aquellas que esta en contacto con el suelo u otros frutos enfermos. En estados avanzados los frutos son cubiertos por un micelio de color gris de apariencia filamentososa, (figura 2), características que concuerdan plenamente con las apuntadas por Ellis, 2004 (4) y Howard *et al.*, 1992 (6).

Los frutos con pudrición blanda, presentaron una decoloración marrón claro, seguida de un ablandamiento del tejido y una segregación acuosa. Luego, fueron cubiertos por un micelio blanco algodonoso, en donde se destacan puntuaciones negras correspon-

a tissue softening and aqueous segregation. After, it were covered by a cottony and white mycelium in where black tips are detached, corresponding to pathogen sporangia (figure 3). This symptomatology makes this disease different when comparing to another rot, according to Averre *et al.* (1) and Mass (7).

Pathogen isolation associated to fruits with anthracnose was characterized by the colony formation of white color, with obscure grey in where the presence of concentric and orange colorations, as at center as in margins (figure 4). Flats conidia, unicellular, aseptates, fusiforms, and approximately 10-14 x 4-5  $\mu\text{m}$  (figure 5). Presence of appressorium clavate of obscure brown color of 7-21 x 4-6  $\mu\text{m}$  it was observed. These data are



**Figura 2. Síntomas de frutos de fresa con moho gris.**

**Figure 2. Symptoms of strawberry fruits with grey mildew.**

dientes a los esporangios del patógeno (figura 3). Esta sintomatología, como señala Averre *et al.* (1) y Mass (7), diferencian esta enfermedad de otras pudriciones.

Los aislamientos del patógeno asociado a los frutos con antracnosis, se caracterizó por la formación de colonias de color blanco, con el centro gris oscuro, donde se destaca la presencia de coloraciones anaranjadas concéntricas tanto en centro como en las márgenes. (figura 4). Conidios lisos, unicelulares, aseptados, fusiformes y de aproximadamente 10-14 x 4- $\mu\text{m}$  (figura 5). Se observó la presencia de apresorios clavados, de color marrón oscuro de 7-12 x 4-6  $\mu\text{m}$ . Estos datos coinciden con los señalados por Cedeño *et al.* (3), sobre los cultivares de fresa Chandler, Pájaro, Sea Scape y Selva, los cuales corresponden a la especie *Colletotrichum acutatum*. Esta especie ha sido reportada causando antracnosis de los frutos de fresa en Mississippi, California,

in agreement with those reported by Cedeño *et al.* (3) about Chandler, Pajaro, Sea Scape and Selva strawberry cultivars, which correspond to *Colletotrichum acutatum*. This specie has been reported by causing anthracnose of strawberry fruits in Mississippi, California, Florida and Brasil (6, 10). Conidia shape permit to distinguishing some *Colletotrichum* species (Cedeño *et al.*, 1996; Ellis, 2004, OPPE, 2004; Smith *et al.*, 1990). However, because environment influence on morphological stability and the intermediate shapes existence, this criterion is not always adequate for a reliable differentiation of *Colletotrichum* species (3, 4, 9), However, because of influence of environment on the morphological stability and the intermediate shapes existence, this criterion is not always adequated for a reliable differentiation of *Colletotrichum* (5), even more if taking into account that



**Figura 3. Fruto de fresa con pudrición blanda.**

**Figure 3. Strawberry fruit with soft rot.**



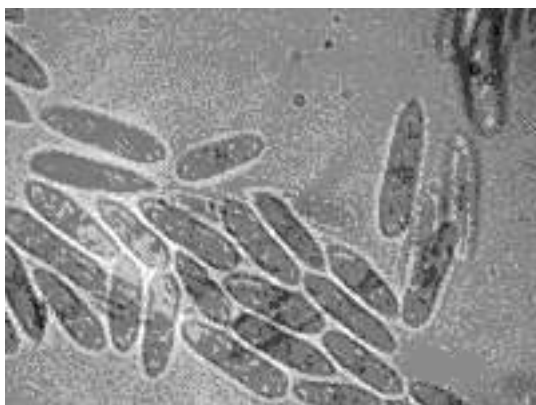


**Figura 4. Colonia de *Colletotrichum acutatum* en PDA.**

**Figure 4. *Colletotrichum acutatum* colony in PDA.**

Florida y Brasil (6, 10). La forma del conidio, ha permitido distinguir especies de *Colletotrichum* (3, 4, 9). Sin embargo, debido a la influencia del ambiente sobre la estabilidad

strawberry fruit anthracnose could be related to another species as *C. fragariae* and *C. gloeosporoides* (5, 7, 10). Molecular techniques like PCR and ADN nuclear polymorphism



**Figura 5. Conidios de *Colletotrichum acutatum*.**

**Figure 5. *Colletotrichum acutatum* conidia.**

morfológica y la existencia de formas intermedias, este criterio no es siempre adecuado para una diferenciación confiable de especies de *Colletotrichum* (5), más aun si consideramos que en la antracnosis de la fresa pueden estar relacionada con otras especies como *C fragarie* y *C. gloeosporioides* (5, 7, 10) Técnicas moleculares como PCR y polimorfismo nuclear de ADN, podrían ser útiles para clasificar o diferenciar estas especies (5, 8).

Las colonias de moho gris presentaron un micelio blanco, denso, piloso que posteriormente se tornó gris (figura 6). Hifas septadas, hialinas y ramificadas de manera irregular o dicotómica. Conidióforos septados, macronematosos que nacen del micelio sin formar una estructura especializada. El ápice de cada conidióforo finaliza en una ampolla donde se desarrollan conidios, solitarios, unicelulares, lisos, globosos de 10-12 x 6-7  $\mu\text{m}$ , sobre cortas lenticelas

could be useful for classifying or differencing these species (5, 8).

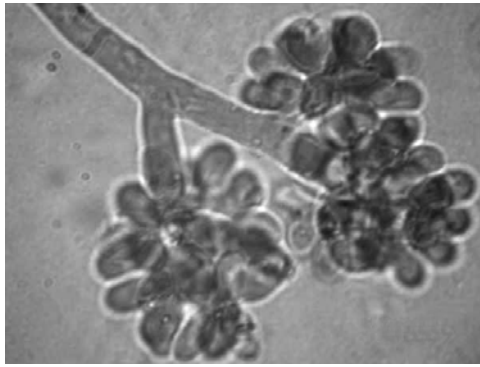
Grey mildew colonies showed a white mycelium, dense, pilose that subsequently becomes grey (figure 6), septates hyphae hyalines and ramified in an irregular or dichotomous ways. Septate conidiophores, macro nematous comes from mycelium without forming a specialized structure. Apex of each conidiophores ends in an ampoule in where there are solitaires, unicellular, flat and global conidia of 10-12 x 6-7  $\mu\text{m}$  on shorts lenticels (figure 7). These characteristics agree with those reported by Castañeda (2), Mass (7), and Ellis (4), for *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr fungal, in anamorphic state of *Sclerotinia fuckeliana* (de Bary) Fuckel.

Colonies obtained from isolations of soft rot came from fruits very ripe showed a white mycelium at first stages for changing to brown color later, in where black points are



**Figura 6. Colonia de *Botrytis cinerea* en PDA.**

**Figure 6. *Botrytis cinerea* colony in PDA.**



**Figura 7. Conidióforos y conidios de *Botrytis cinerea*.**

**Figure 7. *Botrytis cinerea* conidiophores and conidia.**

(figura 7). Estas características coinciden con las señaladas por Castañeda (2), Mass (7) y Ellis (4), para el hongo *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr, estado anamórfico de *Sclerotinia fuckeliana* (de Bary) Fuckel.

Las colonias obtenidas de los aislamientos de la pudrición blanda procedentes de frutos en avanzado estado de madurez, mostraron un micelio

detached (figure 8). Typically coenocytes hyphen and sporangiophores of brown color produced on stolons adhered to substrate by rhizoids.

These sporangiophores of variable length (10-600  $\mu$ m) are produced in groups of 3 to 6 and ends in a hemispheric sporangiophore (figure 9). Obscure sporangiophores,



**Figura 8. Colonia de *Rhizopus stolonifer* en PDA.**

**Figure 8. *Rhizopus stolonifer* colony in PDA.**

blanco en los primeros estadios para luego cambiar a marrón, en donde se destacan puntuaciones negras (figura 8). Hifas típicamente cenocíticas y esporangioforos de color marrón producidos sobre estolones que se adhieren al sustrato por medio de rizoides.

Estos esporangioforos, de longitud variable (10- 600  $\mu\text{m}$ ), se producen en grupos de 3 a 6 y terminan en un esporangio hemisférico (figura 9). Esporangioesporas oscuras, redondeadas de superficie rugosa y de 15 - 20 x 6-9  $\mu\text{m}$ . Las características señaladas son semejantes a las reportadas por Mass (7) para la especie *Rhizopus stolonifer* (Ehremb.) Vuillemin (formalmente *R. Nigricans*).

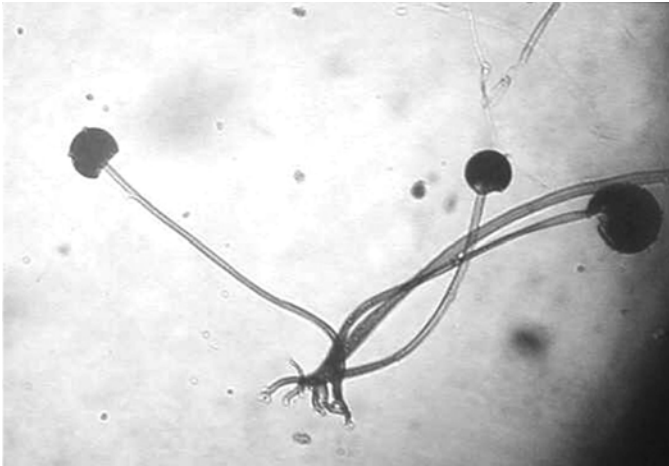
rounded, of roughed surface and 15-20 x 6-9  $\mu\text{m}$ . These characteristics are similar to those reported by Mass (7) for *Rhizopus stolonifer* (Ehremb.) Vuillemin (*R. Nigricans* in a formal way).

## Conclusions

Pathogenicity tests developed in this research confirmed the symptomathologies and morphological characteristics of fungi species isolated from damaged fruits initially. However, complementary works by using molecular techniques as PCR and ADN nuclear polymorphisms for studying the pathogenic specializations would be useful.

*End of english version*

---



**Figura 9. Micelio, esporangióforos y esporangios de *Rhizopus stolonifer*.**

**Figure 9. *Rhizopus stolonifer* micellium, sphiangiophores and sphiangia.**

## Conclusiones

Las pruebas de patogenicidad desarrolladas en este trabajo corroboraron las sintomatologías y las características morfológicas de las especies de hongos aisladas inicialmente de frutos enfermos. Sin embargo, trabajos complementarios usando técnicas moleculares como PCR y polimorfismo nuclear de ADN, para estudiar las especializaciones patogénicas, serían de gran utilidad.

## Literatura citada

1. Averre, Ch., R. Jones y R. Milholland. 2003. Strawberry Diseases and their Control. Fruit disease information. Note 5. Plant pathology extension. North Carolina State Univ. U.S. 9 p.
2. Castañeda, R. 2004. Actualización en los sistemas de clasificación e identificación de hongos hifomicetes. INIFAT-Cuba. MCT, INIA, Maracaibo, Venezuela. 61 p.
3. Cedeño, I. y C. Carrero. 1996. Primer reporte en Venezuela de *Colletotrichum acutatum* causando antracnosis en frutos de fresa. *Fitopatol. Venez.* 9 (1):5.
4. Ellis, M. 2004. Botrytis Fruit rot «Gray Mold» of strawberry, raspberry and blackberry. Extension factsheet. HYG – 3017-94. Ohio state Univ. 2 pp.
5. Freeman, S., T. Katan. y E. Shabi. 1998. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant disease.* 82.(2):596-605.
6. Howard, C., J. Mass, C. Chandler y E. Albregts. 1992. Anthracnose of strawberry caused by *Colletotrichum* complex in Florida. *Plant Disease* 76:976-981.
7. Mass, J. Ed. 1998. Compendium of strawberry diseases. 2<sup>nd</sup> ed. St. Paul. The American Phytopathological Society. 138 pp.
8. OEPP. 2004. EurDiagnostic protocols for regulated pest. P.M. 7/25. Bulletin 34, p. 155-157.
9. Smith, B. y L. Black. 1990. Morphological, cultural and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. *Plant Dis.* 74:69-76.
10. Tanaka, M. y F. Passos. 2002. Pathogenic characterization of *Colletotrichum acutatum* and *C. fragariae* associated with strawberry anthracnose. *Fitopatol. bras.* 27(5):484-488.