

Sitios y estructuras de sobrevivencia de *Colletotrichum spp.*, causante de la podredumbre amarga del manzano

Casanova Leticia¹, Hernández Laura¹, Alaniz Sandra¹, Mondino Pedro¹

¹Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Fitopatología, Departamento de Protección Vegetal. Avenida Garzón 780, 12900 Montevideo, Uruguay. Correo electrónico: pmond@fagro.edu.uy

Recibido: 7/12/15 Aceptado: 2/9/16

Resumen

La podredumbre amarga de los frutos, ocasionada por especies de *Colletotrichum*, es una de las enfermedades que causa mayores pérdidas en el cultivo del manzano en regiones de clima húmedo. En Uruguay, su importancia se acrecienta cuando ocurren veranos cálidos y lluviosos. Luego de la cosecha, *Colletotrichum spp.* debe recurrir a mecanismos de sobrevivencia que garanticen su presencia en la siguiente temporada de producción. El conocer con exactitud cómo sobrevive este patógeno permitiría ajustar estrategias de manejo con el fin de reducir la disponibilidad de inóculo inicial. El objetivo de este trabajo fue elucidar los lugares y las estructuras de sobrevivencia de *Colletotrichum spp.* en el campo. Para ello, en un monte comercial de manzano con antecedentes de podredumbre amarga se colectaron muestras de diferentes partes de la planta (ramas, yemas fructíferas y frutos momificados) y del suelo (restos de podas y frutos momificados) en diferentes momentos durante dos años consecutivos. Las muestras fueron procesadas con el fin de detectar la presencia de estructuras vegetativas o reproductivas de este patógeno. Se constató la presencia de *Colletotrichum spp.* sobre los árboles, principalmente sobre la madera de las ramas. No fue posible encontrar el patógeno sobreviviendo en frutos momificados ni en restos de poda sobre el suelo. Las estructuras detectadas fueron masas de micelio y cirros de conidios, y en ningún caso se encontraron peritecios con ascas y ascosporas.

Palabras clave: *Colletotrichum*, podredumbre amarga, sobrevivencia

Summary

Sites and Structures for the Survival of *Colletotrichum spp.*, the Causal Agent of Bitter Rot of Apple

The bitter fruit rot caused by species of *Colletotrichum* is one of the most destructive diseases affecting apple fruit in humid climates. In Uruguay, when hot and rainy summers occur, they cause important fruit losses. After harvest, *Colletotrichum spp.* have to survive to guarantee their presence in the next production season. Knowing exactly how this pathogen survives, will allow designing management strategies to reduce the amount of initial inoculum. The aim of this study was to elucidate the sites and structures of survival of *Colletotrichum spp.* in the field. For this, in a commercial apple orchard with history of bitter rot, different organs from the plant (branches, fruit buds and mummified fruits) and from the ground (garden waste and mummified fruits) were collected at different times during two consecutive years. The samples were processed to detect the presence of vegetative and reproductive structures of this pathogen. *Colletotrichum spp.* was found in apple trees, mainly on the wood of the branches. It was not possible to detect the pathogen on mummified fruit nor on prunings collected from the ground. The structures found were masses of mycelium and conidia cirrus, and in no cases perithecia with ascii and ascospores were found.

Keywords: *Colletotrichum*, bitter rot, survival

Introducción

La Podredumbre Amarga (PA) es una de las enfermedades más comunes y destructivas de los frutos del manzano en regiones con veranos cálidos y lluviosos (Ogawa e English, 1991; Sutton, 1990). En Uruguay, cuando ocurren condiciones ambientales favorables para el desarrollo de esta enfermedad, las pérdidas de fruta pueden ser superiores al 50 % (Alaniz *et al.*, 2012, 2015; Velho *et al.*, 2015). El daño principal consiste en una pudrición blanda que puede causar la destrucción total del fruto. Inicialmente aparecen pequeñas manchas circulares de color pardo o grisáceo. La zona afectada avanza en forma circular a la vez que profundiza en la pulpa en forma cónica. La superficie de la zona afectada se deprime hasta aplanarse. Sobre la misma se observa la producción de acérvulos en círculos concéntricos, que exudan masas de esporas (conidios) de color naranja o salmón a marrón claro (Mondino *et al.*, 2009). Cuando la fruta es colonizada completamente, se inicia un proceso de momificación. Esta fruta momificada puede caer al suelo o permanecer sobre el árbol hasta la siguiente temporada (Sutton, 1990).

La PA es ocasionada por diferentes especies de *Colletotrichum*. En Uruguay, *C. fructicola* es la especie predominante y con menor frecuencia aparecen *C. theobromicola*, *C. melonis* y una especie de *Colletotrichum* aún no identificada (Alaniz *et al.*, 2015). *C. fructicola* también ha sido citada como la especie predominante en Brasil y China (Velho *et al.*, 2015; Fu *et al.* 2013), mientras que *C. floriniae* es la que predomina en Kentucky (Munir, 2015). Otras especies citadas causando esta enfermedad son *C. nymphaeae* en Brasil (Velho *et al.*, 2014), *C. godetiae* en Holanda, Reino Unido y Eslovenia (Wenneker *et al.*, 2015; Baroncelli *et al.*, 2014; Munda, 2014) y *C. siamense* en Kentucky y Brasil (Munir, 2015; Velho *et al.*, 2015).

Al igual que ocurre con otros patógenos que afectan la fruta, luego de la cosecha y durante el invierno *Colletotrichum* debe recurrir a mecanismos de supervivencia que garanticen la presencia de inóculo en la siguiente temporada de producción. Diferentes lugares y formas de supervivencia han sido reportadas en la bibliografía para las especies de *Colletotrichum* causantes de la PA del manzano.

Varios autores indican que la principal fuente de inóculo para la fruta es la propia planta, donde *Colletotrichum* sobreviviría saprofíticamente; estos autores afirman haberlo encontrado sobre frutos momificados, ramas y yemas asintomáticas (Crusius *et al.*, 2002; Sanhueza *et al.*, 2002; Bernardi *et al.*, 1983; Brook, 1977). Sutton y Shane (1983) mencionan que *Colletotrichum* sobrevive sobre madera

muerta y que es allí donde produce peritecios con ascas y ascosporas. Esta forma de supervivencia parece ser especialmente importante en lugares donde existe la enfermedad conocida como fuego bacteriano causada por *Erwinia amilovora*, ya que esta bacteria mata los brotes nuevos de las ramas, los que son colonizados luego por *Colletotrichum* spp. (Sutton, 1990). El fuego bacteriano no está presente en Uruguay y tampoco es común encontrar abundantes ramillas muertas por otras causas. Los frutos momificados que quedan sobre la planta o en el suelo también han sido mencionados como sitio de supervivencia de *Colletotrichum*, sobre los mismos se producirían acérvulos o peritecios en la siguiente temporada (Snowdon, 2010; Sutton, 1990; Taylor, 1971).

Hasta el momento no se han encontrado trabajos que estudien si *Colletotrichum* es capaz de sobrevivir sobre las ramas podadas. Los restos de poda que suelen quedar en el suelo, podrían constituir un lugar apropiado para la supervivencia en nuestras condiciones de producción.

En Uruguay no existen antecedentes de trabajos tendientes a determinar de qué manera y en qué sitios sobrevive de una temporada a otra el hongo causante de la PA del manzano. Conocer cómo y dónde sobrevive *Colletotrichum* permitiría desarrollar estrategias específicas de control. Un ejemplo de ellos sería la remoción de ramas de poda, frutos momificados u otras potenciales fuentes de inóculo, que es una recomendación común de manejo de diferentes patógenos en procura de evitar que la enfermedad se instale cada temporada en el cultivo (Celetti, 2014).

En base a lo expuesto el objetivo de este trabajo fue elucidar los lugares en que permanece y las estructuras que produce *Colletotrichum* spp. para su supervivencia en las condiciones de producción de manzana de Uruguay.

Materiales y métodos

Sitio de muestreo

Durante dos años consecutivos, 2013 y 2014, en un monte comercial de manzano con antecedentes de alta incidencia de PA los años anteriores (información que fue obtenida mediante entrevista al técnico asesor del establecimiento), se realizaron colectas periódicas de diferentes órganos en la parte aérea del árbol y de restos de poda o frutos momificados caídos en el suelo. El monte utilizado es de la variedad Cripps Pink y la variedad polinizadora es Brasil Gala. Está ubicado en Kiyú (34° 38'S 56° 45'W), departamento de San José, y fue implantado en el 2005, con una densidad de plantación de 1,2 m x 4 m.

Sobrevivencia de *Colletotrichum* spp. sobre la planta

Tanto en el año 2013 como en el 2014 se realizaron cuatro colectas de muestras en los meses de mayo, julio, setiembre y noviembre. En cada muestreo el monte se recorrió en forma de zig-zag escogiendo al menos seis árboles al azar. Se procuró incluir árboles de la zona baja del predio donde se había observado en años anteriores mayor incidencia de la PA en relación al resto del monte. En cada árbol se colectaron ramas (aproximadamente de unos 2 cm de diámetro) tomadas a diferentes alturas y de la parte interna y externa. En caso de detectarse su presencia, también se colectaron frutos momificados del año anterior. En cada visita se colectaron entre 10 y 30 muestras incluyendo ramas de poda y frutos momificados. El material colectado fue acondicionado en bolsas individuales de papel para su traslado al laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía.

En el laboratorio, de cada rama se cortaron tres segmentos de unos 7 cm aproximadamente de largo procurando abarcar los extremos y parte central de la rama. Tanto los segmentos de rama como las yemas fructíferas (lamburdas) y los frutos momificados se procesaron individualmente. La aparición de estructuras de *Colletotrichum* spp. se forzó según la metodología descrita por Mertely y Legard (2004). Las muestras (segmentos de ramas y frutos momificados) fueron colocadas a -18 °C por dos horas. Posteriormente fueron ubicadas individualmente en bandejas de plástico con tapa junto a algodón humedecido con agua estéril en su interior para dar condiciones de cámara húmeda y fueron mantenidos en incubadora a 25 °C y fotoperíodo de 12 horas con luz ultravioleta cercana (T8 BLB de 220 V) más iluminación fluorescente 380-480 nm (Luz do dia, osram universal 20 W, k8a8 C.6, Brasil).

Transcurridos 20 días se examinó cada muestra en procura de detectar la presencia de estructuras vegetativas y/o reproductivas de *Colletotrichum* spp., micelio, acérvulos con cirros o masas de conidios expuestos y/o peritecios. Para ello se utilizó lupa binocular estereoscópica de 6-50x (Wild Heerbrugg, modelo 140755, Suiza). Cuando la presencia de alguna estructura fue detectada, se procedió a observarla bajo microscopio óptico de 40 a 400x (Olympus, CX41, Tokio, Japón) para confirmar que se tratase de estructuras (conidios, peritecios, ascosporas) pertenecientes al género *Colletotrichum*. En cada una de las fechas evaluadas se registró el número de muestras con presencia de estructuras de *Colletotrichum* spp.. En el caso de las ramas se diferenció si la estructura encontrada se ubicaba sobre la propia rama, yema o flor.

Sobrevivencia de *Colletotrichum* spp. en restos de poda y frutos momificados en el suelo

Los muestreos se realizaron luego de la poda invernal. En el año 2013 se realizaron dos colectas, una en setiembre y otra en noviembre; mientras que en el 2014 fue posible realizar tres colectas: en julio, setiembre y noviembre. Durante cada colecta el monte se recorrió en forma de zig-zag recogiendo del suelo ramas podadas y frutos momificados, preferentemente debajo de la copa de los árboles, de al menos seis lugares diferentes. También en este caso se procuró incluir en el muestreo la zona más baja del monte. En cada visita se colectaron al menos 20 muestras incluyendo ramas y frutos momificados. El material recolectado fue acondicionado en bolsas individuales como se indicó anteriormente, para su posterior traslado al laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía.

Una vez en el laboratorio, de cada rama se cortaron tres segmentos de aproximadamente 7 cm de largo procurando abarcar los extremos y parte central de la rama. Cada muestra (segmento de rama, lamburda o fruto momificado) fue acondicionada individualmente en cámara húmeda como se describió anteriormente. Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente con el fin de inducir la aparición de signos. Luego de transcurridos al menos 10 días las muestras fueron examinadas con la ayuda de lupa y microscopio. Para cada una de las fechas de muestreo evaluadas, se registró el número de muestras con presencia de estructuras de *Colletotrichum* spp.

Resultados

Sobrevivencia de *Colletotrichum* spp. sobre la planta

Se constató la presencia de *Colletotrichum* spp. en ramas y yemas fructíferas colectadas del árbol. En todos los casos las estructuras detectadas correspondieron a masas de micelio de color gris sobre las que emergían cirros anaranjados de conidios característicos del género *Colletotrichum* (Figura 1). En ningún caso se pudo detectar la presencia de estructuras sexuales de este hongo.

Sobre la madera de las ramas colectadas de las plantas se detectó presencia de estructuras de *Colletotrichum* spp. en todos los muestreos, a excepción de los realizados en el mes de setiembre de 2013 y de julio 2014. La detección de *Colletotrichum* spp. en segmentos de rama varió de 1,2 a 7,7 %. Sobre yemas fructíferas, solo se pudo detectar en el 1 % de las muestras examinadas en julio de 2014. En ningún caso se observó lesión en la madera o yemas asociada a la presencia de *Colletotrichum* spp. No se observó

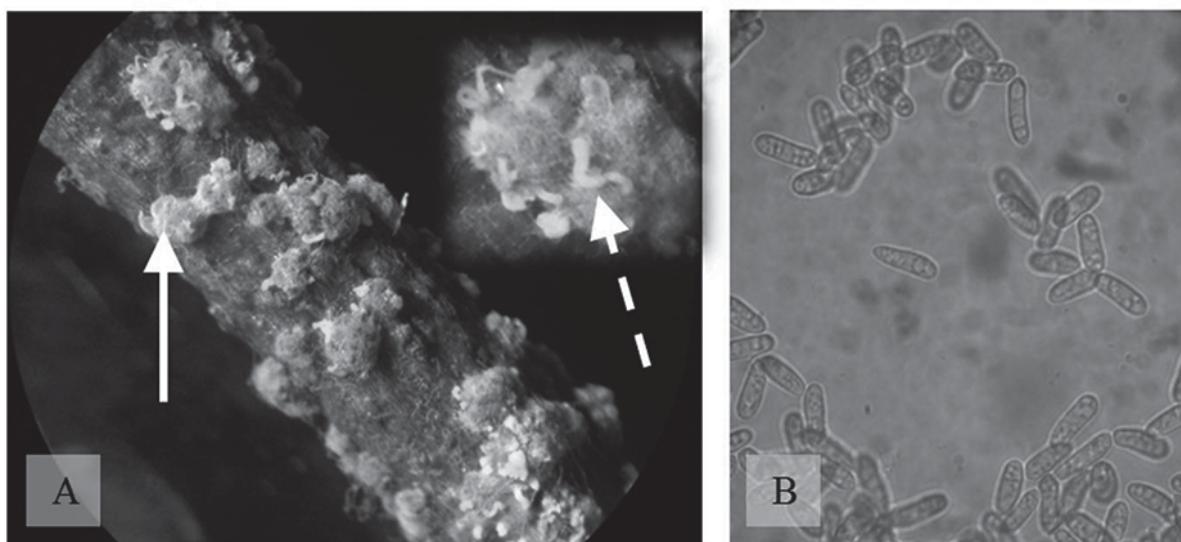


Figura 1. Segmento de rama de manzano colectada desde árbol con presencia de abundante micelio de *Colletotrichum* spp. de color gris (flecha entera) sobre el que emergen cirros de conidios de color anaranjado (flecha punteada) (A); Conidios de *Colletotrichum* spp. obtenidos de los cirros (B).

la presencia del patógeno sobre los frutos momificados recolectados en los diferentes muestreos realizados en ambos años. En los muestreos que coincidieron con el periodo de floración (setiembre de 2013 y setiembre de 2014) no se detectó la presencia de *Colletotrichum* spp. sobre las flores (Cuadro 1).

Sobrevivencia de *Colletotrichum* spp. en restos de poda y frutos momificados en el suelo

No se detectó presencia de *Colletotrichum* spp. en las muestras obtenidas del suelo en ninguno de los muestreos realizados durante ambos años.

Cuadro 1. Porcentaje de muestras colectadas de los árboles con presencia de estructuras de *Colletotrichum* spp. según órgano analizado y época de muestreo durante los años 2013 y 2014.

Fecha de colecta	Órgano analizado			
	Rama (%)	Yema (%)	Flor (%) *	Momia (%) **
Año 2013				
Mayo	7,7 (n=26)	0,0 (n=25)		
Julio	5,1 (n=78)	0,0 (n=78)		
Setiembre	0,0 (n=30)	0,0 (n=30)	0,0 (n=19)	0,0 (n=17)
Noviembre	3,1 (n=65)	0,0 (n= 65)		
Año 2014				
Mayo	3,4 (n=87)	0,0 (n=95)		
Julio	0,0 (n=86)	1,0 (n=95)		0,0 (n=5)
Setiembre	1,2 (n=83)	0,0 (n=80)	0,0 (n=20)	0,0 (n=3)
Noviembre	2,3 (n=87)	0,0 (n=80)		

(*) En los muestreos coincidentes con el periodo de floración (setiembre) se incluyeron las flores.

(**) Solamente en un muestreo de 2013 y dos de 2014 fue posible encontrar momias.

Discusión

Este trabajo constituye el primer estudio en las condiciones de producción de Uruguay que procura determinar los sitios y las estructuras de sobrevivencia de especies de *Colletotrichum*, el hongo causante de la PA del manzano. Los resultados obtenidos indican que *Colletotrichum* sobrevive sobre los árboles de manzana, mayoritariamente sobre la madera de las ramas. También pudo encontrarse este hongo sobreviviendo sobre yemas productivas, aunque en un menor porcentaje. La presencia de inóculo de *Colletotrichum* sobre la planta ha sido reportada anteriormente por otros investigadores (Crusius *et al.*, 2002; Brook, 1977). La mayor sobrevivencia sobre las ramas en comparación a las yemas productivas también ha sido citada por Everett *et al.* (2006) trabajando en montes de manzano en Nueva Zelanda.

Por su parte en Noruega Børve y Stevensand (2007) constataron la sobrevivencia en un 1,3 % de las yemas examinadas, valor similar al encontrado en nuestro trabajo. Contrariamente a lo esperado, no fue posible detectar la presencia de *Colletotrichum* en frutos momificados, ni en aquellos que permanecían sobre la planta ni en los recogidos del suelo. A pesar de haber seleccionado un monte con antecedentes de alta incidencia de podredumbre amarga en frutos, el número de frutos momificados en los árboles resultó escaso y solamente en tres fechas de muestreo (setiembre de 2013 y julio y setiembre de 2014) fue posible incluirlos en este estudio. Una posibilidad es que este patógeno no logre mantenerse viable en los frutos momificados en nuestras condiciones de producción, lo que coincidiría con los resultados obtenidos por Crusius *et al.* (2002), quienes no pudieron encontrar el patógeno en frutos momificados.

Una segunda posibilidad es que la sobrevivencia en frutos ocurra en muy baja proporción de los frutos infectados, en coincidencia con lo constatado por Taylor (1971) quien, en algunas variedades, encontró un porcentaje de sobrevivencia menor al 5 %. Para poder detectar porcentajes bajos de sobrevivencia, es necesario realizar un muestreo en el que se recolecte un número de por lo menos 100 frutos. Por otra parte no es sencillo determinar con certeza la causa de la momificación de los frutos que se encuentran sobre el árbol o caídos en el suelo. En este caso era probable que buena parte de los frutos colectados hubieran sido infectados por *Colletotrichum* spp., ya que este monte tenía antecedentes de una alta incidencia de PA en la temporada anterior. Sin embargo la momificación, al menos en algún caso, pudo haber sido consecuencia del ataque de otros

hongos, como los de la familia Botryosphaeriaceae o del género *Alternaria* (Alaniz *et al.*, 2014; Mondino *et al.*, 2009), o simplemente originarse por el normal proceso de senescencia de los frutos que en ocasiones culmina con la formación de momias.

Tampoco fue posible detectar estructuras de *Colletotrichum* spp. en las ramas de poda colectadas del suelo. Este hecho llama la atención, ya que si el hongo es encontrado sobre las ramas en la planta debería encontrarse en ellas cuando son podadas y esparcidas por el suelo. Es posible que las condiciones microclimáticas que ocurren en la copa del árbol favorezcan la sobrevivencia de este patógeno en la madera de la parte aérea, pero no cuando esta, luego de podada, queda en el suelo y se seca.

Aunque en nuestro laboratorio disponemos de aislados de *Colletotrichum* spp. provenientes de manzanas con síntomas de PA con capacidad de producir peritecios cuando son cultivados (aislados periteciales), no fue posible encontrar peritecios sobre los órganos aéreos, ni en restos de poda, ni en frutos momificados. En todos los casos en que fue detectada la presencia de *Colletotrichum*, fue por la observación de micelio y masas de conidios en forma de cirros. Existen referencias que indican que la producción de peritecios ocurre principalmente en ramas secas sobre el árbol de manzano (Sutton y Shane, 1983; Shane y Sutton, 1981). En nuestro trabajo no fue posible incluir ramillas muertas debido a que en nuestras condiciones de producción no es común encontrarlas y esa podría ser una posible explicación de la ausencia de la reproducción sexual. Posiblemente el hongo no encuentre en nuestros montes un sustrato adecuado para reproducirse sexualmente. En otras regiones una de las principales causas de la ocurrencia en ramas secas es debido a la presencia de *Erwinia amylovora*, bacteria causante del fuego bacteriano, enfermedad que no está presente en Uruguay (Sutton, 1990).

La ausencia de peritecios de *Glomerella* spp. estaría indicando que la reproducción sexual no tiene un rol destacado en el ciclo de la enfermedad para nuestras condiciones de producción. La presencia o ausencia de la reproducción sexual tiene consecuencias en la forma de diseminación de la enfermedad, ya que las ascosporas son transportadas por las corrientes de aire, mientras que los conidios de *Colletotrichum* spp. están adaptados a la diseminación por salpicado de gotas de agua de lluvia. La ausencia de reproducción sexual es coherente con la distribución de la enfermedad en focos observada en el campo (Alaniz *et al.*, 2012), distribución que se asocia al salpicado de los conidios a partir de un primer sitio de infección hacia los frutos vecinos (Sutton, 1990; Schubert,

1983). Para confirmar la baja importancia epidemiológica de las esporas sexuales en nuestras condiciones, en trabajos futuros se debería recurrir a la utilización de trampas cazaesporas diseñadas para la detección de esporas de dispersión aérea, tipo Burkard o Rotorod.

En función de los resultados obtenidos se concluye que es necesario evaluar medidas tendientes a bajar las poblaciones de *Colletotrichum* que sobreviven en la parte aérea del árbol como medida de manejo de la podredumbre amarga. A su vez deberán revisarse las recomendaciones de eliminar frutos momificados, ya que esta medida de manejo no tendría un efecto significativo en la reducción del inóculo primario de *Colletotrichum* spp. Sin embargo, para confirmar fehacientemente que los frutos momificados no constituyen un sitio de sobrevivencia deberán realizarse nuevos estudios ampliando el tamaño de las muestras.

Bibliografía

- Alaniz S, Hernández L, Mondino P. 2015. *Colletotrichum fructicola* is the dominant and one of the most aggressive species causing bitter rot of apple in Uruguay. *Tropical Plant Pathology*, 40(4): 265 - 274.
- Alaniz S, Delgado L, Hernández L, Leoni C, Mondino P. 2014. Determinación de los agentes causales de la podredumbre amarga y podredumbres por Botyosphaeriace en Uruguay. En: Seminario de actualización técnica frutales de pepita; 1 – 2 octubre, 2014; Las Brujas, Canelones. Montevideo : INIA. (Serie de Actividades de Difusión; 739). pp. 37 - 41.
- Alaniz S, Hernández L, Damasco D, Mondino P. 2012. La podredumbre amarga del manzano : identificación de especies, avances en estrategias de manejo. En: Seminario de actualización técnica frutales de pepita; 9 – 10 agosto, 2012; Las Brujas, Canelones. Montevideo : INIA. (Serie de Actividades de Difusión; 687). pp. 45 - 50.
- Baroncelli R, Sreenivasaprasad S, Thon MR, Sukno SA. 2014. First report of apple bitter rot caused by *Colletotrichum godetiae* in the United Kingdom. *Plant Disease*, 98(7): 1000.
- Bernardi J, Feliciano A, De Assis M. 1983. Ocorrência de *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*) nas gemas florais e flores de macieira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 18(6): 609 - 611.
- Børve J, Stevensand A. 2007. *Colletotrichum acutatum* found on apple buds in Norway [En línea]. En: Plant Health Progress. 5p. Consultado 20 setiembre 2016. Disponible en: <https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/brief/2007/apple/>.
- Brook PJ. 1977. *Glomerella cingulata* and bitter rot of apple. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 20(4): 547 – 555.
- Celetti M. 2014. Managing Bitter Rot in Apples [En línea]. Consultado 10 Agosto 2015. Disponible en: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/hort/news/orchnews/2014/on-1214a5.htm>.
- Crusius LU, Forcelini CA, Sanhueza RMV, Fernandes JMC. 2002. Epidemiology of Apple Leaf Spot. *Fitopatología Brasileira*, 27(1): 65 – 70.
- Everett KR, Timudo-Torrevilla OE, Shaw P, Wallis R, Mundy D, Scheper R, Wood P, Butcher M. 2006. Sustainable solutions for *Colletotrichum* apple fruit rot. *Waikato Fruitgrowers Newsletter*, (August): 13 - 15.
- Fu DD, Wang W, Qin RF, Zhang R, Sun GY Gleason ML. 2013. *Colletotrichum fructicola*, first record of bitter rot of apple in China. *Mycotaxon*, 126(1): 23 - 30.
- Mertely JC, Legard DE. 2004. Detection, isolation, and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. from strawberry petioles. *Plant Disease*, 88: 407 - 412.
- Mondino P, Di Masi S, Falconí C, Montealegre J, Nunes C, Salazar M, Vero S, Usall J. 2009. Manual de identificación de enfermedades de manzana en postcosecha. Montevideo : Facultad de Agronomía. 67p.
- Munda A. 2014. First report of *Colletotrichum floriniae* and *C. godetiae* causing apple Bitter rot in Slovenia. *Plant Disease*, 98(9): 1282 - 1282.
- Munir M. 2015. Characterization of *Colletotrichum* species causing Bitter rot of apples in Kentucky orchards [Tesis de maestría]. Kentucky University of Kentucky. 138p.
- Ogawa J, English H. 1991. Diseases of temperate zone : Tree fruit and nut crops. California : University of California. 461p.
- Sanhueza RMV, Becker WF, Boneti JIS, Katsurayama Y, Czermainski ABC. 2002. Manejo das doenças de verão na produção integrada de maçã. Bento Gonçalves : EMBRAPA. 12p. (Circular técnica ; 36).
- Schubert TS. 1983. Bitter rot of apple. *Plant Pathology circular*, (248): 2p.
- Shane WW, Sutton TB. 1981. The *Glomerella cingulata* perfect stage and apple Bitter rot. *Plant Disease*, 65: 135 – 137.
- Snowdon AL. 2010. A colour atlas of Post-harvest diseases and disorders of fruits and vegetables : General introduction and fruits. Vol. 1. Boca Raton : CRC Press. 320p.
- Sutton TB. 1990. Bitter rot. En: Jones AL, Aldwinckle HS. [Eds]. Compendium of apple and pear diseases. St. Paul, MN : American Phytopathology Society. pp. 15 - 16.
- Sutton TB, Shane WW. 1983. Epidemiology of perfect stage of *Glomerella cingulata* on apples. *Phytopathology*, 73(8): 1179 – 1183.
- Taylor J. 1971. Epidemiology and symptomatology of apple Bitter rot. *Phytopathology*, 61: 1028 - 1029.
- Velho AC, Alaniz S, Casanova L, Mondino P, Stadnik MJ. 2015. New insights into the characterization of *Colletotrichum* species associated with apple diseases in southern Brazil and Uruguay. *Fungal Biology*, 119(4): 229 - 244.
- Velho AC, Stadnik MJ, Casanova L, Mondino P, Alaniz S. 2014. First report of *Colletotrichum nympheae* causing apple Bitter rot in Southern Brazil. *Plant Disease*, 98(4): 9 - 10.
- Wenneker BM, Pham K, Lemmers M, De Boer A, Van Der Lans A, Van Leeuwen P, Hollinger T. 2015. First report of *Colletotrichum godetiae* causing bitter rot on «Golden Delicious» apples in the Netherlands. *Plant Disease*, 100(1): 218.