

POTENCIAL BIOCIDA DE EXTRACTOS DE *Gliricidia sepium* CONTRA PATOGENOS DEL CULTIVO DE LA PAPAYA (*Carica papaya*)¹

Jorge Eduardo Loaiza²*, German Rivera^{**}

Palabras clave: potencial biocida, *Gliricidia sepium*, papaya, *Colletotrichum* sp, *Pseudomonas* sp.

RESUMEN

Se realizaron aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides* a partir de frutos de papaya criolla, y de *Pseudomonas* sp. a partir de hojas, obtenidas en una plantación comercial en Gamalotillo de Puriscal. En cultivos puros de ambos organismos, se evaluó el potencial inhibitorio *in vitro* de extractos obtenidos de la corteza de la raíz de *Gliricidia sepium*. El extracto de diclorometano mostró una inhibición de 50% para el hongo y 50% para la bacteria, seguido por el extracto R-OH (25% y 15%, respectivamente), al ser comparados con el testigo químico (100% de inhibición). No se encontró efecto en los tratamientos a diluciones 1:10 y 1:100. Los resultados de las pruebas *in vitro* fueron corroborados con evaluaciones *in vivo*, sobre frutos de papaya Hawaiiana en poscosecha. En pruebas curativas (post-inoculación) se encontró diferencias altamente significativas entre los tratamientos: el extracto de diclorometano redujo la severidad de la antracnosis en 94, 80, y 4% para las 3 concentraciones (1, 1/10, 1/100 partes de extracto y agua); seguido por el extracto R-OH, 73, 33, y 18%, al ser comparados con el testigo químico 84, 2 y 0% respectivamente. En pruebas preventivas (pre-inoculación) también se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, donde el extracto de

ABSTRACT

Biocidal potencial of *Gliricidia sepium* extracts against papaya (*Carica papaya*) pathogens. Pure isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* obtained from creole papaya fruits, and *Pseudomonas* sp. from papaya leaves of a commercial plantation at Gamalotillo de Puriscal, Costa Rica, were used to evaluate the *in vitro* inhibitory potential of *Gliricidia sepium* root cortex extracts. The dichloromethane extract inhibited 50% of fungus growth and also 50% of bacteria, followed by the R-OH extract with 25 and 15% of inhibition, the chemical control gave 100% of inhibition. No effect was observed when extracts were diluted 1:10 and 1:100. The extracts that showed inhibition *in vitro* were tested *in vivo*, on harvested fruits of Hawaiian papaya. Highly significant differences ($P=0.0001$), were observed when the extract was placed after inoculation with the pathogen. The dichloromethane extract reduced anthracnose severity in 94, 81, and 5% at dilutions of 1, 1:10, 1:100 parts of extract in water. The R-OH extract inhibited 73, 33, and 18%. The chemical control reduced disease by only 85, 3, and 0%, respectively. When the extract was applied previous to inoculation the differences were highly significant ($P=0.0001$) among treatments. The

1/ Recibido para publicación el 15 de abril de 1999.

2/ Autor para correspondencia.

* Parte de la tesis del primer autor presentada ante el Programa de Posgrado en Ciencias Agrícolas y

Recursos Naturales de la Universidad de Costa Rica. Laboratorio de Fitopatología, Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica.

diclorometano redujo la severidad de la antracnosis en 89, 71, y 50%, seguido por el extracto R-OH 85, 69 y 23%; comparado con el testigo químico 77, 30 y 24%, respectivamente para las 3 concentraciones.

dichloromethane extract reduced disease severity by 82, 71, and 50%, followed by the R-OH extract that reduced 85, 69, and 23%. The chemical control gave only 77, 30, and 24% reduction at the same concentrations.

INTRODUCCION

El cultivo de la papaya se ve afectado por una considerable variedad de patógenos, los cuales tienden a disminuir su productividad. Entre las principales enfermedades se destacan la antracnosis, que ataca hojas, peciolo y frutos. El agente causal es *Colletotrichum gloeosporioides* Penz & Sacc. (Deuteromycotina, Coelomycetes) cuya forma perfecta es *Glomerella cingulata* Spauls & H. Schrenk. (Ascomycotina, Pyrenomycetes). Esta enfermedad se manifiesta con mayor intensidad en los frutos, donde inicialmente forma manchas ligeramente hundidas de varios milímetros de diámetro, con un halo acuoso a su alrededor. Luego las lesiones coalescen y cubren gran parte del fruto: al presionar con los dedos la parte dañada, se puede retirar con facilidad el tejido afectado, quedando una cavidad poco profunda y cóncava. Los frutos verdes, aún cuando estén infectados, usualmente no manifiestan síntomas pero cuando el proceso de maduración se inicia, rápidamente aparecen las lesiones (Rivera 1991).

Otra enfermedad es la mancha bacteriana de la hoja, que ha sido reportada en Gamalotillo de Puriscal, donde provoca serios daños en el follaje de plantaciones comerciales; el agente causal ha sido identificado como *Pseudomonas* sp., también reportado por Nishijima en Africa (1997) como *Pseudomonas carica-papayae* Robbs. La sintomatología observada consiste en áreas cloróticas irregulares, ubicadas a ambos lados de la nervadura central y luego sobre las nervaduras secundarias, con puntos necróticos en el centro de color café negruzco; las cuales tienden a coalescer hasta cubrir por completo la lámina foliar.

Para el combate de las enfermedades mencionadas, se han utilizado diversos métodos; por sus altos costos, el combate químico sólo se recomienda cuando la plantación es de escala comercial. Entre los fungicidas más recomendados, están: benomil, mancozeb, hidróxido de cobre y clorotalonil; como bactericidas, la mezcla estreptomycina, oxitetraciclina y sulfato de cobre, y el extracto de semilla de toronja. Debido al uso inapropiado de esos productos, han aparecido razas tolerantes a sus ingredientes activos que limitan su efectividad (Arauz et al. 1983, Fitzell y Peak 1984, Astua et al. 1993, García 1993, Solano y Arauz 1993).

Como una alternativa a la utilización de productos químicos sintéticos, surge la posibilidad de evaluar nuevas moléculas obtenidas de plantas u otros organismos, las cuales podrían causar menor impacto ambiental o económico. En plantas del bosque tropical se han identificado modelos particulares que las protegen contra organismos patogénicos; por tal motivo, la investigación con extractos de plantas abre la posibilidad de encontrar alternativas en el manejo de plagas y enfermedades que afectan los principales cultivos de Costa Rica (Chitwood 1993). En este sentido, la búsqueda de metabolitos secundarios derivados de plantas, con potencial biocida, es justificable dentro del marco de manejo integrado de plagas (MIP), el cual se ha orientado en reducir el uso de plaguicidas sintéticos en el mundo (hasta en un 50-70%)(García 1993). Diversas investigaciones realizadas por Inostroza y Fournier (1982), Alan y Barrantes (1988) y Loaiza (1994), han demostrado la actividad biocida de extractos obtenidos de diferentes partes de *Gliricidia sepium*. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo, consistió en evaluar *in vitro* la actividad

fungicida y/o fungistática, bactericida y/o bacteriostática, de extractos de corteza de la raíz de *Gliricidia sepium*, contra el hongo *C. gloeosporioides* y la bacteria *Pseudomonas* sp.; además, de la evaluación *in vivo*, en ensayos preventivos y curativos, de *C. gloeosporioides* inoculado sobre frutos de papaya Hawaiana, en poscosecha.

MATERIALES Y METODOS

Obtención de extractos de la corteza de la raíz de *Gliricidia sepium*

La raíz de *G. sepium* fue recolectada en mayo de 1995, en la Gloria de Aguas Zarcas, Cantón de San Carlos, Provincia de Alajuela, situada a 400 msnm. Dos kilogramos de la corteza de la raíz se secó durante 3 días en un horno mecánico graduado a 50°C y se molió en un molino de martillos con una criba de 6 mm. Una cantidad de 1.6 kg de ese material fue puesto en un balón de 4 L. La extracción se realizó por maceración en frío 3 veces, con una mezcla etanol 95%-agua (80:20). Para cada extracción el material se dejó en reposo 8 días. Los extractos resultantes se concentraron en un evaporador rotatorio con vacío a 45°C hasta un volumen de 500 ml. Cuatrocientos mililitros de este extracto fueron extraídos sucesivamente con los siguientes solventes de polaridad creciente: hexano, diclorometano, y acetato de etilo, quedando además el remanente acuoso. Todas estas fracciones fueron concentradas hasta volúmenes de 50 ml, mediante destilación al vacío y una temperatura menor a 45°C. Posteriormente, se tomó 10 ml de cada una de las particiones y mediante destilación al vacío se llevaron a sequedad total. Estos sólidos fueron tratados posteriormente con 10 ml de agua destilada.

Aislamiento y cultivo de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Pseudomonas* sp.

En el Laboratorio de Fitopatología de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional, se hicieron aislamientos de un fruto de papaya criolla que presentaba la sintomatología

típica de la antracnosis. También se realizó el mismo procedimiento en hojas de papaya obtenidas de una plantación comercial ubicada en Gamalotillo de Puriscal, donde se presentaban abundantes manchas foliares. La metodología utilizada fue la siguiente:

Para ambos casos, se tomaron pequeños cortes de aproximadamente 5 mm² del borde de las lesiones, se sumergieron en alcohol al 75%/1 min, se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 0.5%/30 seg, y se pasaron 3 veces consecutivas por agua destilada estéril. Los segmentos de tejido fueron transferidos al medio de cultivo papa- dextrosa- agar (PDA), acidificado para los aislamientos de hongos del fruto y sin acidificar para los de bacterias de las hojas. Por cada plato petri se colocaron 4 segmentos en forma equidistante; luego, los platos fueron incubados por 15 días a oscuridad total y temperatura ambiente (25°C) para el hongo y 4 días para la bacteria. A partir de crecimiento micelial, para el hongo, y de una colonia aislada (de un rayado) para la bacteria, se hicieron cultivos puros. Posteriormente, se prepararon réplicas en tubos de ensayo con PDA, a las cuales, una vez desarrollados los patógenos se les adicionó aceite mineral y se conservaron en refrigeración aproximadamente a 10°C, para ser utilizadas posteriormente.

Pruebas *in vitro*

Preparación del inóculo. Se prepararon 10 platos petri a partir de un cultivo puro de *C. gloeosporioides* y se incubaron por 25 días a 25°C en oscuridad total; luego se expusieron por 2 días a luz natural para estimular la esporulación. Bajo esas condiciones se obtuvo un desarrollo óptimo de masas de conidios sobre los acérvulos. El inóculo se preparó agregando 5 ml de agua destilada estéril por plato, para luego agitar y remover las estructuras con una barra de vidrio. En la suspensión resultante se cuantificaron las estructuras reproductivas con un hematómetro.

Para la bacteria, se prepararon 5 platos petri de cultivo puro; después de 24 h de incubación, se tomaron 3 muestras con un asa, se colocaron

en 5 ml de agua destilada esteril; que se agitó en un vortex por 30 seg, para obtener una suspensión de 1.6×10^8 UFC/ml; esta concentración se determinó mediante diluciones sucesivas (de 10^1 a 10^8) de la suspensión bacteriana en PDA sin acidificar.

Pruebas de inhibición. Se preparó PDA, acidificado para el hongo y sin acidificar para la bacteria en platos petri. Una vez solidificado el medio, se colocó 0.5 ml de una suspensión de 0.5×10^6 conidios, ó 0.25 ml de una suspensión bacteriana de 1.6×10^8 UFC/ml; los cuales se distribuyeron homogéneamente sobre el medio. En el centro se colocó un círculo de papel filtro Wathman #2, de 2.5 cm de diámetro, impregnado del respectivo extracto (crudo y particiones), luego, los platos fueron colocados en cámara de incubación a oscuridad total y temperatura ambiente durante 20 días para el hongo y 2 días para la bacteria.

Se evaluaron 3 concentraciones (1, 1:10, 1:100) del extracto: agua estéril, más un testigo absoluto (agua) y uno relativo (benomil) para el hongo y cloranfenicol para la bacteria. Por cada tratamiento se establecieron 3 repeticiones. Cuando hubo limitación del crecimiento fungoso o bacteriano, se midió el halo de inhibición, considerando la capacidad máxima de difusión del tratamiento sobre el medio de cultivo a partir de la periferia del círculo de papel Wathman #2, en el cual se impregnó los extractos crudos y las particiones. Se utilizó como punto de comparación el halo de inhibición obtenido por cada testigo químico, con un valor de 100%.

Pruebas *in vivo*. En el Laboratorio de Poscosecha del Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, se aplicaron los extractos promisorios en forma preventiva en el primer experimento y en el segundo en forma curativa. Se seleccionaron frutos de papaya Hawaiana en buen estado fitosanitario y en grado de madurez a 3 pintas. Los frutos fueron pasados por baño maría $49.5^\circ\text{C}/10$ min, para eliminar posibles residuos de productos químicos, estructuras reproductivas de algún patógeno o infecciones latentes.

Pruebas curativas

Para realizar este experimento se seleccionaron 30 frutos por tratamiento, 10 por concentración; a cada uno se le demarcó un área de 5×5 cm en promedio, con silicón, utilizando una pistola eléctrica. Luego se hizo una aspersión de agua destilada, utilizando un aerógrafo, y posteriormente se asperjó 0.2 ml de una suspensión de 250 000 conidios/ml de *C. gloeosporioides* sobre el área seleccionada y se mantuvo húmeda por espacio de 2 h, con aspersiones (periodo determinado como óptimo en pruebas preliminares). Luego, se asperjó una suspensión de 0.20 ml de cada extracto en sus respectivas diluciones; además se utilizó procloraz (1 mg/ml) como tratamiento químico. Los frutos fueron colocados en cajas plásticas a las cuales se les colocó papel periódico impregnado de agua en el fondo, con la finalidad de mantener una alta humedad relativa, cada caja se introdujo en una bolsa plástica. Finalmente, todo el material fue ubicado en una cámara cerrada a temperatura ambiente. Siete días después se evaluó la severidad determinando el porcentaje de tejido enfermo.

Para ambos tipos de pruebas se realizó un análisis de variancia (ANDEVA) y comparaciones ortogonales, además se realizaron transformaciones para los casos donde se necesitaron.

Pruebas preventivas

Para esta prueba también se seleccionaron 30 frutos por tratamiento, 10 por concentración, a cada uno se le demarcó en la parte central un área promedio de 5×5 cm con silicón, utilizando una pistola eléctrica. Luego se les asperjó con 0.2 ml de cada extracto con la respectiva dilución, además del producto químico procloraz (1 mg/ml), utilizando un aerógrafo. Una hora después (período determinado como óptimo en pruebas preliminares) se asperjó 0.2 ml de una suspensión con 250 000 conidios de *C. gloeosporioides* sobre el área demarcada. Los frutos fueron colocados en cajas plásticas con papel periódico impregnado de agua en el fondo, con la finalidad de obtener una alta humedad relativa, y para mantener la humedad se introdujo

cada caja en una bolsa plástica. Finalmente, todo el material fue ubicado en una cámara cerrada a temperatura ambiente. Siete días después se evaluó la severidad, determinando el porcentaje de tejido enfermo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Pruebas de inhibición *in vitro*

En las pruebas de inhibición *in vitro* realizadas para *C. gloeosporioides* y *Pseudomonas* sp, la actividad se centró en la partición realizada con diclorometano. Obteniéndose un 50% de inhibición para ambos patógenos, cuando se empleó una concentración del tratamiento 1:0 igual a 9.6 mg/ml de sólidos totales; seguido por el extracto R-OH, que causó un 25% de inhibición para el hongo y 15% para la bacteria, en una concentración para el tratamiento 1:0 igual a 37 mg/ml de sólidos totales. Al ser comparados con el testigo químico como 100% (procloraz 1 mg/ml y cloranfenicol 5 mg/ml), no se encontró efecto en los tratamientos para las diluciones, ni para los otros extractos que se evaluaron (Cuadro 1).

Pruebas curativa y preventiva *in vitro*

En los Cuadros 2 y 3 se presentan los datos no procesados de las evaluaciones *in vitro*

tras aplicaciones curativas y preventivas, respectivamente.

Prueba curativa *in vivo*

En los datos de las aplicaciones curativas, según el análisis de variancia (ANDEVA), se presentó una alta heterogeneidad entre las variancias, por lo cual se procedió a efectuar la transformación logarítmica para estabilizar la variancia. Se encontró diferencias altamente significativas ($P=0.0001$) entre los tratamientos. Para la variable extracto (R-OH, diclorometano, químico) se encontraron diferencias altamente significativas ($P=0.0151$), igualmente para la variable dilución (1, 1/10, 1/100) ($P=0.0001$), además, de diferencias significativas para la interacción extracto por dilución ($P=0.0518$). También, se encontró un efecto lineal altamente significativo ($P=0.0001$). De los contrastes realizados, diclorometano vs químico no fue significativo ($P=0.1193$). Sin embargo, el contraste R-OH vs diclorometano si fue significativo ($P=0.0136$).

Se hizo la conversión de los datos promedio del Cuadro 2, tomando en consideración el valor expresado por el testigo absoluto, utilizando la fórmula ($26\% \text{ es al } 100\% \text{ como } X \text{ es a } Y$) luego $Y-100\% = \text{promedios totales de la reducción de la severidad de antracnosis}$. El tratamiento R-OH a una concentración 1=37 mg/ml de sólidos

Cuadro 1. Porcentaje de inhibición de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Pseudomonas* sp. evaluados *in vitro* con extractos de *Gliricidia sepium*.

Tratamiento	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>			<i>Pseudomonas</i> sp.		
	Dilución 1:0	Dilución 1:10	Dilución 1:100	Dilución 1:0	Dilución 1:10	Dilución 1:100
R-OH 36.9 mg/ml de sólidos totales Diclorometano	25%	0%	0%	15%	0%	0%
9.6 mg/ml de sólidos totales	50%	0%	0%	50%	0%	0%
Procloraz 1 mg/ml de i.a.	100%	48%	5%			
Cloranfenicol 5 mg/ml de i.a.				100%	55%	15%

Cuadro 2. Promedios de la severidad de antracnosis en frutos de papaya Hawaiana evaluados en poscosecha, mediante aplicaciones curativas con extractos de *Gliricidia sepium*, expresados como porcentajes.

Diluciones	R-OH (37 mg/ml de sólidos)	Diclorometano (10 mg/ml de sólidos)	Químico (1 mg/ml de i.a.)
1 : 0	7	1	4
1 : 10	17	5	25
1 : 100	31	25	59

Nota: El testigo absoluto presentó un 26% de severidad.

lidos totales y el tratamiento diclorometano a una concentración 1=10 mg/ml de sólidos totales, presentaron valores de 73, 33, 18% y 95, 81, y 5% respectivamente según las 3 diluciones (1, 1/10, 1/100 partes de extracto-agua), comparados con el tratamiento químico (procloraz 1 mg/ml de i.a.) con valores de 85, 3 y 0% respectivamente, y de un 0% para el testigo absoluto. La Figura 1, muestra el comportamiento de la reducción en severidad de la antracnosis a las 3 diluciones,

para el ensayo curativo; en la dilución 1, el tratamiento diclorometano D1=10 mg/ml (aproximadamente 0.01 mg/ml i.a.), mostró un mejor control que el tratamiento químico D1=1 mg/ml de i.a., y este superó al tratamiento R-OH D1=37 mg/ml (aproximadamente 0.04 mg/ml de i.a.); en la dilución 1/10 el tratamiento diclorometano fue el mejor seguido por el R-OH y el tratamiento químico. Al diluir el producto químico, la actividad decrece significativamente; en la dilución

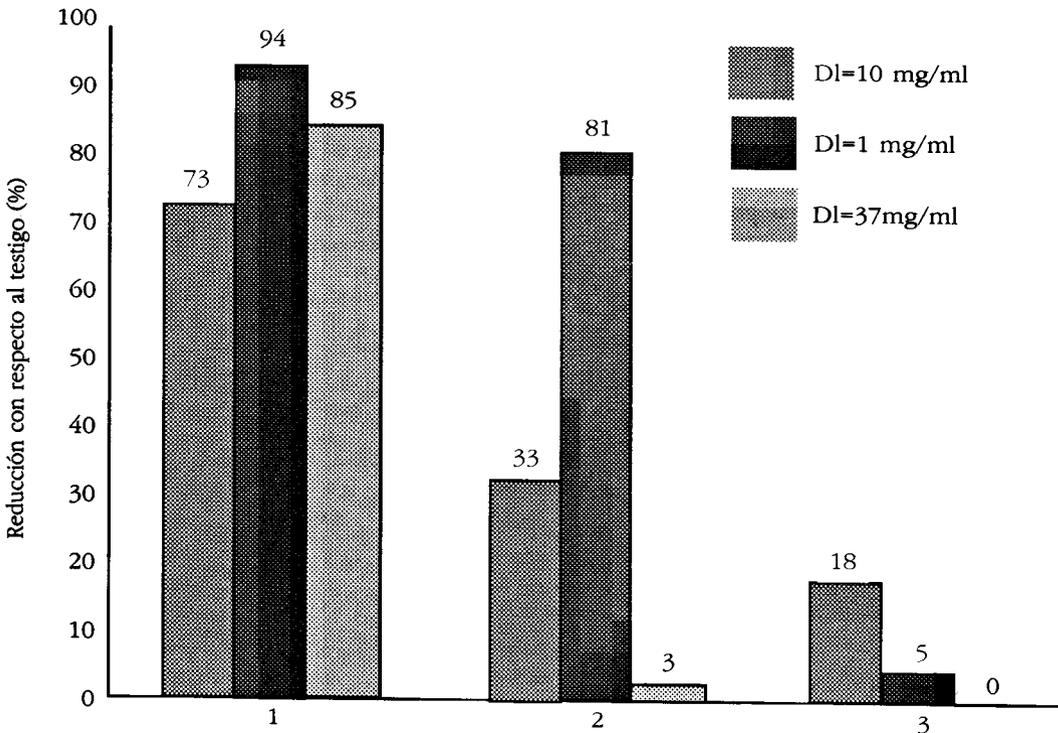


Fig. 1. Reducción de la severidad de antracnosis en frutos de papaya mediante tratamientos curativos.

1/100 el tratamiento R-OH mantiene una mejor actividad seguido por diclorometano y el tratamiento químico.

Prueba preventiva *in vitro*

Para las aplicaciones preventivas (según el ANDEVA) no ameritó ningún tipo de transformación, y se encontraron diferencias altamente significativas ($P=0.0001$) entre los tratamientos (Cuadro 3). Para la variable extracto (R-OH, dicloro-

metano y tratamiento químico) se encontraron diferencias significativas ($P=0.0397$), igualmente para la variable dilución (1, 1/10, 1/100) hubo diferencias altamente significativas ($P=0.4847$); sin embargo, no se encontró diferencias significativas para la interacción entre las variables extracto por dilución. Los contrastes entre R-OH vs el tratamiento químico, diclorometano vs el tratamiento químico y R-OH vs diclorometano, fueron significativos ($P=0.0001$) respectivamente.

La Figura 2 muestra la tendencia en la reducción de la severidad de la antracnosis cuando

Cuadro 3. Promedios de la severidad de antracnosis en frutos de papaya Hawaiana en poscosecha, en aplicaciones preventivas con extractos de *Glicidida sepium*, expresados como porcentaje.

	R-OH (37 mg/ml de sólidos)	Diclorometano (10 mg/ml de sólidos)	Químico (1 mg/ml de i.a.)
Diluciones			
1 : 0	9	7	14
1 : 10	19	17	42
1 : 100	47	30	46

Nota: El testigo absoluto presentó un 60% de severidad.

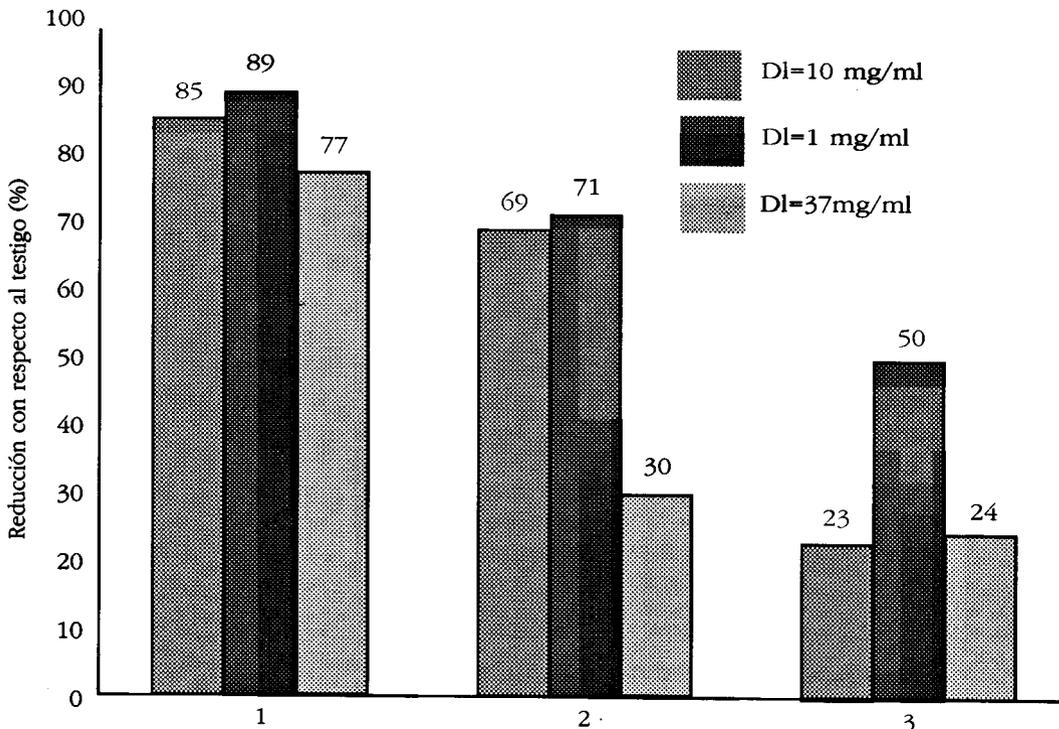


Fig. 2. Reducción de la severidad de antracnosis en frutos de papaya mediante tratamientos preventivos.

se diluyen los tratamientos para el ensayo preventivo. El mayor efecto lo tuvo el tratamiento diclorometano, el cual presentó los mejores porcentajes 89, 71 y 50% respectivamente para las 3 diluciones, seguido por el tratamiento R-OH 85, 69 y 23%; y el químico 77, 50 y 24%, respectivamente. Los datos fueron tratados igual que en el caso de la Figura 1.

CONCLUSIONES

Hay actividad fungicida y bactericida *in vitro* contra el hongo *C. gloeosporioides* y la bacteria *Pseudomonas* sp. en extractos de corteza de la raíz de *G. sepium*.

Hay actividad fungicida *in vivo* en extractos de corteza de la raíz de *G. Sepium*, ya sean aplicados en forma preventiva o curativa, contra la antracnosis en frutos de papaya Hawaiana en poscosecha.

LITERATURA CITADA

- ALAN. E.; BARRANTES, U. 1988. Efecto alelopático de madero negro (*Gliricidia sepium*) en la germinación y crecimiento inicial de algunas malezas tropicales. Turrialba 38(4):271-278.
- ARAUZ, L.F.; CARAZO, E.; MORA, D. 1983. Diagnóstico sobre el uso y manejo de plaguicidas en las fincas hortícolas del Valle Central de Costa Rica. Informe preliminar. Agronomía y Ciencia 1(3):37-49.
- ASTUA, G.; ARAUZ, L. F.; UMAÑA, G. 1993. Sensibilidad reducida de *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de papaya al tiabendazole (TBZ). Memorias II Congreso Nacional de Fitopatología. San José, Costa Rica. p. 24.
- FITZELL, R.D.; PEAK, N. 1984. The epidemiology of anthracnose disease of mango, inoculum sources, spores production, and dispersal. Annals of Applied Biology 104(1):53-59.
- GARCIA, J.E. 1993. Los plaguicidas y el combate de plagas agrícolas en Costa Rica. Agronomía Costarricense 17(1):121-133.
- INOSTROZA, S.I.; FOURNIER, L.A. 1982. Efecto alelopático de *Gliricidia sepium* (Jacq) Steud. Madero negro. Biología Tropical 30(1):35-39.
- LOAIZA, J.E. 1994. Estudio preliminar del efecto fungicida producido por extractos de diez plantas, sobre el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. et Sacc., mediante pruebas *in vitro* y sobre árboles de guanábana (*Annona muricata* L.) en invernadero. Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 49 p.
- NISHIJIMA, T.W. 1977. Proposed list of common names for the diseases of African violets, pelargonium (Geraniums), common house or florist's hydrangea (*Hydrangea macrophylla*), papaya, and coconut palm. Phytopathology News 31(8):108-109.
- RIVERA, G. 1991. Descripción y combate de las principales enfermedades infecciosas de la papaya. In: Fruticultura especial Fascículo 3 Piña y Papaya. San José, Costa Rica.
- SOLANO, V.; ARAUZ, L.F. 1993. Nuevas alternativas para el combate químico de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) del fruto de la papaya (*Carica papaya*). Memorias II Congreso Nacional de Fitopatología. San José, Costa Rica, mayo 1993. p. 24.