

ARTÍCULOS

ANTRACNOSIS EN ZÁBILA CAUSADA POR *COLLETOTRICHUM GLOESPORIOIDES* EN LA ZONA ÁRIDA DEL ESTADO MÉRIDA, VENEZUELA

Luis Cedeño¹, Armando Briceño R.² y Gustavo Fermín²

Universidad de Los Andes, ¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Forestales, Santa Rosa; ²Centro Jardín Botánico, Facultad de Ciencias, Mérida 5101, Venezuela.

Investigación financiada por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes (Proyecto FO-682-08-01-B), Mérida, Venezuela.

Recibido: 14 de junio de 2010.

Aceptado: 22 de octubre de 2010.

RESUMEN

Cedeño, L., Briceño R., A. y Fermín, G. 2010. Antracnosis en zábila causada por *Colletotrichum gloeosporioides* en la zona árida del estado Mérida, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 23:30-34.

En abril de 2007, el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* fue consistentemente aislado de las pencas (hojas) de plantas de zábila (*Aloe barbadensis* Miller) cultivadas en la Estación Experimental San Juan de Lagunillas del Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Pruebas de patogenicidad realizadas en invernadero y subsecuentes re-aislamientos hechos a partir de las pencas inoculadas artificialmente, confirmaron que *C. gloeosporioides* causó la enfermedad investigada. La identidad de la especie se estableció sobre la base de análisis fitopatológicos tradicionales y confirmada mediante prueba molecular por PCR. Este artículo constituye para Venezuela el primer reporte formal sobre una enfermedad de antracnosis causada por *C. gloeosporioides* en zábila.

Palabras clave adicionales: *Aloe barbadensis*, biología molecular, *Glomerella cingulata*, PCR.

ABSTRACT

Cedeño, L., Briceño R., A. and Fermín, G. 2010. Anthracnose on aloe caused by *Colletotrichum gloeosporioides* at the arid zone of Mérida State, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 23:30-34.

In April 2007, the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* was consistently isolated from leaves of aloe plants (*Aloe barbadensis* Miller) cultivated at the Experimental Station San Juan de Lagunillas of Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Pathogenicity tests performed under greenhouse conditions and subsequent re-isolations from leaves artificially infected, confirmed that *C. gloeosporioides* caused the disease investigated. The identity of the fungus was determined based on traditional phytopathological analysis and it was also confirmed by a PCR-based molecular test. This paper is the first formal report for Venezuela about an anthracnose disease caused by *C. gloeosporioides* on aloe.

Additional key words: *Aloe barbadensis*, *Glomerella cingulata*, molecular biology, PCR.

INTRODUCCIÓN

La zábila (*Aloe barbadensis* Miller) [= *Aloe vera* (L.) P. Webb & Benth.], también llamada sábila y zabila, es una herbácea de la familia Xanthorrhoeaceae originaria de África, que se caracteriza por desarrollar una roseta basal de hojas suculentas. El término genérico *Aloe* deriva del árabe *alloe* que, según su sinónimo hebreo *hallal*, significa sustancia brillante y amarga. A esta planta se le atribuyen propiedades de utilidad alimentaria, cosmética, farmacéutica y médica (16). Nacional e internacionalmente se comercializa como hojas (pencas), jugo (acíbar) y gel (cristales).

En Venezuela, las principales entidades productoras de zábila son: Falcón, Lara, Sucre y Anzoátegui (15). La especie fue introducida a Falcón y algunos estados orientales desde las islas del Caribe (Aruba, Curazao), mientras que a Lara llegó desde Falcón. Recientemente, la alcaldía del municipio Sucre del estado Mérida inició la ejecución del proyecto "Mucumbú", cuyo propósito fundamental es producir, procesar y comercializar zábila y sus derivados, a los fines de garantizar empleo y mejorar la calidad de vida de los agricultores de la zona. Esta acción de apoyo a la agricultura familiar y a las comunidades campesinas en general, exige iniciar estudios de diagnóstico sobre insectos y enfermedades, que pudieran convertirse en potenciales amenazas para el desarrollo exitoso del plan zabilero en referencia.

A pesar de poseer atributos medicinales de utilidad humana, las plantas de zábila sufren enfermedades que alteran su capacidad productiva y, en casos excepcionales, le ocasionan la muerte. En abril de 2007, en una siembra experimental de zábila situada en la Estación Experimental San Juan de Lagunillas del Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad de Los Andes (IIAP-ULA), sobrevino una enfermedad foliar que afectó 80% de la población. Las hojas experimentaron necrosis localizada principalmente en los bordes y la punta. Inicialmente aparecieron lesiones de color marrón claro con margen castaño oscuro que, posteriormente, se convirtieron en manchas secas de color marrón oscuro a casi negras (Fig. 1).

El objetivo primordial del presente estudio fue identificar y evaluar la patogenicidad del microorganismo causante de la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento e identificación del patógeno. Los aislamientos se realizaron a partir de plantas de zábila sintomáticas provenientes de una plantación experimental existente en la Estación Experimental San Juan de Lagunillas del IIAP-ULA, situada en San Juan de Lagunillas, municipio Sucre del estado Mérida. Después de lavar las hojas



Fig. 1. A. Zábila con infección natural de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides*.

(pencas) enfermas por 1h con agua de chorro. Del margen de las manchas se cortaron fragmentos de 2-3 mm de longitud que secuencialmente fueron sumergidos por 1 min en solución 0,5 % de hipoclorito de sodio (NaClO), lavados en tres cambios de agua destilada esterilizada (ADE), secados con papel absorbente esterilizado y sembrados asépticamente en placas de agua agar 2 % más ácido láctico (AAA, pH 4,5). Las placas se incubaron a temperatura ambiente (22 ± 2 °C) y 12 h de fotoperiodo. Las colonias emergentes se transfirieron a placas que contenían medio preparado con papa dextrosa agar (PDA) más antibiótico (cloranfenicol, $150 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), para posteriormente realizar cultivos monoconidiales y proceder a la identificación del patógeno sobre la base de la morfometría de las estructuras reproductivas y mediante análisis molecular por PCR (2). Adicionalmente, se investigó la sensibilidad a benomilo en monoconidiales del hongo aislado (14). Para la obtención de los cultivos monoconidiales se seleccionó un cultivo masal del cual se cosecharon conidias que inmediatamente fueron transferidas a un tubo de microcentrífuga que contenía 1 mL de ADE. La suspensión se agitó en Vórtex y con un hematocitómetro se procedió a determinar la concentración conidial, para posteriormente ajustarla a 50 conidios/ μl . En el centro de placas que contenían AAA ó PDA más cloranfenicol, se combinaron 0,3 mL de ADE y 1 μl de suspensión conidial, procediendo luego a dispersar la preparación con una varilla de vidrio. Las placas se incubaron invertidas a temperatura ambiente (22 ± 2 °C) y 12 h de fotoperiodo. Los monocultivos fueron sub-cultivados en tubos con PDA y conservados bajo refrigeración.

Las características morfométricas se registraron en 10 cultivos monoconidiales y en cada uno de éstos se examinaron 50 conidias que fueron depositadas sobre portaobjetos, fijadas con formaldehído 4%, teñidas con lactofucsina ácida 0,025% y examinadas en microscopio Zeiss, modelo Axioplan. Los apresorios se indujeron inoculando lateralmente piezas rectangulares de AAA, previamente depositadas sobre porta objetos incubados bajo condiciones de cámara húmeda preparada con cápsulas de Petri, papel filtro y ADE. La identificación preliminar del microorganismo aislado se realizó sobre la base de la morfología y dimensiones de conidias y apresorios. Para confirmar la identidad del patógeno se hizo un análisis

molecular por PCR utilizando cebadores dirigidos a la secuencia transcrita interna de los ribosomas, ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTAGTATGC-3') y un cebador inverso específico para *Colletotrichum acutatum* (CaInt2: 5'-GGGGAAGCCTCTCGCGG-3') o *C. gloeosporioides* (CgInt: 5'-GGCCTCCGCTCCGGCCGG-3'). Los cebadores fueron diseñados originalmente por Brown *et al.* (5,23). La extracción del ADN, los análisis de PCR y la identificación de los productos amplificados se realizaron como se reportara previamente (2).

Pruebas de patogenicidad. Se seleccionaron doce plantas sanas de zábila de seis meses de edad, de las cuales 8 fueron inoculadas y 4 usadas como control. Previo a la inoculación, todas las plantas fueron asperjadas con ADE y colocadas por 24 h en cámara húmeda bajo condiciones de invernadero. En cada planta seleccionada para la infección artificial se determinó cantidad y longitud promedio de las hojas. El número de hojas/planta varió entre 5 y 11, con un promedio aproximado de 7. La longitud osciló entre 15,2 y 25,5 cm, siendo el promedio 19,7 cm. A cada hoja se le hizo una herida en la parte media del haz utilizando una aguja de disección estéril y sobre la punción se depositó un disco (10 mm diám) de agar-micelio cortado de un cultivo monoconidial en PDA+ cloranfenicol incubado por 13 d a temperatura ambiente (22 ± 2 °C). Sobre el disco inóculo se colocó algodón esterilizado y mojado con ADE, manteniéndolo en el sitio con papel Parafilm®. En las plantas testigo sólo se aplicaron discos de PDA + cloranfenicol sin el hongo. Seguidamente las plantas inoculadas y testigo fueron cubiertas con bolsas de plástico transparente e inmediatamente incubadas por 5 d en invernadero. Posteriormente, a partir de las plantas infectadas experimentalmente, se hicieron re-aislamientos en AAA para confirmar el cumplimiento de los postulados de Koch y, en consecuencia, la patogenicidad del organismo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación del patógeno. A partir de los tejidos infectados naturalmente, siempre se aisló un hongo perteneciente al género *Colletotrichum* que en placas con PDA incubadas a temperatura ambiente y 12 h de fotoperiodo, produjo colonias blanco-algodonosas que seguidamente se volvieron ligeramente rosadas y finalmente comenzaron a tornarse grisáceas desde la porción central. El crecimiento ocurrió en forma de bandas concéntricas y las conidias aparecieron en masas mucilaginosas de color anaranjado próximas al borde de las placas. Por el reverso se apreció un tinte ligeramente rosado. Se observaron conidias unicelulares, hialinas, oblongas, con ambos extremos obtusos y midieron 12,0-(13,8)-15,0 μm de largo x 3,0-(3,2)-4,0 μm de ancho. Los apresorios mostraron coloración marrón sepia, forma clavada, ovada, ob-ovada o lobulada y midieron 5,0-(7,5)-13,7 μm de longitud x 2,5-(4,2)-6,2 μm de ancho (Fig. 2). Sobre la base de la morfología y dimensiones de las conidias y apresorios y las características del crecimiento *in vitro*, el organismo aislado se identificó preliminarmente como *C. gloeosporioides* (21,22), anamorfo de *Glomerella cingulata*. En PDA el benomilo inhibió totalmente el crecimiento micelial, condición que es característica en *C. gloeosporioides* (14).

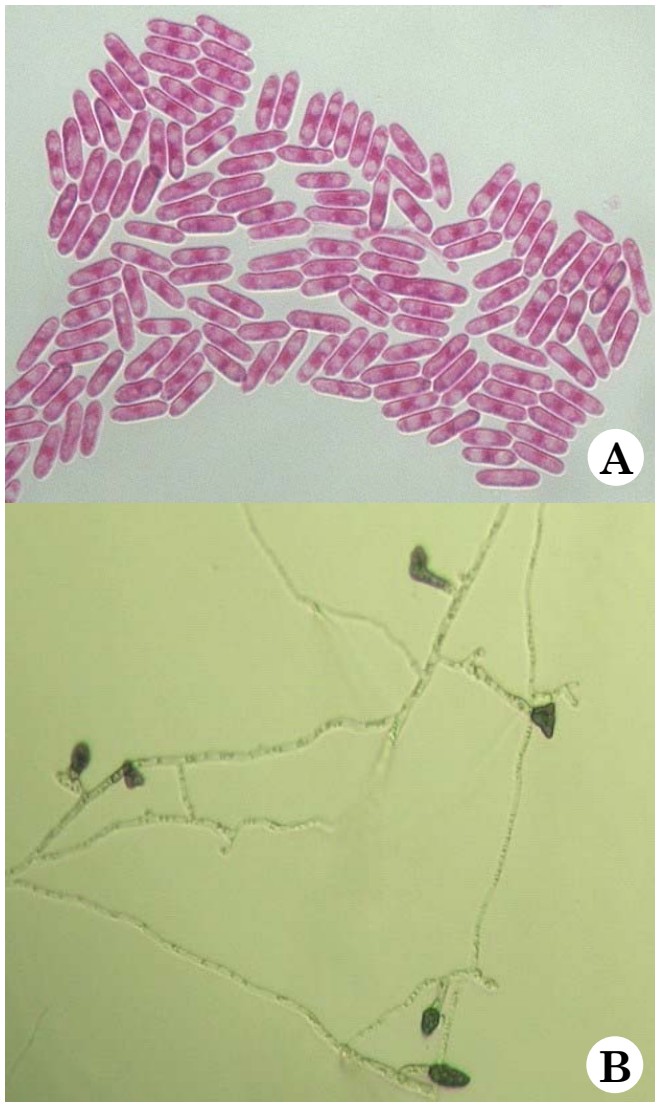


Fig. 2. *Colletotrichum gloeosporioides*. A. Conidias producidas en PDA. B. Apresorios desarrollados en AAA.

Identificación molecular del patógeno. La purificación del ADN de *C. gloeosporioides* fue simple y proporcionó fácilmente cantidades satisfactorias de producto. Medio gramo de micelio produjo suficiente ADN para cualquier estudio de biología molecular. En las pruebas realizadas para la identificación molecular por PCR de la especie, el ADN proveniente de cultivos monoconidiales no se degradó y fue confiable para la amplificación de los productos específicos. Los cebadores diseñados para la identificación específica de *C. gloeosporioides* permitieron la amplificación de un producto muy próximo a las 500 pb reportada para la especie (23). No se observó ningún producto cuando el mismo ADN se utilizó con los cebadores dirigidos a *C. acutatum*. En resumen, todas las pruebas de PCR confirmaron que los cultivos monoconidiales examinados pertenecen a *C. gloeosporioides* y que las mismas son confiables para la discriminación entre *C. acutatum*, *C. coccodes* y *C. gloeosporioides* (13) (Fig. 3).

La prueba de secuenciación de los productos amplificados y el alto nivel de similitud detectado al comparar los resultados obtenidos mediante BLAST en la base de datos GenBank, confirmó la identidad del hongo investigado.

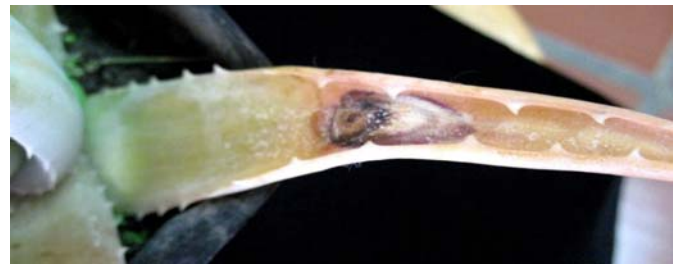


Fig. 4. Antracnosis en zábila inoculada experimentalmente con *Colletotrichum gloeosporioides*.

Pruebas de patogenicidad. Cinco días después de la inoculación (ddi), todas las pencas infectadas artificialmente presentaban lesiones con centro marrón claro y margen definido de color castaño a marrón oscuro alrededor de la herida. Las pencas de las plantas testigo sólo tenían necrosis en la herida hecha con la aguja de disección.

A los 13 ddi, se apreció que las lesiones habían avanzado formando bandas más o menos concéntricas bien definidas y con tonalidades entre pardo-rojizo y marrón. En cada lesión se apreció una depresión que se extendía desde el haz hasta el envés. Alrededor de las lesiones había “peças” de colores pardo y marrón. Para la fecha, las lesiones, incluyendo las áreas deprimidas, midieron entre 2,5 y 3,5 cm de diám (Fig. 4).

A los 19 ddi, todas las plantas inoculadas presentaban síntomas característicos de la enfermedad observada en campo. Las pencas inoculadas, en su mayoría, mostraban color verde pálido o ligeramente rosado y hasta ese momento no se observaron acérvulos. En promedio, las lesiones crecieron aproximadamente 1 cm por semana.

C. gloeosporioides fue aislado consistentemente de las lesiones reproducidas artificialmente en las hojas de zábila, confirmándose el cumplimiento de los postulados de Koch y demostrándose, en consecuencia, que la especie de hongo investigada fue la causante de la enfermedad ocurrida en la Estación Experimental San Juan de Lagunillas del IIAP-ULA. En la literatura disponible examinada, no aparece registrado ningún reporte sobre antracnosis causada por *C. gloeosporioides* en zábila. En consecuencia, la presente publicación parece constituir el primer reporte sobre una enfermedad de antracnosis causada por *C. gloeosporioides* en zábila en Venezuela .

Las bondades que se le atribuyen a la zábila son diversas e innumerables, lo que permite catalogar al cultivo como “rubro con significativo potencial generador de ingresos”. Sin embargo, es importante destacar que, con algunas excepciones particulares, la producción de zábila en Venezuela no ha recibido la atención agronómica y fitopatológica requerida para que su potencial productor sea comercialmente competitivo. A manera de ejemplo, en el estado Falcón, primer productor nacional y donde la tradición zabilera ha transitado más allá de 500 años, para el año 2005 la zábila todavía conservaba la condición de cultivo marginal o complementario (15). En este estado, el cultivo se explota como una fuente adicional de ingresos (16), siendo ésta una de las razones por las cuales no se cumple con los estándares internacionales de calidad (15). Debido a ese carácter de cultivo secundario, hasta el inicio de la primera década del siglo 21, la información fitopatológica fue escasa e imprecisa. Tanto es así, que la zábila no aparece referida

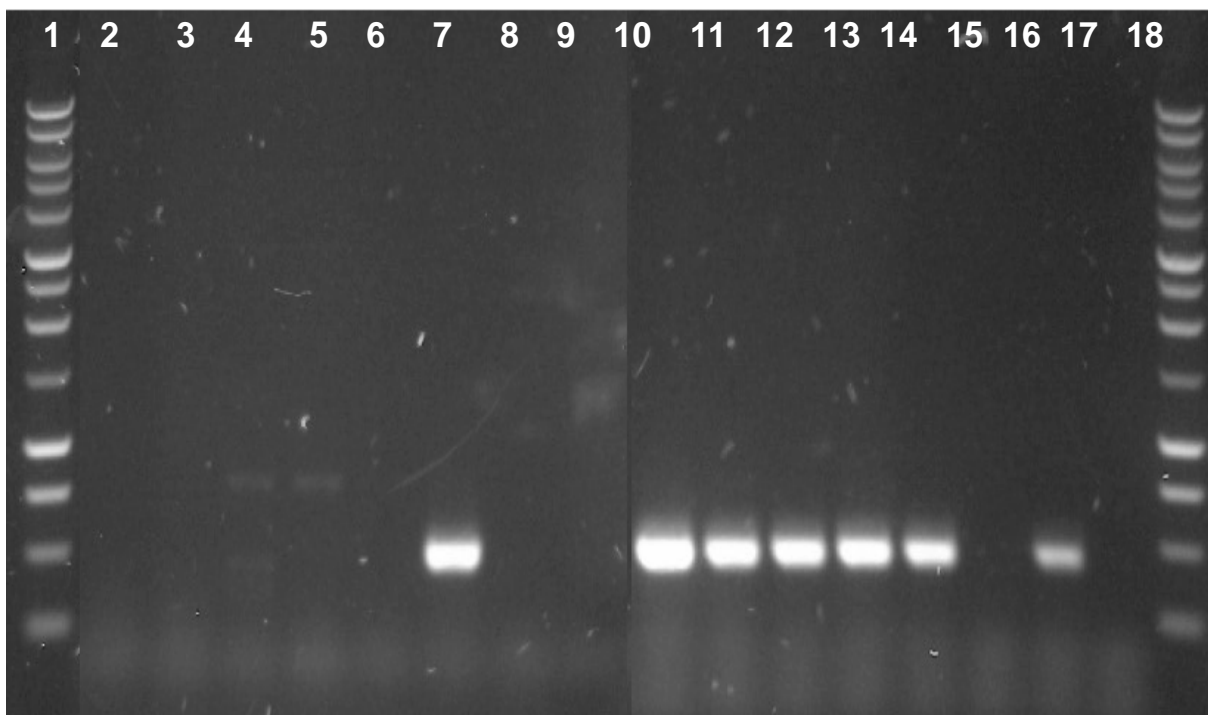


Fig. 3. Identificación por PCR de *Colletotrichum gloeosporioides*. Los productos de amplificación fueron corridos por 1 hora en Gel de agarosa al 0,8%, utilizando buffer TAE 1X. Carriles 1 y 18: escalera de PM 1 Kb DNA leader. Carriles 2-9 amplificados con primer de identificación para *C. acutatum*: 2-6.- Aislados monoconidiales de lesiones en zábila, 7.- Aislado de *C. acutatum* (fresa), 8.- Aislado de *C. gloeosporioides* (mango), 9.- control negativo sin ADN. Carriles 10-17 amplificados con primer de identificación para *C. gloeosporioides*: 10-14.- Aislados monoconidiales de lesiones en zábila, 15.- Aislado de *C. acutatum* (fresa), 16.- Aislado de *C. gloeosporioides* (mango), 17.- control negativo sin ADN.

en las publicaciones “Índice de Enfermedades de las Plantas Cultivadas en Venezuela” de Díaz Polanco y Salas de Díaz (4) e “Índice de Enfermedades en Plantas de Venezuela y Cuba” de Uriiaga (25). Para 1999, una publicación de difusión limitada refiere daños causados por especies desconocidas de hongos pertenecientes a los géneros *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Pestalotia* (1).

Fue a partir del año 2001, durante la realización del XVII Congreso Venezolano de Fitopatología, cuando se inició la presentación formal de información relativa a enfermedades de la zábila provocadas por bacterias y hongos. Del estado Sucre se reportaron bacterias patógenas de los géneros *Pectobacterium*, *Erwinia*, *Ralstonia* y *Pseudomonas* (24), mientras que en Falcón se mencionaron daños inducidos por *Pantoea aglomerans* y *Erwinia chrysanthemi* (3,7,10). En cuanto a las enfermedades fúngicas se señalaron problemas causados por *Fusarium* sp. (10), *Fusarium solani* (20), *Rhizoctonia* sp. (7,9,10), *Sclerotium rolfsii* (6,7,19,20) y *Lasioidiplodia theobromae* (20). Posteriormente, en el año 2003, fueron reportados desde Falcón *E. chrysanthemi* (12) y desde la Península de Araya, estado Sucre, *Dreschlera hawaiiensis* como causante de manchas foliares (17). En el 2004, Lugo *et al.* (11) señalaron que una especie desconocida de *Rhizoctonia* estaba pudriendo el tallo y las raíces de la zábila cultivada en el estado Falcón.

C. gloeosporioides es un patógeno cosmopolita y ha sido reconocido como agente causal de antracnosis en aproximadamente 250 especies botánicas distintas (18). La enfermedad causada por este hongo pudiera convertirse en una de las principales debilidades a corregir en el proyecto de producción industrial de zábila en el Municipio Sucre de Mérida, cuya ejecución ha sido motivada por el interés que

han manifestado empresas de Alemania y China, de recibir todo el producto derivado de la zábila cultivada en esa zona, para ser usado como materia primera en la elaboración de cosméticos y medicamentos. La antracnosis ocasiona alteraciones estéticas y estructurales en las hojas, que reducen su capacidad de almacenar gel. En etapa avanzada de enfermedad, las hojas se vuelven negras y retorcidas.

Finalmente, es importante señalar que desde el punto de vista económico y ambiental, la prevención destaca como la medida de control más efectiva y menos costosa, ya que cuando se evita la aparición de la enfermedad, no hay que aplicar pesticidas que pudieran limitar la utilidad de los derivados de la zábila, motivado a la presunción sobre posibles efectos nocivos para la salud.

LITERATURA CITADA

1. Alvarado, C. 1999. Diagnóstico de enfermedades fúngicas en el cultivo de zábila (*Aloe vera* L.) bajo condiciones de riego y sin riego en el sector Pueblo Nuevo del Municipio Colina del estado Falcón. Trabajo Especial de Grado. Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Coro, Venezuela. 28 pp.
2. Cedeño, L., Briceño, A., Fermin, G., Domínguez, I., Pino, H. and Quintero, K. 2007. First record of *Colletotrichum acutatum* on lisanthus (*Eustoma grandiflorum*). Fitopatol. Venez. 20: 41-43.
3. Contreras, N., Vargas, N., Gómez, N. y Carrasco, A. 2001. Plantas de zábila afectadas por *Erwinia chrysanthemi* en los estados Falcón y Lara. Fitopatol. Venez. 14: 50 (Resumen).
4. Díaz Polanco, C. y Salas de Díaz, G. 1980. Lista de patógenos de las plantas cultivadas en Venezuela. Centro de Investigaciones Agropecuarias-Región Centro-Occidental (CIARCO), Araure, estado Portuguesa, Venezuela. 62 pp.

5. Freeman, S., Shabi, E. and Katan, T. 2000. Characterization of *Colletotrichum* causing anthracnose of anemone (*Anemone coronaria* L.). *Environ. Microbiol.* 66:5267-5272.
6. Grimán, M., Velásquez, J., Hernández, R. y Romero, Y. 2001. Pudrición del tallo en plantas de zábila (*Aloe vera*) causada por *Sclerotium rolfsii* Sacc. y probabilidades de control con *Trichoderma harzianum*. *Fitopatol. Venez.* 14: 53 (Resumen).
7. Hernández, R., Romero, Y., Velásquez, J., Grimán, M., Contreras, N. y Vargas, N. 2001. Problemática fitopatológica de la zábila en el sector Las Ventosas del Municipio Colina del estado Falcón. *Fitopatol. Venez.* 14: 81 (Resumen).
8. Lugo de Cumare, Z. y Azócar, R. 2003. Tratamientos preventivos para la desinfección de hojas de zábila (*Aloe vera*). *Fitopatol. Venez.* 16:51 (Resumen).
9. Lugo, Z. y Castillo, Y. 2001. Identificación del agente causal de la pudrición del tallo y raíz en plantas de zábila (*Aloe vera* L.) en algunos municipios del estado Falcón. *Fitopatol. Venez.* 14: 60 (Resumen).
10. Lugo, Z. y Medina, R. 2001. Diagnóstico preliminar de enfermedades en plantas de zábila (*Aloe vera* L.) en los municipios Miranda, Falcón y Sucre del estado Falcón. *Fitopatol. Venez.* 14: 77 (Resumen).
11. Lugo, Z., Tua, D. y Medina, R. 2004. Pudrición del tallo y raíz en zábila (*Aloe vera*) causada por *Rhizoctonia* en el estado Falcón. *Fitopatol. Venez.* 17: 49-51.
12. Medina, Z., Romero, Y. y Velásquez, J. 2003. *Erwinia chrysanthemi* en zábila (*Aloe vera*) y cocuy (*Agave cocuy*). Posibilidades de control con hidroterapia *Fitopatol. Venez.* 16:47 (Resumen).
13. Melanie, L., Ivey, L., Nava-Diaz, C. and Miller, S. 2004. Identification and management of *Colletotrichum acutatum* on immature Bell peppers. *Plant Dis.* 88:1198-1204.
14. Peres, N.A.R., Souza, N.L., Peever, T.L. and Timmer, L.W. 2004. Benomyl sensitivity of isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from citrus. *Plant Dis.* 88: 125-130.
15. Piña-Zambrano, H. 2005. Perfil preliminar del mercado de la zábila (*Aloe barbadensis* Mill.) en el Estado Falcón, Venezuela. *Bioagro* 17: 85-92.
16. Piña-Zambrano, H., Azócar, R., Lugo, Z. y Romero, C. 2005. Tipología de la producción primaria de zábila (*Aloe barbadensis* Mill.) en el Estado Falcón, Venezuela. *Bioagro* 17: 25-34.
17. Riera, L. e Imeri, J. 2003. Primer reporte de *Dreschlera hawaiiensis*, causante de manchas foliares en cultivos de zábila (*Aloe vera*), Península de Araya, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 16: 101 (Resumen).
18. Rosa, D.D., Masson, M.V., Ohto, C.T., Basseto, M.A., Avellar, R.V.B. and Furtado, E.L. 2008. First occurrence of anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in *Calophyllum brasiliensis* in Brazil. *Austral. Plant Pathol. Dis.* N. 3: 105-106.
19. Sanabria de Albarracín, N. y Albarracín, M. 2001. Primer reporte de la pudrición basal en zábila (*Aloe vera* L.) por *Sclerotium rolfsii* en Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 14: 24.
20. Sanabria de Albarracín, N., Alcano, N., Vera, L. y Albarracín, M. 2001. Pudriciones basales en zábila en el estado Falcón. *Fitopatol. Venez.* 14: 65 (Resumen).
21. Sutton, B. C. 1980. The Coelomycetes: Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 696 pp.
22. Sutton, B.C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: *Colletotrichum: Biology, pathology and control*. J.A. Bailey and M.J. Jager (eds.). Commonwealth Agricultural Bureaux (CAB) International, Wallingford, Oxon OX 8DE, U.K. Pp.1-27.
23. Talhinhos, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martins, J. and Oliveira, H. 2005. Molecular and phenotypic analysis reveal association of diverse *Colletotrichum acutatum* groups and low level of *C. gloeosporioides* with olive anthracnose. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:2987-2998.
24. Trujillo, G., Hernández, J., Imeri, J. y Guevara, J. 2001. Aislamientos de bacterias patógenas afectando *Aloe vera* en el estado Sucre. *Fitopatol. Venez.* 14: 45-46 (Resumen).
25. Urteaga, R. 1986. Índice de Enfermedades en Plantas de Venezuela y Cuba. Barquisimeto, estado Lara, Venezuela. 202 pp.