

Etiología del anillamiento del pedúnculo de frutos de aguacate (*Persea americana*) var. Hass

María del Carmen Ramírez-Mendoza¹, Rómulo García-Velasco^{1*}, Juan Carlos Reyes-Alemán¹, Gerardo Justino González-Díaz¹ ¹ Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario Tenancingo, México. Carretera Tenancingo-Villa Guerrero Km 1.5, Tenancingo, Estado de México. C. P. 52400.

*Autor de Correspondencia:
Rómulo García Velasco
rgarciave@uaemex.mx

Sección:
Edición periódica

Revisado:
02 Octubre, 2024

Aceptado:
06 Abril, 2025

Publicado:
24 Abril, 2025

Cita:

Ramírez-Mendoza MC, García-Velasco R, Reyes-Alemán JC y González-Díaz JG. 2025. Etiología del anillamiento del pedúnculo de frutos de aguacate (*Persea americana*) var. Hass. Revista Mexicana de Fitopatología 43(2): 66. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2310-3>

RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. En los últimos años se ha manifestado un problema fitopatológico en el cultivo de aguacate cuya etiología es desconocida, dicha enfermedad se conoce como anillamiento de pedúnculo, afecta principalmente a frutos de la variedad “Hass”. El objetivo de la presente investigación fue determinar el agente etiológico involucrado en el desarrollo de la enfermedad.

Materiales y Métodos. Se realizó una colecta de frutos de aguacate con síntomas característicos del anillamiento: pedúnculo de color café y coloración rojiza a púrpura en el pericarpio, las colectas se realizaron en los municipios de Coatepec de Harinas, Donato Guerra y Malinalco Estado de México. En laboratorio se realizó el aislamiento de hongos en medio PDA. Se identificaron tres especies de hongos mediante análisis morfológico, y se confirmó a nivel de ADN por PCR. Se realizaron pruebas de patogenicidad de las tres especies identificadas individuales y en combinaciones. Las variables evaluadas fueron incidencia, severidad, días a manifestación de síntomas y porcentaje de frutos con mesocarpio dañado.

Resultados. Los hongos asociados al daño por anillamiento de pedúnculo en frutos de aguacate var. “Hass” se identificaron como *Alternaria tenuissima*, *Cladosporium cladosporioides* y *Epicoccum nigrum*. *A. tenuissima* mostró su alta capacidad patogénica para inducir el anillamiento de pedúnculo en frutos de aguacate con 100 % de incidencia y 40% de severidad. Es preciso señalar, que los datos de incidencia, severidad y daño en mesocarpio son mayores en los tratamientos cuando actúan de manera independiente *A. tenuissima*, *C. cladosporioides* y *E. nigrum* que en consorcios

Conclusión. Se demostró que *A. tenuissima*, *C. cladosporioides* y *E. nigrum* inoculados independientemente y en consorcios replicaron los síntomas del anillamiento: pedúnculo en frutos de color café y coloración rojiza a púrpura en el pericarpio y la momificación de frutos

Palabras clave: Patogenicidad, Aguacate, Severidad, Etiología



INTRODUCCIÓN

México es el mayor productor de aguacate (*Persea americana*) del mundo con un volumen de 2 973 344.42 t en 2023 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2025) y es líder en la producción de este fruto desde 1961, pues en esa época aportó 15 % de la producción mundial de aguacate y 31 % en 2019 (Díaz, 2021). Los tres principales estados productores de aguacate son Michoacán (1 831 622.33 t), Jalisco (256 002.36 t) y Estado de México (123 446.04 t) (SIAP, 2022). No obstante, este cultivo sufre afecciones por un complejo de problemas fitopatológicos en todas sus etapas de desarrollo, a medida que incrementa la superficie plantada. Entre los más recientes se reporta la caída de frutos, especialmente en la variedad “Hass”. Esta patología se asocia a la enfermedad denominada anillamiento de pedúnculo, que se presenta en una alta incidencia que va desde 5 hasta 100 % de caída de frutos, la cual ocasiona pérdidas económicas considerables al productor; a pesar de ello, es la variedad más sembrada (Valencia y Téliz, 2007); no es una enfermedad que se reporte a nivel mundial, pero para el sector aguacatero de México es de suma importancia.

Los síntomas de esta patología son: formación de un anillo café alrededor del pedúnculo, aproximadamente a 1 cm de la base de este, lo que ocasiona una coloración rojiza a púrpura en el pericarpio; momificación de frutos, y finalmente su caída en los diferentes estadios de desarrollo. Al realizar cortes longitudinales del fruto se observa necrosis en la pulpa, así como cavidades con crecimiento de micelio (Valencia y Téliz, 2007). La alta humedad relativa (80 %) y temperaturas superiores a 26 °C favorecen la aparición de la enfermedad, con mayores daños durante las lluvias, principalmente entre junio y julio. Por esta razón, se conoce como la caída de junio, época que coincide con el desarrollo de frutos de la floración invernal, cuando más carga de frutos tienen los árboles de aguacate (Pineda-Fonseca *et al.*, 2006). Aunque, de acuerdo a García (2023; comunicación personal), la caída de frutos puede llegar hasta 80 % en frutos jóvenes provenientes de la floración loca; por eso, la caída de frutos por anillamiento de pedúnculo no está limitada a una sola estación del año ni a una floración en específico (Ramírez-Mendoza, 2023).

Pese a las altas pérdidas económicas que causa esta enfermedad, hoy continúa con etiología de causa desconocida. Diversos autores la asocian a deficiencias nutrimentales (Finazzo *et al.*, 1994), estrés hídrico (Wolstenholme *et al.*, 1998), competencia por carbohidratos y hormonas (Salazar García *et al.*, 2005), así como a bacterias y hongos fitopatógenos (Valencia y Téliz, 2007). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar la etiología de anillamiento del pedúnculo en frutos de aguacate var. “Hass”, provenientes de tres municipios del Estado de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de muestras. Se colectaron frutos de aguacate “Hass” dirigidos con síntomas iniciales de anillamiento y síntomas en frutos. Se realizó la colecta en tres municipios del Estado de México: Coatepec Harinas (18°57'03.43" N y 99°47'45.72" O a 2 460 msnm), Donato Guerra (19°18'43.18" N y 100°15'16.49" a 2 052 msnm) y Malinalco (18°59'21.74" N y 99°28'48.03" O a 2 085 msnm). Para la colecta se seleccionó una huerta de ocho años de la plantación por municipio. Se cortaron 30 frutos por huerta por

municipio en la última semana de mayo y la primera de junio de 2021. Las muestras se guardaron y transportaron en frío previamente etiquetadas hasta su procesamiento en el laboratorio de Fitopatología del Centro Universitario UAEMex Tenancingo ubicado en las coordenadas (18° 58' 06'' N y 99° 36' 48'' O a 2065 msnm) en, Tenancingo, Estado de México.

Aislamiento. El aislamiento de las colonias fúngicas se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por Trinidad-Ángel *et al.* (2017). El pedúnculo de cada fruto colectado se cortó en trozos de 0.5 cm aproximadamente, desinfectados en una solución de hipoclorito de sodio al 2 % durante un minuto, seguido de tres enjuagues continuos con agua destilada estéril; con papel secante estéril se les retiró el exceso de humedad. Posteriormente, se sembraron cinco trozos de pedúnculo en cada caja de Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA-BD Bioxon) (39 g L⁻¹). En total se sembraron 30 cajas de Petri por municipio, lo que permitió la conformación de 450 siembras; los aislados se mantuvieron en incubación a 25 °C con revisiones cada 24 h. Cuando aparecieron las colonias se hicieron transferencias con un fragmento del medio de cultivo con crecimiento de puntas de hifa del hongo, este se sembró nuevamente a cajas de Petri con medio PDA y se mantuvieron bajo las mismas condiciones de incubación; finalmente, se realizaron cultivos monospóricos a partir de colonias puras según la metodología de Crous *et al.* (2009).

Identificación morfológica. De acuerdo con su crecimiento y características, las colonias procedentes de los cultivos monospóricos se sembraron en medios específicos para su esporulación. *Alternaria* sp. se sembró en medio agar papa zanahoria (PCA) y se colocó en cámara de incubación a temperatura de 25 ± 2 °C, con un fotoperiodo de luz blanca de 17 Watts en periodos de 16 h luz y 8 h de oscuridad de 5 a 7 días. *Cladosporium* sp. y *Epicoccum* sp. se establecieron en placas de Petri con medio PDA, *Cladosporium* sp. no requirió alguna condición especial; sin embargo, a *Epicoccum* sp. se le proporcionó luz blanca continua de 17 W durante 12 días, ambos se mantuvieron a ± 25 °C. Para identificar a nivel de género y especie se registró el crecimiento morfológico: color, forma de crecimiento de la colonia y micelio, esporulación en medios y condiciones específicas. También, se midieron el tamaño de los conidios, por cada género se tomaron 30 de ellos, para medir el largo y ancho con ayuda de un micrómetro ocular bajo microscopio Axiostar plus; del total de los conidios analizados se determinó el promedio. Se utilizaron claves taxonómicas propuestas por Barnett y Huntter (1998) y claves específicas según el género, para *Alternaria* sp., las propuestas por Simmons (2006); para *Epicoccum* sp., las de Aveskamp *et al.* (2010), y *Cladosporium* sp. las de Bensch *et al.* (2012).

Identificación molecular. De cada uno de los hongos identificados de manera morfológica, se usó una colonia para confirmar su identificación mediante análisis genómico. El ADN se extrajo siguiendo la metodología del kit de extracción comercial E.Z.N.A. (Product Manual); es decir, se usaron cultivos monospóricos de siete días de crecimiento. Se verificó la presencia del fragmento de ADN mediante electroforesis en geles de agarosa al 2 %; la tinción se realizó con bromuro de etidio (5 mg L⁻¹) y se documentaron los geles en el fotodocumentador Gel Doc (Bio-Rad, USA). Se obtuvieron secuencias de dos regiones amplificadas por PCR: la ITS (espaciador interno transcrito) ITS4 18S-5.8S (TCCTCCGCTTATTGATATGC) e ITS 5 5.8S-28S (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) (White *et al.*, 1990), las amplificaciones fueron

de 566 pb para el hongo *A. tenuissima*, y para *C. cladosporioides* y *E. nigrum* de 528 pb para cada uno; en la secuencia parcial del gen β -tubulina β -T2a (GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC) y β -T2b (ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGCC) se obtuvieron secuencias de 261 pb para *A. tenuissima*, 347 pb para *C. cladosporioides* y *E. nigrum* con 302 pb. Se amplificaron ambos genes bajo condiciones de PCR con ayuda de un termociclador profesional estándar (Biometra Alemania) en un volumen final de 25 μ L que contenía Buffer a 1X, $MgCl_2$ 0.75 mM, DNTPs 0.2 mM, primers 10 μ M, platinum Taq-DNA polimerasa 1 unidad y 80 ng de ADN. Los ciclos de amplificación fueron los siguientes: un ciclo de 96 °C por 3 minutos, 35 ciclos a 95 °C por 30 segundos, un ciclo a 55 °C por 30 s, un ciclo a 72 °C por 45 s y un ciclo a 72 °C por 4 minutos.

Se secuenciaron los productos amplificados de cada uno de los hongos en ambas direcciones (5'–3' y 3'–5') por el Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A. C. Las secuencias obtenidas se editaron con el programa BioEdit versión 7.0.0. (Hall, 1999), alineándolas con la base de datos GenBank del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, EE. UU.).

Pruebas de patogenicidad. Para el incremento del inóculo, se utilizaron colonias monospóricas de los tres géneros en estudio. *Cladosporium* sp. se cultivó en medio PDA por 10 días, *Epicoccum* sp. en medio PDA por 20 días, mientras que *Alternaria* sp. en medio PCA por 13 días. Todos bajo las condiciones específicas de luz y temperatura anteriormente descritas.

Para obtener el inóculo (conidios) por género de los hongos, se agregó 10 mL de agua destilada estéril a cada caja con crecimiento esporulado, y con el apoyo de una asa micológica-bacteriológica se realizó un raspado a las colonias para provocar el desprendimiento de los conidios; este proceso se repitió sobre las colonias necesarias hasta obtener inóculo suficiente. La suspensión se recuperó con una micropipeta (Boeco®) y se depositó en vasos de precipitado que estuvieron en agitación durante un minuto. Con ayuda de una cámara de Neubauer (Marienfeld®) se contabilizó número de esporas bajo microscopio compuesto (Carl Zeiss®). La determinación de número de esporas se realizó mediante la fórmula propuesta por Troya y Vaca (2014): $C = \text{Esporas contadas en los dos campos} / \text{Superficie recontada mm}^2 \times \text{Profundidad mm} \times \text{Dilución}$. Con los datos se preparó una suspensión de 1×10^5 conidios mL^{-1} , para las pruebas de patogenicidad *in vitro* sobre frutos de aguacate.

Se colectaron frutos de aguacate var. “Hass” en una huerta comercial de Malinalco, Estado de México. Se seleccionaron frutos con pedicelo de apariencia sana de tamaño conocido coloquialmente como “huevo de paloma”; se almacenaron en frío y se trasladaron al laboratorio para la prueba de patogenicidad. Los frutos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2 %, seguido de tres enjuagues con agua destilada estéril. Con papel desecante estéril se eliminó la humedad e inmediatamente, los pedicelos se introdujeron en tubos de agua florales con ventosa de plástico (viales para arreglos florales), los cuales contenían 10 mL de agua destilada estéril.

Los viales insertados con los pedúnculos y frutos se sujetaron sobre bases de domos pasteleros rectangulares y con ayuda de agujas de disección desinfectadas se hicieron heridas a los pedúnculos. Se utilizó un atomizador de 2 oz para aplicar los tratamientos (inoculación de los hongos) mediante aspersión. El proceso de inoculación se llevó a cabo bajo condiciones de asepsia en campana de flujo laminar. La temperatura y humedad relativa se registraron dentro de un domo con un dataloger Hobo®.

El diseño del experimento fue completamente al azar con siete tratamientos, que se conformaron por la presencia de cada hongo de manera individual y en combinación entre ellos: T1= (*Alternaria tenuissima* + *Epicoccum nigrum* + *Cladosporium cladosporioides*), T2 = (*A. tenuissima* + *E. nigrum*), T3 = (*A. tenuissima* + *C. cladosporioides*), T4 = (*E. nigrum* + *C. cladosporioides*), T5 = (*E. nigrum*), T6 = (*A. tenuissima*), T7 (*C. cladosporioides*) más un testigo (agua destilada estéril) = T8. Cada tratamiento constó de 15 repeticiones (frutos), el experimento se mantuvo bajo condiciones de 23 °C y humedad relativa del 86 %. Las variables evaluadas fueron: incidencia, severidad, días a manifestación de síntomas y días a la aparición de signos (micelio) en el mesocarpio de los frutos. La incidencia y severidad se evaluaron cada 24 horas por un periodo de 15 días después de la inoculación, tiempo en el que los frutos empezaron a mostrar deshidratación.

La incidencia se registró al contabilizar el número de frutos en que se replicaron los síntomas típicos del anillamiento, el cálculo se realizó al aplicar la siguiente fórmula: $I = \left(\frac{N \text{ de frutos enfermos}}{N^{\circ} \text{ total de frutos}} \right) * 100$, propuesta por Anculle y Álvarez (2006), donde (I) es el porcentaje de incidencia; *N de frutos enfermos* representa los frutos que enfermaron del total inoculados, mientras que *N° total de frutos* es el total de los frutos inoculados en el tratamiento.

La severidad se evaluó con el apoyo de una escala de clases elaborada por el método arbitrario, bajo el supuesto de que el ojo humano tiene la capacidad de leer tejido enfermo por un porcentaje inferior a 50 % y tejido sano por encima de este valor (Horsfall y Barratt, 1945). Se colectaron frutos con diferentes grados de síntomas de la enfermedad, y también frutos sanos, lo que llevó a crear una escala conformada por seis clases, la cual fue de 0 a 5, donde 0 = fruto sano y 5 = frutos con 100 % de severidad (Figura 1). Con base en esta escala, se evaluó el daño en frutos de aguacate que recibieron los diferentes tratamientos. Los datos obtenidos fueron transformados a porcentaje de severidad mediante la fórmula de Townsed y Heuberger (1943): $P = \left[\frac{\sum (n.v)}{N.C} \right] 100$, donde **P** es el grado de severidad en porcentaje; **n**, número de muestras por categoría; **v** representa el valor numérico de cada categoría; **N** es el número total de muestras, y **C** representa la categoría mayor. La variable días a aparición de síntomas en pedúnculo o fruto se registró cada 24 h a partir de la inoculación por 15 días; en esta última evaluación los frutos se diseccionaron y se evaluó el daño en mesocarpio como 1 = presencia o 0 = ausencia.

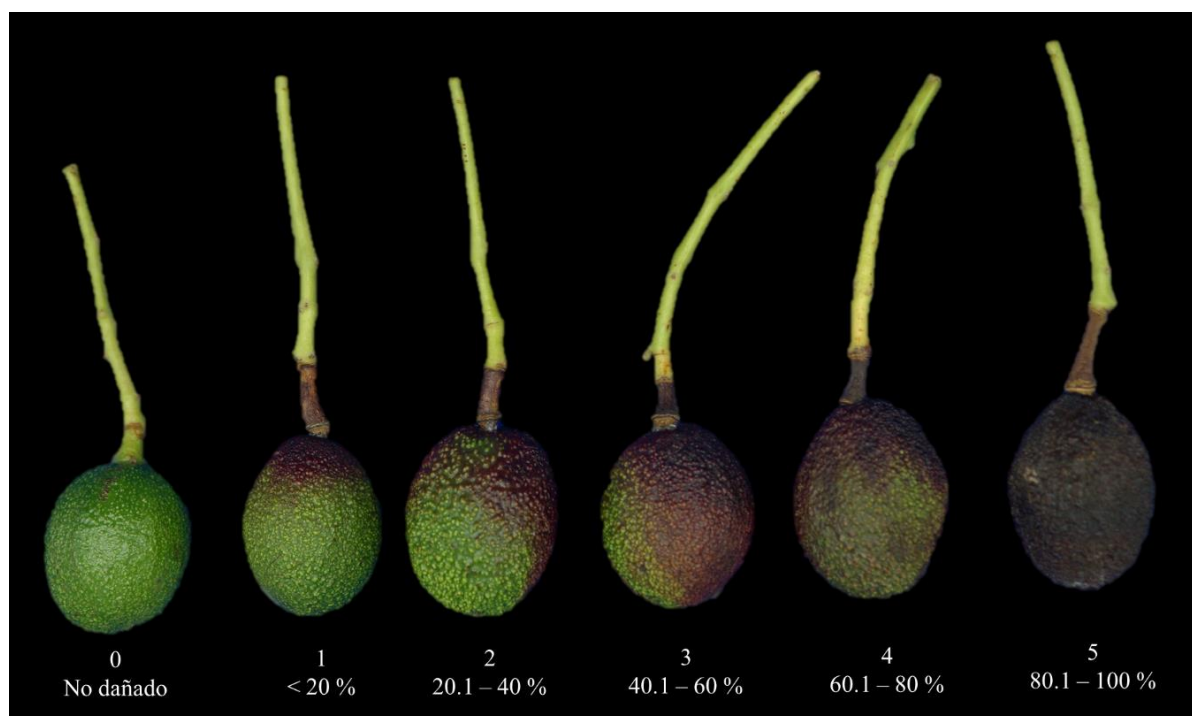


Figura 1. Escala de severidad del anillamiento de pedúnculo en frutos de aguacate var “Hass”, propuesta para medir lesiones en frutos inoculados.

Reaislamiento de hongos inoculados. De los frutos de aguacate que recibieron los diferentes tratamientos (15 por tratamiento), además de los testigos, se tomaron el 50 % por tratamiento para recuperar los hongos inoculados inicialmente; la metodología fue la misma que se aplicó en los aislamientos de los hongos. Se obtuvieron colonias puras en los medios específicos, se registraron sus características morfológicas y culturales y se compararon con los aislamientos inoculados, con lo cual se cumplió con el último paso de los postulados de Koch (López, 2021).

Análisis estadístico. Se transformaron los datos de la variable severidad a Ln y se sometieron a pruebas de normalidad, homocedasticidad e independencia, para finalmente llevarlos al ANOVA y separación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), y DGC ($p \leq 0.05$) para incidencia con el apoyo del paquete estadístico InfoStat versión estudiantil (Di Rienzo *et al.*, 2008).

RESULTADOS

Los síntomas observados en campo fueron inicialmente la presencia de un anillo y mancha de color café en el pedúnculo y en exocarpo una coloración púrpura (Figuras 2A-B), seguido de una apariencia corchosa del pedúnculo, exocarpo del fruto de coloración rojiza a púrpura (Figura 2C). En estado más avanzado se observó un estrangulamiento del pedúnculo y momificación del fruto quedando adherido al árbol o bien se desprendía de este (Figura 2D). Cuando el daño era severo se observaron ramas con frutos mostrando los diferentes estadios de la enfermedad (Figura 2E).



Figura 2. Síntomas típicos del anillamiento de pedúnculo en frutos de aguacate var. “Hass”. A y B) Frutos con anillamiento en el pedúnculo de color café oscuro; C) Pedúnculo corchoso y fruto de color púrpura en el exocarpio; D) Fase final del anillamiento, fruto de aguacate momificado y pedúnculo necrosado; E) Rama con frutos en las diferentes fases del anillamiento.

De las 450 muestras sembradas a partir de 90 frutos de aguacate colectados en los tres municipios, se obtuvieron un total 220 aislados agrupados en ocho géneros de hongos, de los cuales se aislaron en mayor frecuencia *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. y *Epicoccum* sp., con promedio de 35.6, 21.2 y 20.5 %, respectivamente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Frecuencia de hongos aislados a partir de pedúnculos de frutos de aguacate var. “Hass” colectados en huertas comerciales de los municipios de Coatepec Harinas, Donato Guerra y Malinalco, Estado de México, México.

Géneros de hongos	% de colonias aisladas por municipio		
	Coatepec Harinas	Donato Guerra	Malinalco
<i>Alternaria</i> sp.	52.63	27.94	26.31
<i>Epicoccum</i> sp.	18.42	23.52	19.73
<i>Cladosporium</i> sp.	13.15	27.94	22.36
<i>Colletotrichum</i> sp.	6.57	0	0
<i>Rhizopus</i> sp.	5.26	0	3.94
<i>Aspergillus</i> sp.	0	0	7.89
<i>Verticillium</i> sp.	0	1.47	1.31
<i>Pestalotia</i> sp.	0	2.94	1.31
No identificados	3.94	16.17	17.10

Datos registrados de los hongos que aparecieron por cada municipio de colecta indican que *Epicoccum*, *Cladosporium* y *Alternaria* sp. predomina en los tres municipios. Este

último, con mayor frecuencia, con un promedio 52.6 % de aislados en Coatepec Harinas, 27.9 % en Donato Guerra y 26.3 % en Malinalco. *Cladosporium* sp. se obtuvo el 13.1, 27.9 y 22.4 % de aislados, respectivamente; mientras que *Epicoccum* sp. se registró de 18.4, 23.5 y 19.7 % para los municipios de Coatepec Harinas, Donato Guerra y Malinalco, de manera respectiva (Cuadro 1).

Identificación morfométrica. Con base a las características culturales, morfológicas y micrométricas se identificaron tres hongos deuteromicetes.

Alternaria tenuissima. En medio de cultivo PCA (papa zanahoria agar) la colonia creció 5 cm de diámetro entre los 5 y 7 días a 25 ± 2 °C, bajo luz blanca y oscuridad en una alternancia de 16 h luz y 8 h de oscuridad. El crecimiento fue de forma plana y los bordes completos, de coloración verde oliváceo, y conforme maduró se tornó a color negruzco, presentó un par de anillos concéntricos. Las cadenas de conidios fueron de 4 a 13 conidios en medio PCA, donde se observó presencia de conidióforos primarios de crecimiento erecto, los cuales presentaron en promedio 104.6×5 µm de largo x ancho. Los conidios tenían forma muriforme con 4 - 7 transeptos y de 2 - 3 longiseptos, con un tamaño promedio de $15 - 37.5 \times 7.5 - 17.5$ µm de largo x ancho; presentaron un color café claro a café oscuro con ornamentación punteada alrededor de estos (Figuras 3A-C). Con base en las características culturales y morfométricas la especie corresponde a *Alternaria tenuissima* (Simmons, 2007).

Cladosporium cladosporioides. En medio de cultivo PDA la colonia presentó un crecimiento lento entre 11.06 mm mínimo y máximo 23.83 mm de diámetro entre los 18 y 20 días a 22 ± 2 °C. Su crecimiento fue circular con bordes plumosos de color blanco, con una coloración verde olivácea a oscura por la parte frontal, mientras que por el reverso se notó de color negro; la superficie era plana aterciopelada, micelio adherido al medio de cultivo, afelpado o flooso; la esporulación en medio PDA fue abundante (++). Presentó micelio septado de color marrón, conidios catenados en cadenas largas y ramificadas, conidios pequeños de forma subglobosa a ovoide, conidios intercalares de forma elipsoide a ovoide, ocasionalmente subcilíndricos sin septos, de color café oliváceo a marrón, en algunas ocasiones agrupados en ramoconidios, esporas de tamaño micrométrico entre $2.5 - 7.5 \times 2.5 - 5$ µm de largo x ancho, conidióforos cortos y rectos con septos color olivo a marrón en la punta (Figuras 3D-F). De acuerdo con las características morfométricas y culturales la especie encontrada se identificó como *Cladosporium cladosporioides* (Bensch et al., 2012).

Epicoccum nigrum. En medio de cultivo PDA la colonia fue de crecimiento lento, pues alcanzó 2.38 cm de diámetro entre los 12 y 15 días bajo luz blanca continua a temperatura de 22 °C para la formación de conidios y clamidosporas. Bajo microscopio se observaron clamidosporas de color marrón a café oscuro de forma globosa multicelulares de 12.5 a 22.5 µm, micelio septado hialino cuando joven y en su madurez alcanzó una coloración marrón, micelio aéreo escaso, pero de forma copetuda o de mechones en el centro de la colonia de color blanco (Figuras 3G-I). Con base en las características morfométricas y culturales el hongo se identificó como *Epicoccum nigrum* de acuerdo con lo descrito por Aveskamp et al. (2010).

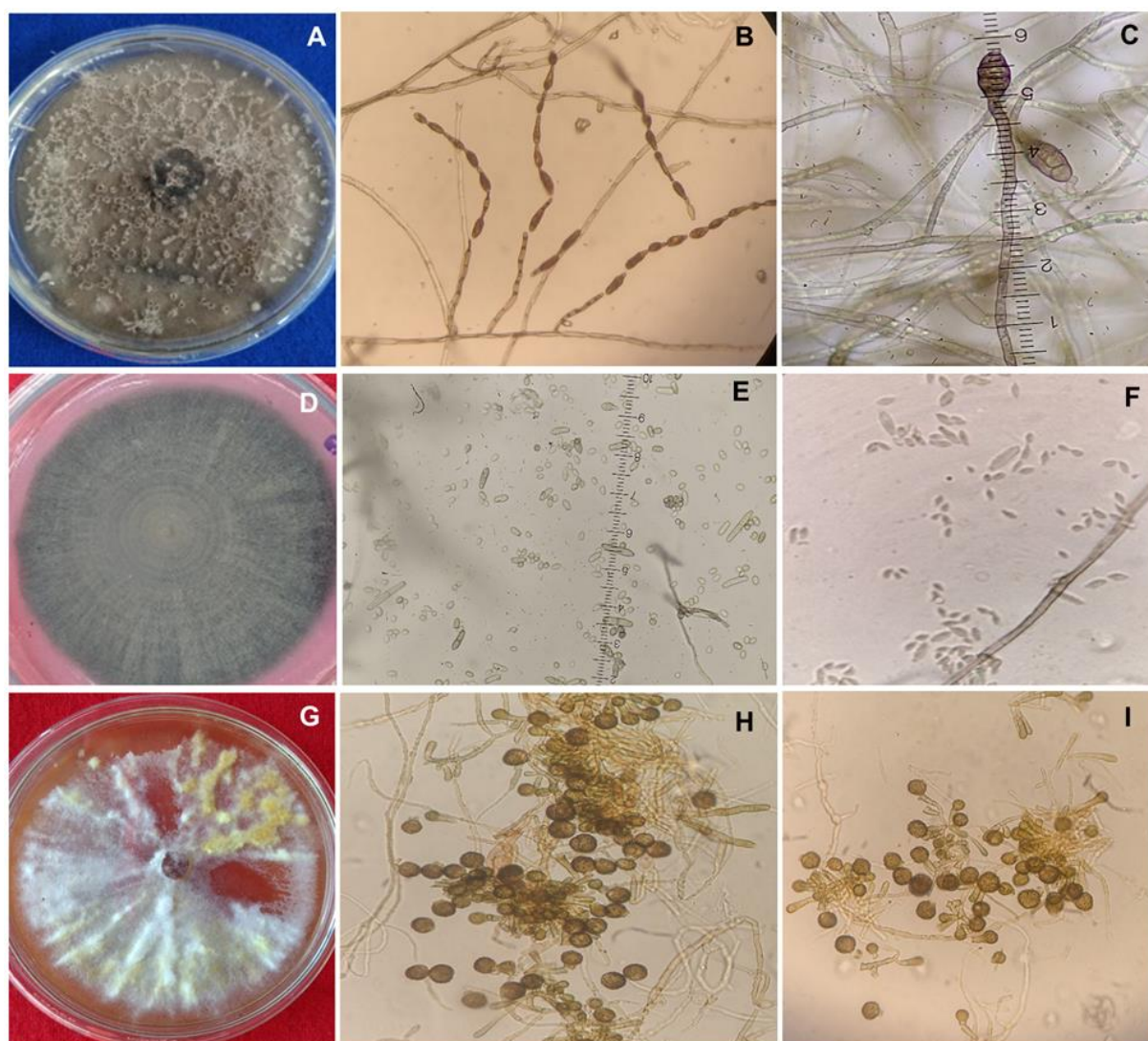


Figura 3. Características culturales y morfométricas de *Alternaria tenuissima*, *C. cladosporioides* y *E. nigrum*. A) Colonia de *A. tenuissima* de crecimiento plano cultivada en medio PCA. B) Conidios en cadena de 4-13 originados de conidióforos primarios de crecimiento erecto. C) Medición de conidios muriformes con reglilla micrométrica. D) Colonia de *C. cladosporioides* con micelio flocoso cultivada en medio PDA, parte frontal. E) Medición de conidios unicelulares. F) Conidios solitarios desprendidos del conidióforo. G) Colonia de *Epicoccum nigrum* de crecimiento plano y desarrollo de micelio algodonoso en medio PDA. H) Formación de clamidosporas multicelulares. I) Micelio septado y clamidosporas globosas de *E. nigrum*.

Identificación mediante la PCR. Los tres géneros de hongos: *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. y *Epicoccum* sp. se analizaron por amplificación PCR. El aislado del género *Alternaria* sp., con las secuencias ITS por alineación múltiple de la porción amplificada se alineó con *Alternaria tenuissima* con la accesión MT573466 (100 % de identidad). De la misma forma, la región amplificada con el gen β -tubulina se alineó con secuencias de *A. tenuissima* con 100 % de índice de identidad correspondiente a la accesión MN445975.

En el aislado de *Epicoccum* sp., se alinearon las secuencias con *Epicoccum nigrum* de la accesión MG602540 (100 % de identidad). Con la región amplificada del gen β -tubulina se alineó también con *E. nigrum* con accesión MK051182 (98 % de identidad).

Para el caso de *Cladosporium* sp., se alinearon con la especie *Cladosporium cladosporioides* de la accesión MT573472 (100 % de identidad). En tanto que la región amplificada del gen β -tubulina se alineó a *C. cladosporioides* con 98.22 % de identidad con la accesión MH780075.

Síntomas en la prueba de patogenicidad. Se replicaron los síntomas en los frutos de aguacate var. “Hass”, inoculados con los hongos sujetos a evaluación, aplicados de forma individual o en sus combinaciones. De manera general, inicialmente se observó en el pedúnculo de los frutos una mancha café, tomando la apariencia corchosa; la lesión fue progresiva hasta llegar al ahorcamiento del pedúnculo, los frutos mostraron manchas rojizas a púrpuras.

En el mesocarpio de los frutos se presentaron manchas de color café a negro, de manera punteada y en forma de anillos alrededor de la pulpa hasta llegar a su descomposición; en algunos frutos se visualizaron cavidades con crecimiento de micelio color blanco (Figuras 4B-C). No se presentaron diferencias marcadas en los síntomas por el efecto de los tratamientos; es decir, no hubo patrón alguno que diferenciara claramente síntomas particulares.

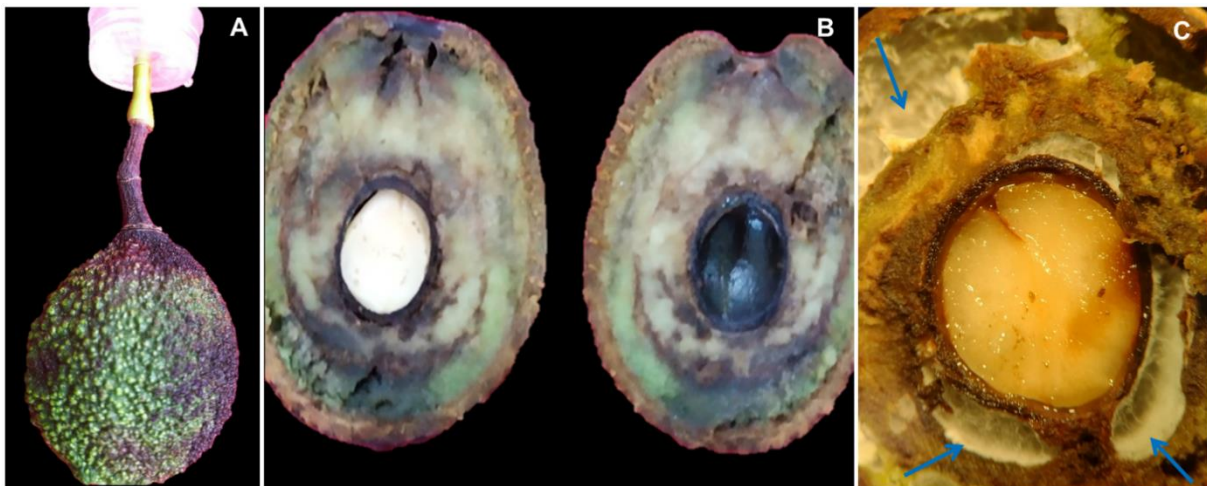


Figura 4. Sintomatología desarrollada en frutos inoculados con *Epicoccum nigrum*. A) Fruto con daño en pedúnculo y coloración púrpura en exocarpio. B) Corte longitudinal en fruto que muestra lesiones de color café a oscuro en el mesocarpio. C) Crecimiento de micelio en las cavidades del mesocarpio del fruto, observado bajo microscopio estereoscópico.

En frutos inoculados con *A. tenuissima* + *E. nigrum* + *C. cladosporioides* (T1) mostraron en los pedúnculos manchas pequeñas de color café, lo que causó su estrangulamiento; en el exocarpio se presentaron manchas rojizas, en el mesocarpio se observó la manifestación irregular de manchas oscuras. Los frutos inoculados con *A. tenuissima* + *E. nigrum* (T2) mostraron pedúnculos con manchas cafés, las cuales causaron posteriormente la momificación de estos; en el exocarpio de los frutos se manifestó una coloración rojiza y descomposición del mesocarpio. El tratamiento con *A. tenuissima* + *C. cladosporioides* (T3) se diferenció por la presencia de manchas de color

café a rojizo en el pedúnculo y pedicelo de los frutos, no se manifestaron síntomas en el exocarpio y en el mesocarpio, solo se registraron puntos negros. En la inoculación de *E. nigrum* + *C. cladosporioides* (T4) los frutos tenían pedúnculos con manchas café, las cuales causaron posteriormente su momificación; en el exocarpio se manifestó una coloración rojiza.

En frutos inoculados de manera individual con los hongos, los síntomas fueron similares; con *E. nigrum* (T5) los síntomas se mostraron mayormente en el mesocarpio de los frutos, donde se advirtieron manchas café y descomposición; en el exocarpio se pudieron ver pequeñas manchas naranjas. La inoculación de *A. tenuissima* (T6) presentó manchas café en pedúnculo y momificación, los frutos exhibieron manchas café y descomposición del mesocarpio. En cuanto al tratamiento con *C. cladosporioides* (T7), en los pedúnculos se apreciaron manchas café y momificación, en los frutos se observó una coloración marrón a rojiza en el exocarpio en el punto de unión con el pedúnculo; en el mesocarpio solo se presentaron manchas café. Con respecto a los frutos que no recibieron tratamiento con los hongos (Testigo) no manifestaron síntomas, por lo que pedúnculos y frutos permanecieron sanos (Figura 5T1-T8).



Figura 5 Síntomas observados en frutos inoculados con los diferentes hongos, en conjunto y de manera independiente: T1) *A. tenuissima* + *E. nigrum* + *C. cladosporioides*. T2) *A. tenuissima* + *E. nigrum*. T3) *A. tenuissima* + *C. cladosporioides*. T4) *E. nigrum* + *C. cladosporioides*. T5) *E. nigrum*. T6) *A. tenuissima*. T7) *C. cladosporioides*. T8) Testigo.

La respuesta de las variables severidad e incidencia, así como los días a aparición de síntomas en los frutos de aguacate var. “Hass”, inoculados con los hongos *A. tenuissima*, *C. cladosporioides* y *E. nigrum* solos y en sus combinaciones se presentan en el (Cuadro 2), donde se observa que la presencia individual o en combinación de los hongos, se conjuntaron en un mismo grupo, lo que genera diferencia estadísticamente significativa

con respecto al testigo (T8), el cual solo recibió agua destilada estéril (Cuadro 2). Aunque no se encontró diferencia estadística entre los tratamientos que recibieron inoculación. La mayor severidad de frutos dañados se registró con el T2, con 50.7 %, lo cual es el efecto de la combinación de *A. tenuissima* + *E. nigrum*; seguido del T7, con 46.7 %, y 40.0 % en el T6 con *C. cladosporioides*. Con respecto al testigo, este registró un porcentaje de 1.3 % de severidad, lo que representa un fruto dañado en la clase 1 (< 20%) de la escala de severidad, esto pudo deberse a que el fruto venía infectado desde campo (Cuadro 2). En lo que respecta a la incidencia, los datos mostraron diferencia estadística significativa entre tratamientos, en donde el mayor porcentaje (100 %) se manifestó donde se inoculó solo *A. tenuissima* (T6), seguido por el resto de tratamientos (T4, T5, T7, T2 y T1) que conformaron un grupo estadísticamente igual; sin embargo, se formó un tercer grupo conformado por *A. tenuissima* y *C. cladosporioides* (T3) y el testigo (T8) (Cuadro 2). Este último tratamiento presentó un fruto con síntomas y, en consecuencia, el mesocarpio dañado, lo que se puede atribuir a que el fruto se infectó en campo.

Los días a manifestación de síntomas después de la inoculación con los tratamientos tan solo transcurrieron entre 4.5 y 6.4 en promedio; es de resaltar que en todos los tratamientos los primeros síntomas se manifestaron a partir del tercer día después de la inoculación de los hongos, para el caso del único fruto que manifestó síntomas en el tratamiento testigo ocurrió al tercer día (Cuadro 2).

Cuadro 2. Incidencia, severidad y tiempo a la aparición de síntomas en frutos de aguacate var. “Hass” inoculados con *A. tenuissima*, *C. cladosporioides*, *E. nigrum* y sus combinaciones.

Trat	Patógenos inoculados	Porcentajes		Tiempo a la manifestación de síntomas		Frutos con daño en mesocarpio %
		Severidad	Incidencia	$\bar{x}$ de días*	Rango en días+	
1	<i>A. tenuissima</i> + <i>E. nigrum</i> + <i>C. cladosporioides</i>	32.0a	53b	6.4	3 - 9	33.3
2	<i>A. tenuissima</i> + <i>E. nigrum</i>	50.7a	60b	5.3	3 - 9	46.7
3	<i>A. tenuissima</i> + <i>C. cladosporioides</i>	25.3a	27c	5.0	3 - 6	26.7
4	<i>E. nigrum</i> + <i>C. cladosporioides</i>	30.7a	80b	4.5	3 - 6	66.7
5	<i>E. nigrum</i>	38.7a	73b	5.5	3 - 12	66.7
6	<i>A. tenuissima</i>	40.0a	100a	7.4	3 - 12	53.3
7	<i>C. cladosporioides</i>	46.7a	73b	4.5	3 - 9	60
8	Testigo	1.3b	6.7c	--	3	6.7

Literales distintas implican diferencia significativa en la prueba Tukey ($p < 0.05$) en severidad y DGC ($p < 0.05$) para incidencia.

*Días promedio a la manifestación de síntomas después de la inoculación con los tratamientos.

+Rango en días se refiere al primero y último día en que se manifestaron los síntomas.

Por otro lado, los datos de la variable frutos con daño en mesocarpio reflejan que los tratamientos que presentaron el mayor porcentaje fueron los que recibieron el efecto de *E. nigrum* + *C. cladosporioides* y solo *E. nigrum*, solo ambos tratamientos registraron 66.7 % de frutos dañados en el mesocarpio, seguidos con 60 % del tratamiento inoculado con *C. cladosporioides*; los tratamientos con menor porcentaje de daño en el mesocarpio fueron *E. nigrum* + *C. cladosporioides* con 26.7 % y *A. tenuissima* + *E. nigrum* + *C. cladosporioides* con 33.3 %.

Reaislamiento de hongos de los frutos inoculados. Se recuperaron los tres hongos inoculados. En total se obtuvieron 115 colonias de *A. tenuissima*, 92 de *E. nigrum* y 65 de *C. cladosporioides*. Todas correspondieron a los hongos y tratamientos inoculados originalmente sobre los pedúnculos y frutos de aguacate var. "Hass", aunque en el testigo se obtuvieron colonias se asume fue contaminación que provenia en los frutos de campo (Cuadro 3). El hongo que se recuperó en mayor frecuencia fue *Alternaria tenuissima* con 43.07 %, seguido de *Epicoccum nigrum* con 34.45 % y finalmente *Cladosporium cladosporioides* (22.38 %).

Cuadro 3. Número de colonias y especies de hongos recuperados de las pruebas de patogenicidad *in vitro* sobre frutos de aguacate var. "Hass".

	Tratamientos	Número de colonias recuperadas por tratamiento		
		<i>A. tenuissima</i>	<i>E. nigrum</i>	<i>C. cladosporioides</i>
1	<i>Alternaria tenuissima</i> + <i>Epicoccum nigrum</i> + <i>Cladosporium cladosporioides</i>	26	15	9
2	<i>Alternaria tenuissima</i> + <i>Epicoccum nigrum</i>	30	16	---
3	<i>Alternaria tenuissima</i> + <i>Cladosporium cladosporioides</i>	20	---	11
4	<i>Epicoccum nigrum</i> + <i>Cladosporium cladosporioides</i>	--	31	21
5	<i>Epicoccum nigrum</i>		30	---
6	<i>Alternaria tenuissima</i>	39	---	---
7	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	---	---	19
8	Testigo	1	2	5

DISCUSIÓN

Los hongos aislados de frutos de aguacate con síntomas del anillamiento corresponden a *Alternaria tenuissima*, *Cladosporium cladosporioides* y *Epicoccum nigrum* identificados morfológica y molecularmente. Las lesiones, síntomas y signos se replicaron en las pruebas de patogenicidad sobre frutos de aguacate var. "Hass": anillamiento de pedúnculo, exocarpio de color rojizo a púrpura, mesocarpio con presencia de manchas cafés a negro y en estado más avanzado en descomposición, donde se

observaron cavidades con crecimiento de micelio blanco que pasaron a la momificación del fruto; lo anterior, indica que estos hongos actúan de forma individual o en consorcios, y fortalece la hipótesis de que se trata de una patología causada por un complejo de hongos. Valencia y Téliz (2007) observaron esta problemática en la producción de aguacate y la relacionaron con *Diplodia* sp., *Alternaria* sp., *Helminthosporium* sp., *Dothiorella* sp., *Colletotrichum* sp., *Pestalotia* sp., *Hyalodendron* sp., *Sthemphyllum* sp., *Penicillium* sp. y *Glomerella* sp., aunque no mencionan pruebas de patogenicidad. Salgado (1993) aisló hongos de tejido con lesiones de anillamiento del pedúnculo en muestras de frutos de aguacate colectadas en el municipio de Coatepec Harinas y reportó la presencia de *Colletotrichum* sp. y *Alternaria* sp., además de *Fusarium* sp. y *Verticillium* sp.; de esta manera, sugiere la presencia de un complejo de hongos involucrados en esta patología; por tanto, propone someterlos a las pruebas de patogenicidad.

Un microorganismo en común se reporta en ambos estudios: *Alternaria* sp. En este estudio *Alternaria tenuissima* fue la especie con mayor frecuencia de aislamiento en cada uno de los municipios de colecta (Cuadro 1); pero además, en las pruebas de patogenicidad de manera individual y en consorcio (T1, T2 y T3) mostró su alta capacidad patogénica para inducir el anillamiento de pedúnculo en frutos de aguacate. *A. tenuissima* por sí misma presentó 100 % de incidencia con una severidad en frutos de 40 %, y daños en el mesocarpio que alcanzó en promedio 53.3 %, esto tan solo en un periodo de 3 a 12 días después de la inoculación (Cuadro 2). Los datos de incidencia, severidad y daño en mesocarpio son mayores en los tratamientos cuando actúan de manera independiente (*Alternaria tenuissima*, *Cladosporium cladosporioides* y *Epicoccum nigrum*) que en asociación con otros hongos (Cuadro 2). Estos valores individuales solo fueron superados por el tratamiento formado por *Epicoccum nigrum* + *Cladosporium cladosporioides* con 80 % de incidencia y 66.7 % de frutos con daño en el mesocarpio. El tiempo a manifestación de síntomas ocurrió entre los tres y 12 días después de la inoculación; un dato evidente es que en los siete tratamientos con los hongos fitopatógenos la manifestación de síntomas inició tres días después de estar en contacto.

La asociación de *A. tenuissima* + *C. cladosporioides* presentó la menor incidencia (27 %) y severidad (25.3 %), así como el daño en mesocarpio (26.7 %) (Cuadro 2). En un estudio encontraron a *C. cladosporioides*, *A. alternata* y *Fusarium chlamydosporum*, como patógenos de la caída y necrosis de frutos de papaya. Estos datos indican que por lo menos dos géneros detectados en este estudio (*Cladosporium cladosporioides* y *Alternaria tenuissima*) tienen antecedentes de provocar la caída de frutos en su estado inicial de desarrollo (Vásquez *et al.*, 2012).

Pérez y Sánchez (2019) reportan a *Cladosporium* como un hongo que puede tener especies tanto saprofitas como oportunistas; estos últimos pueden causar enfermedades al ocurrir una disminución en los mecanismos de defensa de su hospedero; así mismo, se menciona que las especies de *Cladosporium* pueden ser endófitas y al ocurrir desórdenes nutricionales o estrés hídrico en las plantas pasan a ser patógenos. Relacionado con este punto, Zhang *et al.* (2010) señalan la capacidad de plasticidad del género *Cladosporium*, lo que puede explicar en gran medida el fenómeno biológico que ocurre entre el sistema *C. cladosporioides*-Hospedero-Ambiente-Hombre. En este mismo sentido, Sánchez-Fernández *et al.* (2013) mencionan que la relación entre hongos endófitos y planta hospedera puede ser mutualista hasta patogénica, de tal modo que cuando los factores de virulencia del hongo y las defensas de la planta están en equilibrio existe una relación endofítica, y viceversa. Cuando el hospedero se encuentra en situación de estrés se genera un desbalance, donde el hongo se beneficia y actúa como patógeno, por lo que desarrolla

síntomas causando enfermedad en el hospedante. Además, *Cladosporium* tiene la capacidad de liberar enzimas, como celulasas, pectinasas, peptidasas, hemicelulasas, glicosidasas, hidrolasas, glicosiltransferasas, carbohidrato esterasas, polisacárido liasas y xilanasas, mismas que facilitan la entrada del hongo y la degradación de la pared celular del tejido vegetal (Yew *et al.*, 2016).

Por otra parte, se menciona que *Epicoccum nigrum* (synanamorfo de *Phoma epicoccina*) (Aveskamp *et al.*, 2010) es un hongo utilizado en control biológico para el manejo de enfermedades (Taguam *et al.*, 2021). Sin embargo, en esta investigación se demostró que es un hongo patógeno causante del anillamiento de pedúnculo en frutos de aguacate, y que actúa de manera individual o en asociación con *A. tenuissima* y/o *C. cladosporioides* (Cuadro 2).

De acuerdo con Andersen *et al.* (2009), las especies *Epicoccum* sp. son consideradas como patógenos débiles; sin embargo, en frutos de diversas especies infectadas por este patógeno muestran pudrición y un halo color marrón. Lin *et al.* (2015) han reportado a *E. sorghinum* como causante de la hoja retorcida en caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), manchas foliares en el cultivo de col (*Brassica oleracea* var. *capitata*) y en especies sin importancia agrícola. En cultivo de melón (*Cucumis melo*), *E. nigrum* ocasiona necrosis y manchas color marrón en frutos pequeños, y en poscosecha provoca la descomposición de frutos que se caracterizan por presentar coloraciones rojizas (Lin *et al.*, 2018). Esta información es reforzada por Taguam *et al.* (2021), quienes señalan que este patógeno causa la descomposición de frutos en poscosecha, que se manifiesta en síntomas de color rojo.

Hernández *et al.* (2023) mencionan a *Neofusicoccum cryptoaustrale/stellenboschiana* como los causantes de síntomas de muerte regresiva y podredumbre del pedúnculo, aunque no lograron diferenciar quién de los dos los provoca. Por su parte, Dann *et al.* (2021) indican que una de las especies de hongos que más se aíslan de muestreos permanentes en los cultivos de aguacate en Australia son *Alternaria* spp., *Colletotrichum* spp. y *Botryosphaeria* spp., patógenos bien conocidos del aguacate que causan enfermedades poscosecha de la fruta, como antracnosis y pudrición de pedúnculo en fruto.

CONCLUSIONES

Se aislaron 220 colonias de hongos de las muestras de frutos de aguacate var. “Hass” con síntomas del anillamiento de pedúnculo, anillo marcado en el pedúnculo del fruto o con manchas de color café, pedúnculo con apariencia corchosa, frutos con exocarpio de color rojizo a púrpura hasta frutos momificados.

Las tres colonias de hongos que estuvieron presentes para los sitios de colecta en orden de mayor frecuencia fueron *Alternaria tenuissima* 35.6 %, *Epicoccum nigrum* 20.6 % y *Cladosporium cladosporioides* 21.2 %.

Mediante los postulados de Koch, se demostró que estas colonias, inoculadas independientes y en asociación, replicaron los síntomas del anillamiento de pedúnculo en frutos de aguacate var. “Hass”. No se manifestaron síntomas diferenciales entre los hongos inoculados, lo que dificulta su identificación en campo. No se descarta la acción patológica del resto de hongos aislados, así como la intervención de factores de estrés

abiótico, como nutrición, desbalance hormonal, deficiencia de agua, entre otros, por lo que se sugiere seguir con la investigación sobre esta patología.

LIMITACIONES

Las limitaciones a las cuales se enfrentó durante el desarrollo de la investigación fue la falta de información respecto al tema, los trabajos que se han realizado en relación al anillamiento de pedúnculo no reportan pruebas de patogenicidad por lo que no existe evidencia comprobable de que los patógenos aislados en investigaciones anteriores sean los responsables de los daños de anillamiento en pedúnculos de frutos de aguacate.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaramos explícitamente que no existe conflicto de interés en relación con esta investigación.

AGRADECIMIENTOS

Al apoyo económico otorgado por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías, durante el periodo de posgrado.

REFERENCIAS

- Anculle A y Álvarez R. 2006. Evaluación de enfermedades de plantas. www.senasa.gob.pe
- Andersen GL, Frisch AS, Kellog A, Levetin E, Lighthart B and Paterno D. 2009. Aeromicrobiology air quality. *Encyclopedia of Microbiology* 3:11-26. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00166-8>
- Aveskamp MM, de Gruyter J, Woudenberg JHC, Verkley GJM and Crous PW. 2010. Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterise Phoma and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology* 65(1):1-60. <https://doi.org/10.3114/sim.2010.65.01>
- Barnett HL and Hunter BB. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4ª Ed. American Phytopathology Society. Pp. 214.
- Bensch K, Braun U, Groenewald JZ and Crous PW. 2012. The genus *Cladosporium*. *Studies in Mycology* 72:1-401. <https://doi.org/10.3114/sim0003>
- Crous PW, Verkley GJ, Groenewald JZ, and Samson RA. 2009. Fungal biodiversity. CBS. Laboratory Manual Series 1. Centraalbureau voor schimmelcultures, 270.
- Dann E, Prabhakaran A and Bransgrove K. 2021. Panicle and shoot dieback. Avocados Australia. <https://avocado.org.au/public-articles/panicle-and-shoot-dieback/>
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, y Robledo CW. 2008. InfoStat, versión 2008. Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Díaz Castellanos R. 2021. El mercado mundial del aguacate: 60 años de liderazgo de México y su impacto en la próxima década. *The Anahuac Journal* 21(2):12-49. <https://doi.org/10.36105/theanahuacjour.2021v21n2.01>
- FAO. 2025. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Finazzo SF, Davenport TL, and Schafer B. 1994. Partitioning of photoassimilates in avocado (*Persea americana* Mill.) during flowering and fruit set. *Tree Physiology* 14(2):153-164. <https://doi.org/10.1093/treephys/14.2.153>

- Hall T. A. 1999. BioEdit: a user- friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98 NT. Nucleic Acids Symposium Serie 41:95-98.
- Hernández D, García-Pérez O, Perera, González-Carracedo MA, Rodríguez Pérez A and Siverio F. 2023. Fungal Pathogens Associated with Aerial Symptoms of Avocado (*Persea americana* Mill.) in Tenerife (Canary Islands, Spain) Focused on Species of the Family Botryosphaeriaceae. Microorganisms 11(3):585 10.3390/microorganisms11030585
- Horsfall JG and Barratt RW. 1945. An improved grading system for measuring plant diseases. Phytopathology 35:655.
- Lin ZY, Wei JJ, Zhang MQ, Xu SQ, Guo Q, Wang X, Wang J, Chen B, Que Y, Deng Z and Powell RC. 2015. Identification and characterization of a new fungal pathogen causing twisted leaf disease of sugarcane in China. Plant Disease 99(3):325-332. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-06-14-0661-RE>
- Lin S, Taylor NJ and Hand FP. 2018. Identification and characterization of fungal pathogens causing fruit rot of deciduous Holly. Plant Disease 102 (12):2430-2445. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0372-RE>
- López Cornejo CI. 2021. Aislamiento e identificación morfológica y molecular del agente causal de la roña del aguacate (*Persea americana* Mill.) en Michoacán y Jalisco. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Ciencias Biológicas, Michoacán.
- Pérez Ramírez I y Sánchez Espinosa KC. 2019. Physiological aspects of the *Cladosporium* genus from the perspective of its pathogenic, phytopathogenic and biodeteriorant attributes. Revista Cubana de Ciencias Biológicas 7(1):1-10. ISSN:2307-695X.
- Pineda Fonseca MD, Acosta Durán CM, Andrade Rodríguez M, y Guillén Sánchez D. 2006. Control del anillado del pedúnculo del aguacate (*Persea americana* L.) en el oriente del Estado de Morelos. Investigación Agropecuaria, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Cuernavaca, Morelos.
- Product Manual. Omega Bio-Tek. E.Z.N.A. ® Plant and fungal DNA kit. <https://omegabiotek.com/product/e-z-n-a-plant-dna-kit/>
- Ramírez Mendoza M. C. 2023. Etiología del anillamiento de pedúnculo, en frutos de aguacate ‘Hass’ en la zona productora del Estado de México. Tesis de Maestría. Centro Universitario UAEM, Laboratorio de Fitopatología.
- Salazar García S, González Durán IJ, Cossio Vargas LE., Medina Torres R, and Lovatt CJ. 2005. Effect of Foliar applied Plant Bioregulators on “June Fruit Drop”, Yield and Fruit Size of ‘Hass’ Avocado. Acta Hort. 727:197-202. doi:10.17660/ActaHortic.2006.727.21
- Salgado Siclán ML. 1993. Problemas fitosanitarios de aguacate en Coatepec Harinas. Memorias. Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas del Aguacate, en el Estado de México. 191-212.
- Sánchez-Fernández RE, Sánchez-Ortíz BL, Sandoval-Espinoza YK, Ulloa-Benítez Á, Armendáriz-Guillen B, García-Méndez MC y Macías-Rubalcava ML. 2013. Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en la agricultura y medicina. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 16(2): 132-146. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenl.cgi?DARTICULO=46580>
- SIAP. 2022. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/
- Simmons EG. 2006. *Alternaria* an Identification Manual (Vol. 6). Netherlands: CBS Fungal Biodiversity Centre.
- Taguam JD, Evallo E and Balendres MA. 2021. *Epicoccum* species: ubiquitous plant pathogens and effective biological control agents. European Journal Plant Pathology. 159:713-725. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02207-w>
- Townsend GR and Heuberger JW. 1943. *Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments.* Plant Disease Reporter 27(17):340-343. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19451100061>
- Trinidad-Ángel E, Ascencio-Valle FDJ, Ulloa JA, Ramírez-Ramírez JC, Ragazzo-Sánchez JA, Calderón-Santoyo M. 2017. Identificación y caracterización de *Colletotrichum* spp., causante de antracnosis en aguacate de

- Nayarit, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 19:3953-394.
<https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.664>
- Troya C y Vaca Granda L. 2014. Protocolo para la producción de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en laboratorios artesanales. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. Ed. Planta Central MAGAP: 42. <https://www.agricultura.gob.ec/wpcontent/uploads/2016/01/MANUAL-labos-para-web.pdf>
- Valencia Aceves M y Téliz Ortíz D. 2007. Enfermedades del aguacate. En Téliz Ortíz D y Mora Aguilera A. El aguacate y su manejo integrado (2a ed.). Pp. 178. Mundi Prensa.
- Vásquez López A, Hernández Castro E, Mora Aguilera JA, Nava Díaz C, y Sánchez García F. 2012. Etiología y epidemiología de la necrosis de flores y frutos juveniles de Papaya (*Carica papaya* L.) en Guerrero, México. Agrociencia 46(8):757-767. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-3195201200080000&script=sci_arttext
- White TJ, Bruns T, Lee S, and Taylor JW. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, and White TJ. PCR protocols a guide to methods and applications 18 (1): Pp. 315-322
- Wolstenholme BN, Moore Gordon C S, and Cowan AK. 1998. South African Avocado Growers Association Yearbook 21: 26-28
- Yew SM, Chan CL, Ngeow YF, Toh YF, Na SL, Lee KW, Hoh CC, Yee WY, Ng KP and Kuan CS. 2016. Insight into different environmental niches adaptation and allergenicity from the *Cladosporium sphaerospermum* genome, a common human allergy-eliciting Dothidiomycetes. Scientific reports 6 (1): 27008. [10.1038/srep27008](https://doi.org/10.1038/srep27008)
- Zhang ZB, Zeng QG, Yan RM., Wang Y, Zheng RZ y Zhu D. 2010. Endophytic fungus *Cladosporium cladosporioides* LF70 of *Huperzia serrata* produces Huperzina A. World J Microbiology and Biotechnology 27: 479- 486. <https://doi.org/10.1007/s/11274-010-0476-6>