

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT



SISTEMA DE BIBLIOTECAS

**Evaluación de la susceptibilidad a agroquímicos de cepas de  
*Colletotrichum* spp. aisladas de aguacate (*Persea americana* Mill.)  
var. 'Hass' en el estado de Nayarit.**



PRESENTA:  
**ING. EDDY TRINIDAD ÁNGEL**

Tesis presentada como requisito parcial para la obtención del grado de:  
**Maestría en Ciencias en el Área de Ciencias Agrícolas**

TEPIC, NAYARIT, DICIEMBRE DE 2016.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS

CBAP/248/16.

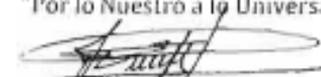
Xalisco, Nayarit; 25 de noviembre de 2016.

ING. ALFREDO GONZÁLEZ JÁUREGUI  
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
P R E S E N T E.

Con base al oficio de fecha 13 de octubre del presente, enviado por los CC. Dr. Pedro Ulises Bautista Rosales, Dr. José Armando Ulloa, Dr. José Carmen Ramírez Ramírez, Dra. Monserrat Calderón Santoyo, Dr. Juan Arturo Ragazzo Sánchez y Dr. Felipe de Jesús Ascencio Valle, donde se indica que el trabajo de tesis cumple con lo establecido en forma y contenido, y debido a que ha finalizado con los demás requisitos que establece nuestra institución, se autoriza al C. Eddy Trinidad Ángel, continúe con los trámites necesarios para la presentación del examen de grado de Maestría en Ciencias Biológico Agropecuarias en el Área de Ciencias Agrícolas.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente  
"Por lo Nuestro a lo Universal"

  
Dr. J. Diego García Paredes  
Coordinador del Posgrado



C.c.p.- Expediente

Smcfm

El proyecto de investigación fue realizado en el **Centro de Tecnología de Alimentos** perteneciente a la Secretaría de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Nayarit (UAN).

Durante el desarrollo de la tesis, se tuvo el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), con número de becario **425368** y del Programa para el Desarrollo Profesional Docente, para el Tipo Superior (**PRODEP**) por el apoyo para el desarrollo del proyecto **PRODEP-SEP23-005**, a través de la convocatoria para la incorporación de nuevos PTC.

## DEDICATORIAS

A Dios

A mis padres

A mis hermanos

A mi familia

A mis amigos

## AGRADECIMIENTOS

**A:**

Dios: Por haberme dado el don de la vida, sabiduría y empuje para la realización de este trabajo de investigación.

Mis padres: Bersain Trinidad Morales y Candelaria J. Ángel Chacón, por ser mi principal ejemplo de vida, mis amigos, las personas a las que les debo absolutamente todo lo que tengo y todo lo que soy, por ser ellos quienes constantemente me han apoyado y me dan voz de aliento para salir adelante en cada uno de mis tropiezos.

Mis hermanos Hugo Alberto, Teresa de Jesús, Samuel y Rosa Elena, por que sin ellos mi vida no sería la misma, por ser mis confidentes, mis consejeros, las personas con las que puedo contar para las que sea.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el gran apoyo recibido durante mi estancia de maestría.

Al Programa para el Desarrollo Profesional Docente, para el Tipo Superior (PRODEP) por el apoyo para el desarrollo del proyecto PRODEP-SEP23-005.

Al Grupo de AGUACATEROS DEL IZOTE SPR DE RL. Por su colaboración y apoyo para poder realizar con éxito este proyecto.

A la M.C. Petra Rosas Ulloa, por ser mi consejera, amiga y una segunda madre para mí, alentándome a continuar con este proceso de maestría, por otorgarme sus conocimientos y consejos en mi formación académica, además de brindarme el apoyo y el servicio del material de laboratorio para poder realizar con éxito esta investigación.

A mi Director Dr. Pedro Ulises Bautista Rosales, por su empeño constante en apoyar mi formación académica, por depositar su confianza en mi trabajo y por contribuir a mi crecimiento personal. Gracias por ser un ejemplo de emprendimiento, perseverancia, positivismo, solidaridad y éxito.

Al Dr. José Armando Ulloa, por su gran apoyo en la realización de la investigación, sus valiosos conocimientos, su amistad y consejos que me permitieron seguir adelante.

A los Doctores: Dr. José Carmen Ramírez, Dra. Montserrat Calderón Santoyo, Dr. Juan Arturo Ragazzo Sánchez y Dr. Felipe de Jesús Ascencio Valle, quienes formaron parte de mi comité tutorial, por enseñanzas y aportes para el desarrollo del trabajo y por formar parte de mi comisión revisora de tesis.

Ai Dr. Diego Garcia Paredes y M.C. Yessica Silva Carrillo, por la confianza y el apoyo que depositaron a mi persona para poder seguir adelante y realizar con éxito este proyecto.

A mi compañera y amiga Q.F.B. Mariel Velázquez Gómez, por ser mi acompañante de las travesías vividas en campo, además por sus consejos, apoyo y valioso tiempo dedicado hacia mi trabajo y a mi persona.

A mi amigo y gran hermano Q.F.B. Fabrizio Bonilla y Familia Bonilla Ibáñez, con quienes compartí la dicha de realizar el presente trabajo, quienes fueron una parte fundamental en mi vida personal como académica; en quienes he encontrado un compañero, amigos y personas de gran corazón, que me han brindado su apoyo incondicional en todo momento.

A I.B.Q. Rubi Alejandra Martínez Camacho y la Sra. Chabelita, por el tiempo colaboración, dedicación y apoyo que me brindaron para poder realizar con éxito esta investigación.

A mis compañeros de Posgrado: Mayte, Rosario, Juan, Polo, Minerva, Alex (Ceviche), Natalia, Georgina y Anahí, por su gran amistad, apoyo en los momentos más difíciles, compartiendo momentos de aprendizaje y distracciones.

A mis compañeros de laboratorio, servicio y prácticas: Abuelita Ross, Abuelito Nono, Tello, Tere, Dudley, Alejandra (China) Brenda, Rafa, Nimcy, Said, Carmen, Graciela, Yesica, Dulce, Arturo, Alejandro, Carlos, Celene, Rolando (El papi), Misael, Ana Patricia, Elena, Rodolfo, por sus consejos, ánimos, apoyos y su gran amistad que recibí durante mi estancia.

A todos mis Compañeros de generación 2014-2015 de la maestría CBAP, a quienes considero mi familia por su compañía y amistad.

A todos los miembros del Posgrado en Ciencias Biológicas Agropecuarias y Pesqueras (CBAP) por el gran apoyo recibido durante mi estancia de maestría.

## CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. OBJETIVOS .....	2
2.1 General .....	2
2.2 Particulares .....	2
3. HIPÓTESIS.....	2
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
4.1 Origen del aguacate .....	3
4.2 Taxonomía del aguacate .....	3
4.3 Características generales del aguacate.....	4
4.4 Producción de aguacate .....	4
4.4.1 Producción mundial .....	4
4.4.2 Producción nacional .....	5
4.4.3 Producción estatal .....	6
4.5 Factores limitantes de la producción de aguacate.....	7
4.6 Plagas y enfermedades .....	8
4.7 Antracnosis ( <i>Colletotrichum</i> spp.).....	10
4.7.1 Síntomas de la antracnosis .....	12
4.7.2 Proceso de infección de <i>Colletotrichum</i> spp.....	12
4.7.3 Ciclo de la enfermedad .....	14
4.7.4 Mecanismo de acción .....	15
4.7.5 Características del género <i>Colletotrichum</i> .....	15
4.7.6 Clasificación taxonómica y morfológica .....	16
4.7.7 Especies de <i>Colletotrichum</i> patógenas del aguacate .....	17
4.8 Medidas de prevención y control de la antracnosis.....	18
4.8.1 Control cultural.....	18
4.8.2 Control químico .....	19
4.8.3 Control Integrado .....	19
4.8.4 Control en poscosecha.....	20
4.8.5 Variedades resistentes .....	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
5.1 Área de colecta .....	21
5.2 Descripción de los sitios de muestreo .....	21

5.2.1 Colecta de fruto .....	21
5.2.2 Aislamiento del patógeno .....	21
5.3 Identificación del patógeno .....	22
5.3.1 Identificación por claves dicotómicas .....	22
5.3.2 Identificación molecular de los hongos fitopatógenos .....	22
5.4 Caracterización de cepas del hongo ( <i>Colletotrichum</i> spp.) .....	23
5.5 Control químico .....	24
5.5.1 Selección de los fungicidas .....	24
5.6 Evaluación de la susceptibilidad <i>in vitro</i> de cepas de <i>Colletotrichum</i> spp. de fungicidas químicos .....	24
5.7 Pruebas de fitopatogenicidad .....	25
5.7.1 Preparación de la suspensión de esporas ( $1 \times 10^5$ esp/mL) .....	25
5.7.2 Inoculación de frutos sanos .....	25
5.7.3 Almacenamiento (incubación) .....	26
5.8 Efecto de los fungicidas sobre la germinación de esporas y tamaño del tubo germinativo de <i>Colletotrichum</i> spp. ....	26
5.9 Análisis estadísticos .....	27
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	28
6.1 Aislamiento del patógeno y la caracterización morfológica .....	28
6.2 Pruebas de fitopatogenicidad .....	30
6.3 Efecto de los fungicidas en las pruebas de patogenicidad .....	34
6.4 Identificación de especies con cebadores específicos .....	35
6.5 Evaluación <i>in vitro</i> de la susceptibilidad de cepas de <i>Colletotrichum</i> spp. a fungicidas químicos .....	36
6.6 Crecimiento del tubo germinativo y tamaño de esporas de <i>Colletotrichum</i> spp. ....	43
6.7 Efecto de los fungicidas en la inhibición de la germinación y crecimiento del tubo germinativo de esporas de <i>Colletotrichum</i> spp. ....	45
6.8 Evaluación de las esporas del <i>Colletotrichum</i> spp. ....	46
7. CONCLUSIONES .....	48
8. BIBLIOGRAFÍA .....	49

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales países productores de aguacate.....	5
Cuadro 2. Producción nacional de aguacate por entidad en 2012.....	6
Cuadro 3. Superficie de producción de aguacate por municipio en el estado de nayarit.....	7
Cuadro 4. Principales plagas del aguacate.....	9
Cuadro 5. Principales enfermedades del aguacate y sitio de afección.....	10
Cuadro 6. Características macroscópicas de las cepas de <i>colletotrichum</i> aisladas de aguacate.....	29
Cuadro 7. Porcentajes de inhibición del crecimiento micelial (PICM) por efecto de los fungicidas químicos.....	37
Cuadro 8. Correlación de pearson (esporas).....	44

## ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1. Arbol de aguacate ‘Hass’ con el primer fruto nacido (a); flor (b); hojas nuevas (c); frutos de aguacate con madurez ( <i>Persea americana</i> Mill) var. “Hass” (d). .....	4
Figura 2. Zona productora de aguacate del estado de Nayarit. ....	6
Figura 3. Acérvulo de <i>Colletotrichum</i> spp. ....	11
Figura 4. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> a) Acérvulos y b) Conidias. ....	11
Figura 5. Signos de antracnosis en el fruto del aguacate. ....	12
Figura 6. Ciclo de vida de <i>Colletotrichum</i> spp. causante de la antracnosis en aguacate. ....	14
Figura 7. Morfología de las esporas de <i>Colletotrichum</i> spp. aislados de frutos del aguacate observado bajo al microscopio, indicando la longitud de las esporas. ....	17
Figura 8. Conidias y apresorios de especies de <i>Colletotrichum</i> de interés fitopatológico. (A) <i>C. coccodes</i> ; (B) <i>C. crassipes</i> ; (C) <i>C. dematium</i> ; (D) <i>C. gloeosporioides</i> ; (E) <i>C. graminicola</i> . ....	17
Figura 9. Variabilidad de cepas de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (ANa-ANm), <i>Colletotrichum hymenocallidis</i> (ANn), <i>Colletotrichum siamense</i> (ANo-ANs) y <i>Colletotrichum tropicale</i> (ANt). ....	30
Figura 10. Cepas de <i>Colletotrichum</i> spp. evaluadas <i>in vivo</i> tanto en crecimiento y susceptibilidad a los fungicidas. ....	31
Figura 11. Daño causado por <i>Colletotrichum</i> spp. en aguacate de la variedad ‘Hass’ durante 10 días de incubación. ....	33
Figura 12. Efectos de fungicidas sobre las cepas de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> AN(a-m), <i>Colletotrichum hymenocallidis</i> AN(n), <i>Colletotrichum siamense</i> AN(o-s) y <i>Colletotrichum tropicale</i> AN(t) inoculadas en el fruto de aguacate. ....	35
Figura 13. Geles de agarosa que visualizan el amplificado de los aislamientos identificados como <i>Colletotrichum</i> spp., con un fragmento de 400 pb. ...	36
Figura 14. Evaluación <i>in vitro</i> de los fungicidas sobre la inhibición de crecimiento del hongo <i>Colletotrichum</i> spp. ....	39

Figura 15. Porcentaje de inhibición del crecimiento de las cepas de <i>Colletotrichum</i> spp. con el fungicida Ultramyl 500 con la dosis recomendada por el fabricante.....	40
Figura 16. Porcentaje de inhibición del crecimiento de las cepas de <i>Colletotrichum</i> spp. con el fungicida Captan con la dosis recomendada por el fabricante.....	41
Figura 17. Porcentaje de inhibición del crecimiento de las cepas de <i>Colletotrichum</i> spp. con el fungicida Kocide 2000 con la dosis al 100%.	42
Figura 18. Desarrollo del tubo germinativo a las 8 horas de 20 cepas de <i>Colletotrichum</i> spp. aisladas del cultivo de aguacate.....	44
Figura 19. Evaluación <i>in vitro</i> de los fungicidas (Control, Ultramyl 500, Captan y Kocide 2000) sobre la inhibición de germinación de esporas y del tubo germinativo del hongo <i>Colletotrichum</i> spp. ....	45
Figura 20. Comparación de longitud promedio ( $\mu\text{m}$ ) de esporas de cepas aisladas de <i>Colletotrichum</i> spp. ....	46
Figura 21. Comparaciones del ancho ( $\mu\text{m}$ ) de esporas de cepas de <i>Colletotrichum</i> spp. ....	47

## RESUMEN

La antracnosis, ocasionada por *Colletotrichum* spp., es una de las principales enfermedades que afecta la calidad del fruto del aguacate. En los últimos años se han reportado dificultades para el control de la antracnosis, por lo que el objetivo de esta investigación fue identificar y caracterizar cepas de *Colletotrichum* spp. como agente causal de antracnosis en el aguacate 'Hass', mediante estudios morfológicos, patogénicos y moleculares a partir de aislamientos provenientes de las principales zonas productoras de aguacate del estado de Nayarit, México y evaluar la susceptibilidad del *Colletotrichum* spp. a tres fungicidas químicos. Se colectaron frutos con síntomas típicos de la enfermedad, de cuatro ejidos pertenecientes a los municipios de Xalisco y Tepic, Nayarit, México. Se obtuvo una colección de 20 cepas aisladas, de las cuales 13 fueron identificados como de *C. gloeosporioides*, 1 *C. hymenocallidis*, 5 *C. siamense* y 1 de *C. tropicale*, siendo la que presenta mayor patogenicidad el *Colletotrichum gloeosporioides*. Además, de aislar cepas del hongo de frutos que presentaban la enfermedad, se evaluó *in vitro* la resistencia a tres fungicidas químicos (Ultramyl 500, Captan y Kocide 2000). Se midió el diámetro de crecimiento a los 10 días de incubación. Se realizó un ANOVA y la prueba de Tukey a un nivel de significancia ( $p < 0.05$ ). De las 20 cepas del patógeno, resaltaron por su resistencia 4 especies de *C. gloeosporioides* y 2 de *C. siamense*, con un porcentaje de inhibición de entre 30 y 50 % con el fungicida Kocide 500, 20 % con Captan y 40 % con Kocide 2000. El fungicida Ultramyl 500 fue el más eficiente en inhibir el crecimiento de las cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum tropicale* en un 100 %. También se evaluaron los tres fungicidas *in vivo*, resaltando el Ultramyl 500 el cual superó ligeramente al resto de los dos fungicidas, obteniéndose un porcentaje de inhibición del 69.27 % de todas las cepas en general en el fruto. En tanto para el Captan inhibió el 67.26 % el avance de la enfermedad presentando poco daño en el mesocarpio del fruto de aguacate, así mismo el Kocide 2000 resultó con alto grado de daño al mesocarpio del aguacate, aminorando la enfermedad con el 65.50 % causado por la antracnosis.

El Captan fue el fungicida con mayores perspectivas en el control del crecimiento del tubo germinativo y desarrollo de la espora con una efectividad promedio de 92.43 %, mientras que el Ultramyl 500 y Kocide 500 fueron los menos eficientes al obtener una efectividad promedio de 69.67 y 65.04 %, respectivamente para el control de estas dos variables.

## ABSTRACT

Anthracnose caused by *Colletotrichum* spp. is one of avocado's principal diseases affecting the quality of its fruit. Difficulties in controlling anthracnosis have been reported in previous years; therefore, the objective of this experiment was to identify and characterize *Colletotrichum* strains on 'Hass' avocados through morphological, pathological, and molecular studies of isolates from the main production zones of the state of Nayarit, Mexico, and to evaluate the susceptibility of *Colletotrichum* spp. to three chemical fungicides. Fruits with typical symptoms of the disease were collected from four communal lands belonging to the municipalities of Xalisco, Tepic, Nayarit, Mexico. A collection of 20 strains was obtained, from which 13 were *C. gloeosporioides*, 1 *C. hymenocallidis*, 5 *C. siamense* y 1 *C. tropicale*, where the most pathogenic is *Colletotrichum gloeosporioides*. Additionally, the fungal strains were isolated from disease presenting fruits, and their *in vitro* resistance to three fungal chemicals (Ultramyl 500, Captan y Kocide 2000) was evaluated. The growth diameter was measured within 10 days of incubation. ANOVA was performed along with a Tukey test with a significance level of ( $p < 0.05$ ). Of the 20 strains of the pathogen that were obtained, four species of *C. gloeosporioides* and two of *C. siamense* are noteworthy for their resistance, with inhibition rates between 30 and 50% using Kocide 500, 20% using Captan, and 40% using Kocide 2000, respectively. Ultramyl 500 was the most effective fungicide in inhibiting the growth of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum tropicale* strains, at a 100% rate. The three fungicides were also evaluated *in vivo*; Ultramyl 500 bested the other two, obtaining an inhibition rate of 69.27% of all strains, in general, on the fruits. Captan inhibited disease progression by 67.26%, resulting in little damage to the mesocarp of the avocado fruit. Likewise, Kocide 2000 resulted in the highest mesocarp damage value, arresting the disease caused by anthracnosis at 65.50%. Captan was the fungicide with the highest prospect in controlling tube germinative growth and spore development with an average effectiveness 92.43% meanwhile Ultramyl 500 and Kocide 2000 were less effective, getting an effectiveness of 69.67 and 65.04%, respectively, with regards to controlling these two variables.

## 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente el aguacate se cultiva en alrededor de 50 países. La producción en el mundo se mantiene por encima de las 2.1 millones de toneladas, de las cuales 1.6 millones se produjeron en América y México es el principal país productor. Este fruto se cultiva en 28 Estados de la República Mexicana; los 10 más importantes, concentran más del 98 % de la superficie cosechada y el 98.2 % de la producción, dichos Estados son: Michoacán, Jalisco, Estado de México, Nayarit, Morelos, Guerrero, Puebla, Oaxaca, Durango y Chiapas (SIAP, 2014). Sin embargo, en todo el mundo y en México la producción de este cultivo está sujeta a grandes pérdidas debido a factores bióticos y abióticos que prevalecen en las zonas de cultivo (Gutiérrez, 2008; Guerrero y Martínez, 2010). En cuanto a las enfermedades de origen biótico, las que afectan directamente al fruto se han convertido en la mayor amenaza del comercio internacional, debido a que la fruta para exportación debe ser de la más alta calidad (Pegg *et al.*, 2007; Guerrero y Martínez, 2010).

Dentro de estas enfermedades se encuentra la antracnosis, ocasionada por el hongo *Colletotrichum* spp., el cual es uno de los principales problemas de pre y poscosecha. La antracnosis es muy difícil de combatir, ya que sus fases iniciales ocurren en el huerto en frutos inmaduros, pero permanece latente en la cutícula de la cáscara hasta que los niveles de epicatequina (compuesto antifúngico presentes en la epidermis del fruto) disminuyen, lo cual ocurre con la maduración del fruto, manifestándose la enfermedad en una forma acelerada. Por tal motivo, las estrategias para el control de esta enfermedad deben realizarse durante toda la fase productiva y durante el proceso de manipulación en poscosecha (Pegg *et al.*, 2007). La importancia económica de esta enfermedad depende de varios factores como son la región donde se cultive, las condiciones ambientales, la variedad sembrada y las prácticas culturales empleadas (Rondón, 1991).

Igualmente, para el control de la enfermedad se han utilizado diferentes métodos siendo el control químico más usado racionalmente y uno de los más eficaces, pero también el uso excesivo de los productos químicos ha provocado que el hongo presente resistencia a este tipo de productos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 General

Evaluar la susceptibilidad a agroquímicos y caracterizar cepas de *Colletotrichum* spp. aisladas de aguacate (*Persea americana* Mill).

### 2.2 Particulares

- Aislar e identificar cepas de *Colletotrichum* spp. presentes en huertos de aguacate del estado de Nayarit.
- Caracterizar morfológicamente las cepas de *Colletotrichum* spp. aisladas de aguacate.
- Determinar la patogenicidad de las cepas de *Colletotrichum* spp. aisladas de aguacate.
- Determinar la susceptibilidad a agroquímicos de cepas de *Colletotrichum* spp. aisladas de aguacate.

## 3. HIPÓTESIS

Las cepas de *Colletotrichum* spp. aisladas de huertos del estado de Nayarit presentarán susceptibilidad a fungicidas químicos utilizados en la región.

## 4. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1 Origen del aguacate

El origen del aguacate de acuerdo a Williams (1977), tuvo lugar en las partes altas del centro y este de México, y partes altas de Guatemala. Esta misma región está incluida en lo que se conoce como Mesoamérica, considerada como el área donde se llevó a cabo la domesticación del mismo. Existe evidencia directa de la domesticación del maíz, calabaza, yuca, algodón, aguacate, camote y agave, en el período clásico Maya, lo cual está sustentado por restos de plantas en el contexto arqueológico y lingüístico que le dan validez a esta lista de cultivos (Turner y Miksicek, 1984).

El aguacate Hass fue obtenido por semilla de una planta guatemalteca en la Habra Heights, California, por Rudolph Hass y patentado en 1935; es la principal variedad comercial en el mundo (Téliz, 2000). Muy desarrollada comercialmente en EEUU y ha sido ampliamente difundida a Israel, Islas Canarias, Sur de España, México y América del Sur; posee 95% de las características de la variedad guatemalteca y solamente 5 % de la variedad mexicana (FHIA, 2008).

### 4.2 Taxonomía del aguacate

El aguacate (*Persea americana* Mill) es un miembro de la antigua y numerosa familia de las Lauráceas, la cual comprende poco más de 50 géneros entre los que se encuentra *Persea*. La familia Lauraceae comprende alrededor de 2,200 especies, estas en su mayoría son tropicales y subtropicales incluyendo al aguacate. Otros miembros sobresalientes de esta familia, son el laurel, la canela y el alcanfor (Sanchez-Perez, 1999). El género *Persea* tiene un número desconocido de especies (Bergh, 1992), aunque algunos autores aseguran que son unas 80 las reconocidas (Zentmyer, 1991). El género está constituido por dos subgéneros, uno de ellos, *Persea* el cual contiene unas pocas especies estrechamente relacionadas entre sí, incluyendo a *P. americana*, el aguacate comercial. El otro subgénero es *Eriodaphne*, bastante numeroso, además algunas especies que tienen una resistencia total a la mayor calamidad del aguacate; la pudrición de la raíz causada por el hongo *Phytophthora cinnamomi* (Bergh, 1992).

#### 4.3 Características generales del aguacate

El árbol de aguacate presenta un crecimiento inicial de lento a moderadamente rápido que depende de la radiación solar; posee una copa achaparrada que es muy productiva en los tercios inferior y medio, es de tronco grueso y con hojas alargadas que terminan en punta y tiene varias ramificaciones las cuales generan un follaje denso. El fruto es oval o periforme, con un peso entre 150 a 300 g, la cáscara es gruesa, resistente al transporte y se remueve con facilidad, su color varía de verde a morado oscuro cuando madura (figura 1). La pulpa tiene excelente sabor y contiene del 18 a 22% de aceite, además de proporcionar hidratos de carbono, vitaminas y minerales. El aguacate Hass culinariamente tiene buena presencia, su mesocarpio o pulpa es de excelente calidad, sin fibras y la semilla es pequeña y esférica adherida al mesocarpio (FHIA, 2008).

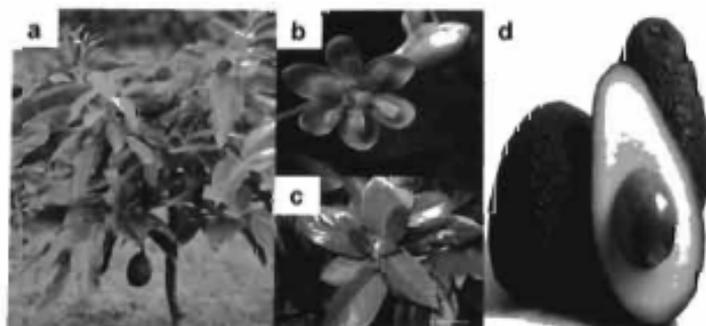


Figura 1. Arbol de aguacate 'Hass' con el primer fruto nacido (a); flor (b); hojas nuevas (c); frutos de aguacate con madurez (*Persea americana* Mill) var. "Hass" (d).

#### 4.4 Producción de aguacate

##### 4.4.1 Producción mundial

Los principales países que cultivan aguacate en orden de importancia son: México, Chile, Indonesia, Estados Unidos, Colombia, Brasil y República Dominicana. En el cuadro 1 se muestran los países productores, así también su producción en ton. y el porcentaje de participación. Cabe destacar que México ocupa el primer lugar a nivel mundial en producción con una participación del 32% y Brasil es el menor aportador con un 4.3% (FAOSTAT, 2012).

**Cuadro 1. Principales países productores de aguacate.**

<b>País</b>	<b>Miles de toneladas</b>	<b>Participación %</b>
México	1,231	32.0
Chile	328	5.2
Estados Unidos	269	6.4
Indonesia	258	6.3
Colombia	184	5.0
Brasil	139	4.3
República Dominicana	184	4.8
Subtotal	2,593	64.0
Otros	1,261	36.0
Total	3,854	100.0

FAOSTAT (2012)

#### **4.4.2 Producción nacional**

En México, 28 entidades federativas cultivan aguacate. A continuación, en el cuadro 2 aparecen los principales estados productores de aguacate, siendo el estado de Michoacán el principal productor que genera el 84.9% del volumen de producción en el país. Otras entidades federativas que también participan en la producción de aguacate son: Jalisco, Morelos, Nayarit, Estado de México y Guerrero, aunque no mayor al 3% del volumen total. La producción de aguacate en 2012 alcanzó 1.3 millones de toneladas y para 2013 se obtuvo una cifra preliminar de 1.5 millones (SIAP- SAGARPA, 2012).

El 96.4% de la producción de aguacate en nuestro país corresponde a la variedad Hass, el 2.7% Criollo, 0.1% Fuerte y el resto no se encuentra clasificado (SIAP- SAGARPA, 2012).

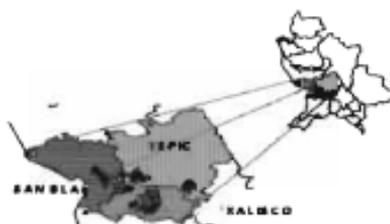
**Cuadro 2.** Producción nacional de aguacate por entidad en 2012.

Estados	Volumen	
	Miles de toneladas	Participación (%)
Michoacán	1,117.3	84.9
Jalisco	40.8	3.1
Morelos	35.5	2.7
Nayarit	29.2	2.2
México	28.8	2.2
Guerrero	14.8	1.1
Resto del país	49.7	3.8
<b>Total, Nacional</b>	<b>1,316.1</b>	<b>100.0</b>

SIAP-SAGARPA (2012).

#### 4.4.3 Producción estatal

La producción estatal de acuerdo a los datos oficiales de SAGARPA durante el año 2012 se muestra en el cuadro 3, donde se aprecia los principales municipios productores de aguacate en el estado de Nayarit, destacando los municipios de Xalisco, Tepic y San Blas; de acuerdo al Consejo Nayarita del Aguacate esta es la zona productora (figura 2). Nayarit tiende a aumentar su participación en la producción anual debido al notable crecimiento de la superficie y la producción ocurre entre los meses de octubre y febrero (SAGARPA, 2012). La superficie que suman los tres municipios mencionados, representan más de un 95% de la superficie total establecida con aguacate en el estado (SIAP-SAGARPA, 2012).



**Figura 2.** Zona productora de aguacate del estado de Nayarit.

**Cuadro 3.** Superficie de producción de aguacate por municipio en el Estado de Nayarit.

Municipio	Superficie de producción 2012 (Ha)	Producción obtenida 2012 (Ton)
Ahuacatlan	4.50	63.00
Amatlan de cañas	2.00	-
Bahía de banderas	8.00	6.30
Compostela	17.00	53.55
Ixtlán del río	10.75	136.64
Jala	80.50	58.00
Ruiz	6.00	36.00
San Blas	542.00	7,126.50
San pedro lagunillas	40.00	-
Santa María del oro	44.96	512.02
Tepic	1,537.00	9,447.00
Xalisco	2,081.00	11,739.00
<b>Total</b>	<b>4,373.70</b>	<b>29,178.00</b>

SIAP-SAGARPA (2012)

#### 4.5 Factores limitantes de la producción de aguacate

Para el buen funcionamiento de los procesos fisiológicos de una planta es necesario conocer su código genético (potencial hereditario) y el medio ambiente (suelo y atmósfera) en que esta se desarrolla (Lira, 2003). Dentro de los principales problemas que enfrenta el aguacate tanto en su producción como en su comercialización, se encuentran las condiciones ambientales en que se han establecido algunos huertos (Guillen *et al.*, 2007), lo que ha ocasionado una mayor incidencia de plagas y/o enfermedades, además de la inadecuada nutrición de la planta, mal manejo del suelo y agua, podas y distancias no apropiadas entre plantaciones; es decir en la mayoría de los casos se carece de un manejo adecuado e integral (Reyes y Aguilar, 2002).

Es común observar en las zonas húmedas del país, frutos que son atacados por enfermedades fungosas y bacterianas, las cuales afectan su valor comercial. Entre las principales enfermedades causadas por hongos destaca la antracnosis, la cual es causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sacc (Rondón *et al.*, 2006). Esta enfermedad es uno de los factores más importantes que limitan la producción de este fruto, abatiéndola hasta un 80% y 90%; dicha patología se reconoce por diversos signos, tales como cuarteaduras, manchas y viruela (Montero *et al.*, 2010).

#### **4.6 Plagas y enfermedades**

El problema que limita la comercialización del aguacate en México es la presencia de plagas reglamentadas que impiden su movilización. Precisamente por la presencia de plagas es que el cultivo del aguacate está regulado y su movilización está sujeta a un estricto control fitosanitario, con base a la norma oficial mexicana del aguacate (NOM-066-FITO-2002).

La sanidad del cultivo del aguacate es un renglón muy importante que debe controlarse, pues generalmente la presencia de insectos o ácaros, hongos, bacterias, virus, malezas, otros, incide en todas las etapas de vida de la plantación; siendo los daños más evidentes en la etapa de madurez fisiológica de los frutos (Bartoli, 2008).

Existen diversas plagas y enfermedades que atacan al aguacate, pero actualmente los productores están centrados en el manejo de aquellas plagas que limitan la exportación, entre las que se encuentran gusanos barrenadores del hueso, ramas y perforador del fruto, trips, arañas. En cuanto a enfermedades del fruto, se encuentran antracnosis, pudriciones del fruto por *Phytophthora* sp. y roña (Sánchez- Colín, 2004). En el cuadro 4 se presentan las principales plagas por las cuales se ve afectado el cultivo del aguacate y en el cuadro 5 muestra las enfermedades que lo atacan; motivo por el cual se ve afectada su comercialización.

**Cuadro 4.** Principales plagas del aguacate.

Plaga	Género o especie	Área de la planta atacada
Trips	<i>Frankliniella spp</i>	Brotes tiernos flores y frutos
Araña roja	<i>Oligonychus punicae</i>	Hojas, retoños, flores y frutos
Araña blanca cristalina	<i>Oligonychus perseae</i>	Hojas y flores
Barrenador de ramas	<i>Copturus aguacatae</i>	Ramas flores y frutos
Perforador del fruto	<i>Stenomoma catenifer</i>	Fruto
Taladrador del tronco	<i>Copturomimus perseae</i> <i>Gunthe</i>	Tronco, ramas y brotes
Barrenador pequeño del hueso	<i>Conotrachelus perseae</i>	Frutos pequeños
Mosca blanca	<i>Tetraleurodes spp</i>	Hojas tiernas
Gusano arrollador de la hoja	<i>Platynota spp</i>	Hojas
Gusano telarañero	<i>Gracilaria perseae</i>	Hojas, frutos y flores
Cochinillas	<i>Fumago spp</i>	Hojas
Agalla	<i>Trioza anceps</i>	Hojas

Fuente: Lavaire (2013).

Dentro de las enfermedades se pueden considerar como biogénicas, las que son transmisibles a árboles o huertos vecinos, o abiogénicas ocasionadas por factores ambientales (Téliz, 2007), ambas afectan la calidad y/o cantidad de cosecha, siendo ejemplo de ellas la roña, la tristeza y las enfermedades de poscosecha (Morales y Gamboa, 2010). Las enfermedades están entre los factores que más limitan la productividad y la longevidad del árbol del aguacate. En general, el establecimiento y diseminación de enfermedades en un huerto de aguacate obedece a un mal manejo del cultivo (Téliz, 2007).

**Cuadro 5.** Principales enfermedades del aguacate y sitio de afección.

Enfermedad	Agente causal	Sitio de afección
Antracnosis	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Hojas, brotes, flores y frutos.
Pudrición de la raíz (marchitez)	<i>Phytophthora cinnamomi rands</i>	Hojas, raíz, ramas, brotes y frutos pequeños
Cancro por <i>Phytophthora</i>	<i>Phytophthora cinnamomi rands</i>	Base del tronco
Pudrición de la raíz por <i>Rosellinia</i>	<i>Rosellinia necatrix</i> <i>Rosellinia bunodes</i>	Raíz, hojas y brotes
Cancro del tallo por <i>Dothiorella</i>	<i>Dothiorella dothidea</i>	Tronco, ramas y brotes nuevos
Marchitamiento por <i>Verticillium</i>	<i>Verticillium dahliae</i>	Ramas jóvenes y tallos
Sarna o roña	<i>Elsinoe perseae</i>	Hojas, tallos y frutos jóvenes

Fuente: Tamayo-Molano (2007); Lavaire (2013).

#### 4.7 Antracnosis (*Colletotrichum* spp.)

La antracnosis es la enfermedad que provoca pérdidas económicas mayores y se presenta año con año en casi todas las huertas de México, en menor o mayor grado, aun en poscosecha, por lo que constituye uno de los factores que limitan la disponibilidad de la fruta para la comercialización (Coria, 2009). Es una de las principales enfermedades que dañan el fruto y se ha convertido en la mayor amenaza del comercio internacional del aguacate (Gutiérrez *et al.*, 2010).

La antracnosis es causada por un hongo del género *Colletotrichum* y su distribución es cosmopolita predominante en regiones tropicales y subtropicales (Xiao *et al.*, 2004). Se han descrito más de 100 especies de *Colletotrichum* (Cannon *et al.*, 2012). En los estados de Morelos y Michoacán sólo se tiene reportado a *Colletotrichum gloeosporioides* como el único agente causal de la antracnosis en aguacate (Coria, 2009).

Morales *et al.* (2009), en un estudio realizado en diferentes zonas agroecológicas de Michoacán, distinguieron diversas variantes de *Colletotrichum gloeosporioides* utilizando los criterios culturales, morfológicos y patogénicos, causando los mismos síntomas en frutos del aguacate. Silva y Ávila (2011) en el estado de Michoacán utilizando técnicas moleculares y análisis filogenéticos reportaron a tres especies de *Colletotrichum* (*C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *C. boninense*) como agentes causales de antracnosis.

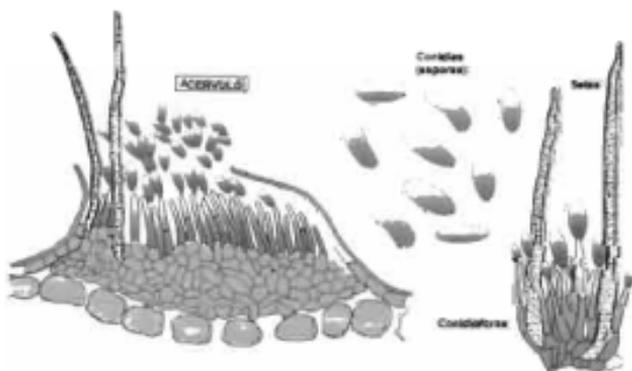


Figura 3. Acérvulo de *Colletotrichum* (Barnett *et al.*, 1998).

El hongo forma micelio blanco-grisáceo que puede variar a verde o negro, las conidias se desarrollan en hifas solitarias y en acérvulos, teniendo la capacidad de producir peritecios de *Glomerella* sp. Las hifas son septadas, los conidios pueden variar en forma y tamaño.

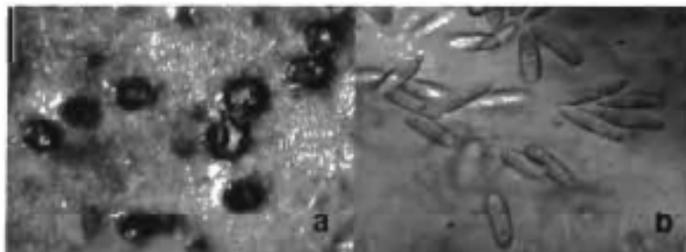


Figura 4. *Colletotrichum gloeosporioides*. a) Acérvulos y b) Conidias (Rosales-Meda, 2007).

#### 4.7.1 Síntomas de la antracnosis

Los síntomas de esta enfermedad pueden aparecer cuando los frutos se han desarrollado, pero con mayor frecuencia cuando se aproximan a la fase de madurez. La antracnosis es común en árboles que se encuentran dañados o debilitados por una fertilización inadecuada, por sequía, bajas temperaturas, por la aspersión, los insectos u otras enfermedades. Las manchas foliares ocasionadas por la antracnosis producen la muerte y deshidratación de los tejidos infectados, produciéndose pequeños acérvulos negros dispuestos en círculos concéntricos en las zonas necrosadas (Agrios, 2005).

La pudrición se inicia como pequeñas zonas de color café claro que se extienden con rapidez, toman la forma de un círculo y se hunden hasta un cierto grado en su parte central. La superficie de las manchas es lisa al principio y puede ser parda oscura a negra hasta que las manchas tengan un diámetro de 1 a 2 cm. A partir de ese momento aparecen numerosas estructuras en forma de cojín de las manchas y algunas de ellas se extienden hacia fuera en dirección del borde de las manchas. En anona, la pudrición también invade el mesocarpio y forma un cono de tejido podrido y un tanto aguanoso que puede o no tener sabor amargo (Agrios, 2005).



Figura 5. Signos de antracnosis en el fruto del aguacate.

#### 4.7.2 Proceso de infección de *Colletotrichum* spp.

El hongo puede infectar entre los 20 y 28 °C, pero su temperatura óptima de crecimiento es de  $27 \pm 1$  °C (Freeman *et al.*, 2002) en ambientes con humedad relativa entre 80 a 100% (Prusky *et al.*, 2001; Talhinhos *et al.*, 2005; Yakoby *et al.*, 2002). El pH óptimo de crecimiento del hongo es de 5.5 a 7 (Droby *et al.*, 2009;

Prusky *et al.*, 2001; Villanueva-Arce *et al.*, 2004). Los conidios de *C. gloeosporioides* se producen dentro de acérvulos, mismos que son la fuente principal de inóculo para el desarrollo y diseminación de la enfermedad (Latunde, 2001). Su dispersión puede ser por aire o salpicaduras de lluvia; al dispersarse los conidios se adhieren al hospedero por medio de una capa mucilaginosa compuesta de polisacáridos y glucoproteínas presente en el acérvulo (Téliz y Mora, 2007), la cual se ha observado en el tubo germinativo y el apresorio de *C. gloeosporioides* cuando infecta al mango (*Mangifera indica* L.) (Ruiz, 2001).

Una vez que el conidio de *C. gloeosporioides* se encuentra en la superficie, éste responde a las ceras epicuticulares del hospedante y al etileno, coincidiendo con la maduración del fruto; para tal efecto la señal del hospedante es el incremento en la producción de etileno en concentraciones internas cercanas a  $0.2 \mu\text{L L}^{-1}$ , requiriendo el contacto del conidio con la superficie por un periodo de 2 h. (Kim *et al.*, 1998, 2000), necesarias para inducir la germinación y formación del apresorio. Como se mencionó, en respuesta al etileno y la capa cerosa de la superficie del aguacate, los conidios al germinar producen un tubo germinativo que se hincha en el ápice para formar una estructura denominada apresorio, el cual se adhiere firmemente a la superficie de la planta. El apresorio maduro es una estructura asimétrica, polarizada, con un domo superior melanizado y una región basal plana que contiene un poro complejo (Latunde-Dada, 2001; O'Connell *et al.*, 1996; Prusky *et al.*, 1996, 2000; Sexton y Howlett, 2006). La resistencia del fruto de aguacate inmaduro, al ataque de *Colletotrichum* se ha asociado con la presencia de compuestos preformados en la cáscara o pericarpio (Podila *et al.*, 1993). Con frecuencia este hongo infecta frutos inmaduros y permanece latente hasta que disminuyen las concentraciones de compuestos antifúngicos a niveles no tóxicos, lo que en aguacate coincide con la maduración del fruto (Prusky, 2000; Wharton y Diéguez, 2004; Yakoby *et al.*, 2001). El pericarpio del aguacate contiene monoenos (1-acetoxi-2,4-dihidroxi-n-heptadeca-16-eno) y dienos (1acetoxi-2-hidroxi-4-oxo-heneicoso-12,16-dieno). Los niveles de estos compuestos disminuyen durante la maduración del fruto y esto permite la susceptibilidad al ataque de hongos (Morrissey y Osbourn, 1999). Se han sugerido cuatro factores que proporcionan resistencia al fruto inmaduro de aguacate al ataque de hongos: escasez de los

nutrimentos requeridos por el patógeno, compuestos antifúngicos preformados, compuestos antifúngicos inducidos y la ausencia de activación que proporcionan los factores de patogenicidad del hongo (Yakoby *et al.*, 2001).

#### 4.7.3 Ciclo de la enfermedad

El ciclo de la antracnosis es similar en la gran gama de plantas a las que ataca (Figura 6). Los conidios una vez establecidos en la superficie del hospedero forman un tubo germinativo corto que una vez transcurrido el tiempo de 12 a 24 h. inicia su diferenciación a apresorio; esta etapa es desencadenada por la síntesis de proteínas específicas en el patógeno inducidas por señalización de la planta hospedera (Agris, 2005). Una vez fijados los conidios del patógeno en el fruto huésped y habiéndose formado el tubo germinativo, se da la maduración del apresorio por inclusión de capas de melanina y síntesis de componentes osmóticos activos (Agris, 2005), produciéndose un poro de penetración, del cual emerge un punto delgado de crecimiento para penetrar la cutícula del hospedero, y como resultado, un punto de luz interior que puede ser identificado en el apresorio (Wharton y Diéguez, 2004).

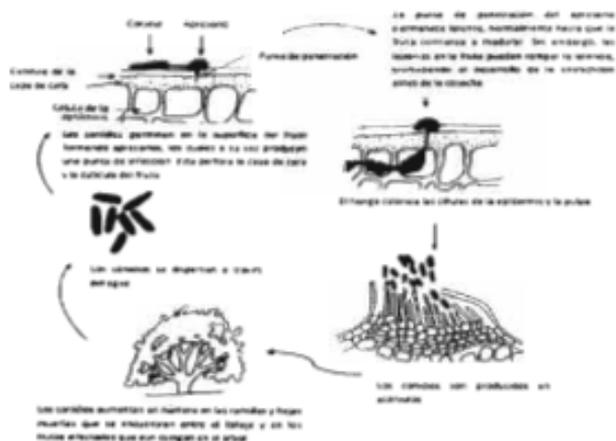


Figura 6. Ciclo de vida de *Colletotrichum* spp. causante de la antracnosis en aguacate (Pegg *et al.*, 2007).

#### 4.7.4 Mecanismo de acción

Las especies de *Colletotrichum* spp. causantes de la antracnosis en diversos cultivos exhiben dos fases principales de nutrición durante la colonización de la planta, las cuales son:

- a) la fase inicial biotrófica: en la cual se obtienen los alimentos de las células vivas huésped, esta es de corta duración y en ésta se asegura el establecimiento del patógeno, sin daños severos en el tejido vegetal.
- b) expresión enzimática: para degradar la pared vegetal está estrictamente limitada durante esta fase, además que la planta hospedera parece no reconocer al patógeno.

En consecuencia, no se desencadena respuesta de defensa y la segunda fase tardía necrotrofica donde los alimentos se obtienen de las células hospederas muertas a causa del ataque del patógeno (Bailey *et al.*, 1992). Esta fase se asocia la aparición de los síntomas de la antracnosis, con una estrecha relación entre dicha aparición de la enfermedad, el incremento en la expresión enzimática para degradar la pared celular vegetal y la virulencia del patógeno.

#### 4.7.5 Características del género *Colletotrichum*

A continuación se describe las características género del *Colletotrichum*: el género *Colletotrichum* forma acérvulo (macizos de hifa) a partir de los cuales se originan unas espinas o setas, septadas, puntiagudas, de color café oscuro, sus conidios son hialinos, elongados, curvados o rectos dependiendo de la especie, sin septas, aunque antes de germinar pueden formar un septo; los conidios son producidos en forma enteroblastica en fialides o conidióforos cilíndricos y hialinos y se agrupan formando masas de coloración salmón o rosa. Su distribución es cosmopolita y con predominancia en los trópicos y subtropicos (Xiao *et al.*, 2004). Este hongo muestra un crecimiento lento *in vitro* (Talhinhas, 2005), las colonias presentan coloraciones de gris claro a gris oscuro, sin embargo, en agar avena el micelio es blanco, poco algodonoso y posee masas conidiales de color naranja (Zamora *et al.*, 2001); en agar papa-dextrosa, agar agua y agar avena pueden observarse la formación de apresorios (Téliz y Mora, 2007), además las dimensiones varían de 4 a 12  $\mu\text{m}$  de

longitud (Sutton, 1980). Los conidios son hialinos, variables en tamaño, de forma cilíndrica y obtusos en el ápice, con medidas de 9 a 24  $\mu\text{m}$  de largo y de 3 a 4.5  $\mu\text{m}$  de ancho (Figura 7) (Cano *et al.*, 2004).

#### 4.7.6 Clasificación taxonómica y morfológica

Los hongos del género *Colletotrichum* que causan la antracnosis del aguacate tienen la siguiente clasificación taxonómica NCBI, 2008 (National Center for Biotechnology Information).

Dominio: Eucariota

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Subphylum: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Subclase: Sordariomycetes incertae sedis

Orden: Phyllachorales

Familia: Phyllachoraceae mitosporicos

Género: *Colletotrichum* (Estado Anamorfo)

*Glomerella* (Estado Teleomorfo)

La antracnosis es causada principalmente por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., que en su forma sexual corresponde a *Glomerella cingulata* (Ston) Spauld & Schrenk. Se caracteriza porque presenta conidias hialinas, unicelulares, ovoides u oblongas, ubicadas en una estructura llamada acérvulo (Figura 8). Estos cuerpos son en forma de disco, cerosos, sub-epidermales y típicamente oscuros. Además de los conidióforos y conidias, presentan setas en el borde del acérvulo y conidióforos (Dickman, 2006). Su distribución es mundial y actualmente el taxón se considera constituido por 39 especies (Sutton, 1992) entre las que se encuentran tanto saprófitas como parásitas. Las especies patógenas causan serias pérdidas en un amplio número de plantas cultivadas entre las que se encuentran frutales, cereales, pastos, leguminosas y cultivos perennes en regiones tropicales y subtropicales. Los síntomas de esta enfermedad son frecuentemente una lesión denominada antracnosis, pudiendo lesionar la mayor parte de la planta (Waller *et al.*, 1993).

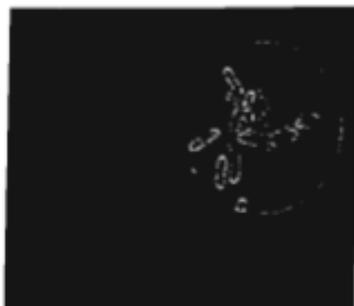


Figura 7. Morfología de las esporas de *Colletotrichum* spp. aislados de frutos del aguacate observado bajo al microscopio, indicando la longitud de las esporas (Siddiqui and Ali, 2014).



Figura 8. Conidias y apresorios de especies de *Colletotrichum* de interés fitopatológico. (A) *C. coccodes*; (B) *C. crassipes*; (C) *C. dematium*; (D) *C. gloeosporioides*; (E) *C. graminicola* (Cano *et al.*, 2004).

#### 4.7.7 Especies de *Colletotrichum* patógenas del aguacate

Actualmente se tiene reportadas como patógenas de este cultivo a las especies *C. gloeosporioides* en todas las zonas productoras de aguacate en el mundo y a *C. acutatum* solo en nueva Zelanda (Hartill, 1991), Australia (Coates *et al.*, 1995) y recientemente en el estado de Michoacán, México (Gutiérrez *et al.*, 2002; Ávila-Quezada, 2007). La confusión entre estas dos especies es muy probable que sea la causa de los escasos reportes en las demás zonas productoras del mundo,

debido a que muchos de los aislamientos de *C. acutatum* se han identificado como *C. gloeosporioides* (Wharthon y Diéguez, 2004). Actualmente para la identificación de estas especies, los investigadores han sumado a los métodos tradicionales basados solo en características morfológicas y de hospederos específicos, el uso de técnicas moleculares mediante iniciadores específicos empleando la técnica de PCR. Además, otra herramienta usada para la separación de estas especies es la sensibilidad a benomilo, la cual muestra mayor sensibilidad a *C. gloeosporioides* que a *C. acutatum* (Freeman *et al.*, 2000)

#### **4.8 Medidas de prevención y control de la antracnosis.**

Las aplicaciones preventivas de agroquímicos desde la época de floración o poco antes de que se inicien las infecciones primarias son la mejor opción para evitar la presencia de enfermedades, sin embargo, esta técnica es poco empleada y prácticamente el control químico se aplica para tratar de controlar las enfermedades una vez que se han establecido. Para tratamientos en forma preventiva se emplean productos basados en cobre (Sulfato tribásico de cobre, Óxido cuproso, Oxiclورو de cobre y Oleato cúprico), todos ellos de buena acción preventiva, pero con un período de actividad muy corto y para tratar de erradicar la enfermedad, así como para el control de estas enfermedades, los productos a base de cobre, al igual que el Captan o Folpet son los más usados (Martínez y Estrada, 1996).

##### **4.8.1 Control cultural**

El control cultural consiste en la eliminación del material enfermo, como ramas, flores, frutos y con ello, evitar una alta densidad poblacional, lo cual pueden conseguirse con aclareos y distintos tipos de podas, no permitiendo el entrecruzamiento de las ramas, para no propiciar las condiciones que favorezcan el desarrollo de la enfermedad. Así mismo, es necesario el control de la humedad relativa a través de los riegos, evitando que estos sean por inundación o de cajete, sustituyéndolos por sistemas de goteo o mini aspersión para evitar la diseminación del patógeno (Scheffer, 2002; Sánchez, *et al.*, 2001)

#### 4.8.2 Control químico

La mayoría de las enfermedades de plantas generalmente se controlan con fungicidas químicos, los cuales se aplican al suelo, semillas, follaje y fruto. La utilización masiva de fungicidas y plaguicidas de amplio espectro, son costosos y trae consecuencias colaterales secundarias, como son el desarrollo de la resistencia de las plagas y/o patógenos, la contaminación ambiental, la presencia residuos tóxicos en el producto cosechado, la aparición de nuevas plagas y/o enfermedades, la eliminación de la entomofauna benéfica, así como la intoxicación del operador (Chacín *et al.*, 2013). Todos estos problemas plantean el reto de desarrollar nuevas alternativas viables y seguras, como la utilización de microorganismos para evitar el empleo excesivo de los productos químicos sintéticos para el control de enfermedades del cultivo de aguacate (Gutiérrez *et al.*, 2013). Los plaguicidas sintéticos han generado beneficios en la producción agrícola; sin embargo, el empleo inadecuado de los mismos, expresado en términos de tipo, toxicidad, número de aplicaciones y dosificación, han producido contaminaciones que afectan al suelo, agua, aire y productos agrícolas, por la acumulación de residuos potencialmente dañinos a la salud humana y de los animales (Dinham y Malik, 2003). Según datos de la organización mundial de la salud, anualmente se intoxican dos millones de personas por exposición directa o indirecta a productos químicos. Los efectos negativos de tales productos químicos en la salud humana son el cáncer, desordenes en el aprendizaje, problemas en el sistema inmunológico, disfunción reproductiva, enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Parkinson, así como problemas en la piel, en membranas mucosas y tracto digestivo (Badii, 2007).

#### 4.8.3 Control Integrado

El manejo integrado del aguacate (MIA) ha sido definido como un conjunto de acciones y decisiones fundamentales en datos sistematizados de la planta, del clima y de los factores que influyen en la productividad y comercialización del fruto. También están considerados como componentes del MIA al huerto en si con todos los factores bióticos y abióticos que interactúan en él, también el factor humano y el sistema de información del huerto. Todos estos factores deben de considerarse

como un conjunto de elementos igualmente importantes. Debe de establecerse en cada huerto un programa y calendarización de actividades, conforme a las condiciones naturales existentes en el huerto, a la fenología del cultivo, prácticas frutícolas realizadas y basándose a la problemática regional detectada (Morales, 2005).

#### 4.8.4 Control en poscosecha

Los tratamientos poscosecha con fungicidas para el control de antracnosis, como el Prochloraz, ha demostrado ser un efectivo para el control de antracnosis en aguacate; dicho fungicida se ha usado extensivamente en Australia, Nueva Zelanda y en Sudáfrica (Ochoa, 2005). Se obtuvo una eficiencia del 90 % de control de la antracnosis en frutos de aguacate durante su almacenamiento, con un tratamiento a base de 2 g de hidróxido de calcio micronizado adicionado con 0.5 g de detergente biológico, haciendo una inmersión de los frutos por 5 min. Se ha probado la eficacia de extractos acuosos de hojas y tallos de varias especies de plantas para el control de *Colletotrichum gloeosporioides* *in vitro* e *in vivo* en papaya y mango, destacando los extractos de hojas de *Citrus limón* y *Persea americana* con una inhibición total *in vitro*. Los extractos de hojas de *Carica papaya* inhibieron completamente las pudriciones en frutos de papaya, mientras que los extractos de hojas de *Dyospiros ebenaster* tuvieron un efecto fungicida adecuado en mango, además los extractos probados no afectan la calidad de la fruta durante su almacenamiento (Bautista *et al.*, 2002). Por otra parte, la aplicación de 2.2 mg/L de ozono por un periodo de contacto de 15 min, inhibió significativamente la germinación de *C. gloeosporioides* en mango, mientras que la aplicación de cloro a 360 mg/L y de yodo a 500 mg/L ofrecen resultados similares al ozono eliminando el 100 % de las esporas del hongo (Barbosa, 2002).

#### 4.8.5 Variedades resistentes

La resistencia al patógeno es quizás el aspecto más significativo del control de la enfermedad en cultivos agrícolas, se ha investigado en un grado inferior para crear plantas más resistentes al patógeno, lo cual es complicado por la capacidad de susceptibilidad de la mayoría de las especies de *Colletotrichum* de formar infecciones latentes (Prusky *et al.*, 2001; Ochoa, 2005).

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Área de colecta

Las colectas se llevaron a cabo en huertos de los ejidos La Yerba, Camichin de Jauja y San Luis de Lozada pertenecientes al municipio de Tepic, el ejido de Xalisco que pertenece al municipio de Xalisco. En cada uno de los huertos indicados anteriormente, se tomaron directamente del árbol frutos de aguacate con los síntomas atribuidos a *Colletotrichum* spp. los cuales se colocaron en bolsas de plástico y se trasladaron al Centro de Tecnología de Alimentos de la UAN. Cada muestra se etiquetó conteniendo los datos: nombres del propietario, fecha de colecta, ubicación y nombre del huerto (Rondón *et al.*, 2006).

### 5.2 Descripción de los sitios de muestreo

#### 5.2.1 Colecta de fruto

Se eligió en campo los frutos, hoja y flor que presentaron signos de antracnosis para asegurar el aislamiento del hongo *Colletotrichum* spp.

#### 5.2.2 Aislamiento del patógeno

Una vez se colectados los frutos de aguacate con signos de antracnosis, se lavaron y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 3 min. Después se lavaron con agua estéril (Santander, 2012) y se les retiró el exceso de humedad con gasas estériles. Enseguida se cortaron trozos de tejido de 1 cm<sup>2</sup> (50% de tejido sano y 50% de tejido enfermo) tomando parte del pericarpio y mesocarpio con un bisturí estéril. La desinfección se realizó con el fin de eliminar la flora saprófita, larvas de mosca, insectos y bacterias, entre otros microorganismos presentes (Arias – Rivas *et al.*, 2006). Posteriormente, con la ayuda de unas pinzas estériles se colocaron 4 trozos de tejido en el centro de la caja Petri con PDA, las cuales se incubaron a temperatura ambiente (aproximadamente a 25°C) durante un periodo de 5-8 días. Una vez observado el crecimiento de microorganismos, se procedió a realizar una purificación de las cepas mediante resiembras sucesivas, para la obtención de colonias con un solo tipo de morfología en cada una de las cajas (Calvente *et al.* 1999; Akgun *et al.* 2001; Rondón *et al.*, 2006).

### **5.3 Identificación del patógeno**

#### **5.3.1 Identificación por claves dicotómicas**

Para la identificación de los hongos fitopatógenos aislados se utilizaron métodos morfológicos tradicionales, tanto de tipo macroscópico (tipo micelio, color y tipo de crecimiento) como microscópico (morfología de conidióforos y morfología de las esporas). Para la identificación microscópica del hongo se preparó un frotis, que consistió en depositar en un portaobjetos una gota de azul de lactofenol, a la que se añadió y mezcló el micelio del hongo con un aza estéril, para enseguida colocar sobre la preparación un cubreobjetos, observarla al microscopio compuesto e identificar sus características morfológicas con el objetivo 40X. Para la identificación del hongo a nivel de género se realizaron microcultivos, los cuales son necesarios para la observación de sus estructuras somáticas y reproductivas. Mediante la técnica de cámara húmeda y/o aislamiento fue posible inducir la aparición de tales estructuras. La observación de las características de las estructuras producidas y el uso de claves dicotómicas fueron necesarias para determinar el género de este tipo de hongos fitopatógenos (Barnett y Hunter, 1998).

#### **5.3.2 Identificación molecular de los hongos fitopatógenos**

Para definir la especie, fue necesario el uso de técnicas moleculares, para lo cual se realizó la extracción de ADN mediante una modificación de la técnica de Sambrook y Russel (2001) como a continuación se describe:

En un tubo Eppendorf estéril se colocaron 500 µL de buffer de lisis, se adicionaron 50 mg de materia fúngica y algunas perlas de vidrio, esto se mezcló durante 2 minutos a máxima velocidad con la ayuda de un vortex. Se agregaron 5 µL de Kitinasa y 4 µL de Proteinasa K y se mezcló de nuevo, posteriormente en reposo se incubó la mezcla obtenida por 24 h a temperatura ambiente (25 °C). Después de la incubación se agregaron 100 µL de NaCl 5M y se mezclaron suavemente, se agregaron 400 a 600 µL de fenol-cloroformo dependiendo del volumen de lisis agregado, nuevamente se mezcló suavemente y se centrifugó por 8 minutos a 13,000 rpm. El sobrenadante se recuperó en un tubo Eppendorf nuevo, se le adicionaron 10 µL de acetato de amonio 5M y luego se mezcló suavemente. Se agregaron 700 µL de isopropanol y después de una suave agitación, se centrifugó

por 10 minutos a 14,000 rpm (el precipitado obtenido corresponde al ADN de la muestra). Una vez eliminado el sobrenadante se adicionaron 500  $\mu$ L de alcohol etílico al 70% con una agitación ligera. En dependencia de la cantidad de ADN obtenido, se diluyó en una solución de agua miliQ o buffer TE (50 – 100  $\mu$ L) a la cual finalmente se agregaron 4  $\mu$ L de RNAsa, para incubarse a 37 °C durante media hora. El buffer de lisis está compuesto por Tritón 100X al 2%, SDS al 1%, NaCl 100 mM, Tris HCl 10 mM con pH 8 y EDTA 1 mM.

La identificación molecular se realizó utilizando la región ITS1 – 5.8S – ITS2 del rDNA mediante los iniciadores ITS1 (5' – TCCGTAGGTGAACCTGCGG – 3') e ITS4 (5' – TCCTCCGCTTATTGATATGC – 3'). Las amplificaciones por PCR se realizaron con un periodo de desnaturalización a 95 °C, seguido de 30 ciclos (los cuales comprendieron una desnaturalización a 95 °C durante 1 min., alineación por 30 s a 50 °C y una extensión de 2 min. a 72 °C) y, con una extensión final de 10 minutos a 72 °C. Los productos de la amplificación fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 1%, se tiñeron con bromuro de etidio (0.2  $\mu$ g/mL), se visualizaron en un transiluminador y se envió a secuenciar (Ochoa *et al.*, 2007).

#### **5.4 Caracterización de cepas del hongo (*Colletotrichum* spp.)**

Se colocaron un disco con crecimiento del patógeno en una caja Petri, posteriormente se incubó durante 7 días a 28 °C. Para la caracterización de las cepas se evaluó el color al frente, al reverso y del centro de la colonia, así como la textura del micelio, forma de la colonia, tamaño y forma de conidios y el diámetro de la colonia. El diámetro de colonia se determinó midiendo con una regla milimétrica, el crecimiento mediante la tasa de crecimiento diario en cm, así como la diferencia del diámetro final menos el diámetro inicial (disco de micelio colocado). Se evaluaron también el largo y ancho de los conidios, los cuales fueron observados en un microscopio compuesto en el campo de 40 X, utilizando una reglilla micrométrica la longitud y el ancho se determinaron en 50 conidios seleccionando al azar de cada uno de los aislamientos. La forma de los conidios se determinó con base en las características indicadas por Sutton (1992).

## 5.5 Control químico

### 5.5.1 Selección de los fungicidas

La selección de los fungicidas químicos para las evaluaciones *in vitro* e *in vivo* se basó en la información obtenida de la revisión de literatura y la proporcionada por los productores que sufren de esta problemática, siendo los siguientes fungicidas:

1. Ultramyl 500 (F1): Estreptomina + Oxitetraciclina + Oxidloruro de C.
2. Coreysan 50 P.H. Captan (F2): N-triclorometilto-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida.
3. Kocide 2000 (F3): Hidróxido cúprico.

### 5.6 Evaluación de la susceptibilidad *in vitro* de cepas de *Colletotrichum spp.* de fungicidas químicos

Se prepararon soluciones de los 3 fungicidas a evaluar (Ultramyl 500= 0.635 g/l, Captan= 2.25 g/l e hidróxido cúprico= 0.5 g/l) a la concentración de la dosis recomendada por el fabricante. Se le añadieron 500 µl de la concentración del fungicida a cajas Petri con PDA (Papa Dextrosa Agar), extendiéndoles en la superficie del agar con un aza de vidrio estéril y después se dejó reposar para que esta sea absorbida por el agar (método de alimento envenenado). Luego se tomaron cepas de *Colletotrichum spp.* de 3 a 8 días del aislamiento, extrayendo discos de 5 mm de diámetro con la ayuda de unas pinzas estériles los cuales se sembraron en el centro de las cajas Petri que contenían PDA (Papa Dextrosa Agar) más el fungicida, para enseguida incubarse a temperatura ambiente de 25 °C por 7 días, para evaluar la eficiencia de los tratamientos de acuerdo al crecimiento radial después de la incubación; además se empleó un testigo experimental que corresponde a la siembra del hongo en medio de cultivo PDA sin fungicidas. Con los valores del diámetro se procedió a determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC), mediante la fórmula siguiente (Julca-Otiniano *et al.*, 2005; Rondón *et al.*, 2006; Shovan *et al.*, 2008; Gaviria-Hernández *et al.*, 2013):

$$\text{PIC} = \frac{\text{Crecimiento Testigo} - \text{Crecimiento Tratamiento}}{\text{Crecimiento Testigo}} \times 100$$

## 5.7 Pruebas de fitopatogenicidad

Una vez que fueron aislados los hongos del aguacate, se llevaron a cabo pruebas para determinar cuáles cepas fueron capaces de generar síntomas de enfermedad en el fruto y así comprobar la capacidad patogénica de los mismos (Benbow y Sugar 1999).

### 5.7.1 Preparación de la suspensión de esporas ( $1 \times 10^5$ esp/mL)

Se tomaron varias asadas de micelio de las cepas obtenidas en el aislamiento de hongos y se suspendieron en 10 ml de agua destilada estéril, para enseguida filtrarse y ajustarse a una concentración de  $1 \times 10^5$  esp/mL. La determinación del número de esporas en la suspensión se realizó con ayuda de una cámara de Neubauer, en la que se colocó la suspensión filtrada efectuó el recuento. Para estimar el número total de células en la suspensión se utilizó la siguiente ecuación (Sariah 1994):

$$\text{Número de esporas} = \frac{(\sum \text{de esporas contadas}) (10,000)}{\text{ml}}$$

Para el ajuste de las suspensiones a una concentración de  $1 \times 10^5$  esporas por mililitro, se utilizó la ecuación:

$$C1V1 = C2V2$$

### 5.7.2 Inoculación de frutos sanos

Los aguacates libres de antracnosis se lavaron y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 3 min, para enseguida realizar un lavado con agua destilada estéril y secado en condiciones de asepsia en una cámara de aislamiento de flujo laminar. A continuación, se realizaron 2 heridas por fruto con un punzón que permitió generar cavidades de 4 mm de diámetro por 3 mm de profundidad en diferentes zonas, a las que se les agregaron 25  $\mu$ l de la suspensión de esporas de hongos ( $1 \times 10^5$  esp/mL). Posteriormente se dejó reposar los frutos durante 1 h y transcurrido el tiempo se aplicaron los tratamientos correspondientes. Como testigo se utilizaron frutos que fueron tratados únicamente con agua destilada estéril (Bautista, 2013). Para cada bioensayo se incubaron 5 frutos por tratamiento,

en cajas en presencia de humedad, y se almacenaron durante 10 días, de observar y medir el diámetro de la lesión producida por el patógeno.

### 5.7.3 Almacenamiento (incubación)

Los aguacates inoculados se colocaron en una cámara húmeda, la cual favoreció el desarrollo de los hongos fitopatógenos. Se efectuaron revisiones diarias para detectar de forma oportuna la aparición de los signos de la enfermedad, mismos que se compararon con los primeros signos observados en el aislamiento de hongos fitopatógenos (Benbow y Sugar 1999).

### 5.8 Efecto de los fungicidas sobre la germinación de esporas y tamaño del tubo germinativo de *Colletotrichum* spp.

Para determinar el efecto sobre la germinación y crecimiento del tubo germinativo de esporas de *Colletotrichum*, se preparó una suspensión de esporas de *Colletotrichum* a una concentración de  $1 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ . Luego se preparó PDA (Papa Dextrosa Agar) para posteriormente hacer cortes  $1 \text{ cm}^2$  pero muy finos y depositarlos en los dos extremos del portaobjetos (dos cuadros de  $1 \times 1 \text{ cm}$  de PDA). También se prepararon los tres fungicidas con una concentración al 100% recomendada por el fabricante con la finalidad de conocer la inhibición del tubo germinativo.

Como control se utilizó agua destilada estéril. Cada tratamiento se realizó por triplicado, considerándose una repetición un portaobjeto. Se incubaron en oscuridad a aproximadamente  $21^\circ\text{C}$  durante 8 h. Cumplido este período se determinó sobre un total de 30 esporas la cantidad de esporas germinados, midiéndose en estos el largo del tubo germinativo mediante el programa Motic Images Plus 2.0 (Julca-Otiniano *et al.*, 2005).

### 5.9 Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos de la evaluación *in vitro* de cepas de *Colletotrichum* spp. a la resistencia de fungicidas químicos se analizaron mediante ANOVA para un diseño factorial 20x4 (20 cepas por 3 fungicidas y 1 control por tratamiento); realizando cada tratamiento por triplicado. La prueba de patogenicidad fue evaluada de la misma manera con un diseño factorial 20x4 (20 cepas evaluadas y tres fungicidas más un control con 10 réplicas por tratamientos). La comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey ( $P= 0.05$ ). Además, los datos obtenidos de la caracterización de cepas del hongo (Tamaño del conidio= Largo x Ancho) y tubo germinativo se sometieron a un análisis de varianza y comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey a un nivel de significancia de 0.05, usando el paquete estadístico Statistic Analysis System (SAS, 2009) versión 9.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Aislamiento del patógeno y la caracterización morfológica

Se aislaron un total de 86 cepas de hongos, encontrando 20 cepas de *Colletotrichum* spp., las cuales fueron identificadas como *C. gloeosporioides* (13 cepas), *C. hymenocallidis* (1 cepa), *C. siamense* (5 cepas) y *C. tropicale* (1 cepa). De dichas cepas, la especie *C. gloeosporioides* ha sido reportada en diferentes cultivos como papaya (*Carica papaya* L.), variedades de cítricos, aguacate (*Persea americana* Mill), café (*Coffea arabica* L.), mango (*Mangifera indica* L.), uva (*Vitis vinifera* L.), guanábana (*Annona muricata* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum*) y fresa (*Fragaria vesca*) (Beltrán y García, 2006). Así como también se han encontrado reportes de diversos cultivos que han sido afectados con *C. tropicale* como son guanábana (*Annona muricata* L.), mango (*Mangifera indica* L.) y aguacate (*Persea americana* Mill.) entre otros (Rojas *et al.*, 2010). Sin embargo, el resto de las especies no han sido reportadas para el aguacate (*Persea americana* Mill.), como es el caso del *C. hymenocallidis* que principalmente se ha encontrado en lirio araña (*Hymenocallis littoralis*) y algunos casos en chile (*Capsicum annuum* L.) y tomate (*Lycopersicon esculentum*) (Yang *et al.*, 2009). Por otra parte, del *C. siamense* no se cuenta con información de que provoca daño al aguacate (*Persea americana* Mill), pero sí en diversos cultivos como árbol de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.), árbol de pan (*Artocarpus altilis*), café (*Coffea arabica* L.), higuera (*Ficus carica*), cacao (*Theobroma cacao*), yerba buena (*Mentha spicata*), pimienta negra (*Piper nigrum* L.) y romero (*Rosmarinus officinalis* L.) (James *et al.*, 2014).

Las cepas identificadas se agruparon en 8 categorías, de acuerdo a sus características morfológicas macroscópicas como son el tipo de crecimiento, micelio, color y masa conidial (cuadro 6).

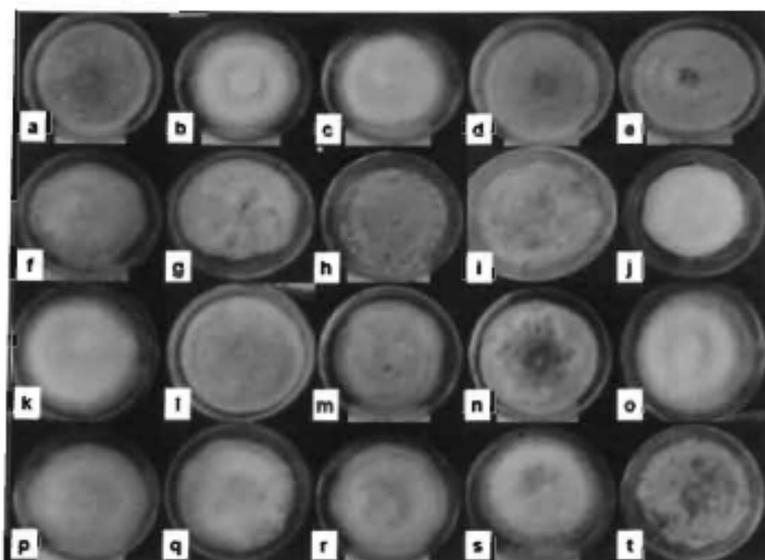
Todos estos aislamientos presentan características similares a los obtenidos por Rodríguez *et al.* (2009) y Pérez *et al.* (2003), quienes mencionan que el patógeno causante de la antracosis llamado *Colletotrichum* spp. tiene gran variabilidad morfológica debido a los parámetros como las condiciones de incubación, temperatura y humedad. Sin embargo, en el presente trabajo no se variaron las

condiciones ambientales ni de medio de cultivo, por lo que las variaciones entre especies e incluso entre cepas de la misma especie que pueden deberse a la gran plasticidad genética (Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2013).

En la figura 9 se muestran las fotografías de las veinte cepas aisladas del aguacate, donde se pueden apreciar las diferencias morfológicas entre las cepas.

**Cuadro 6.** Características macroscópicas de las cepas de *Colletotrichum* aisladas de aguacate.

Cepa	Crecimiento	Color	Micelio	Masas conidiales
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (ANb, ANc, ANi, ANf y ANk)	Rápido	Bianco-crema	Abundante y algodonoso	Escasas, salmón con el tiempo negras, distribución concéntrica
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (ANj)	Lento	Bianco-crema	Abundante, compacto y algodonoso	Escasas, salmón y negras, distribución concéntrica
<i>Colletotrichum hymenocallidis</i> (ANn)	Rápido	Bianco-crema centro color naranja	Abundante y algodonoso	Abundante, salmón con el tiempo negras, distribución aleatoria
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (ANa, ANd, ANi y ANf)	Rápido	Bianco-crema centro color naranja	Abundante y superficial	Abundante, salmón con el tiempo negras, distribución aleatoria
<i>Colletotrichum siamense</i> (ANo, ANp, ANr y ANs)	Rápido	Bianco-crema	Abundante, algodonoso, grueso	Escasas, salmón con el tiempo negras, distribución concéntrica
<i>Colletotrichum tropicale</i> (ANI)	Rápido	Bianco-crema centro color naranja-salmón	Abundante y algodonoso	Abundante, salmón con el tiempo negras, distribución concéntrica
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (ANG y ANm)	Rápido	Bianco-crema centro color naranja-salmón	Abundante, grueso y algodonoso	Abundante, salmón con el tiempo negras, distribución concéntrica
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (ANH)	Rápido	color naranja-salmón	Abundante y grueso	Abundante, salmón con el tiempo negras, distribución concéntrica



**Figura 9.** Variabilidad de cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* (ANa-ANm), *Colletotrichum hymenocallidis* (ANn), *Colletotrichum siamense* (ANo-ANs) y *Colletotrichum tropicale* (ANt).

Todos estos aislamientos son similares a lo obtenido por Rodríguez *et al.*, (2009) quienes mencionan que el patógeno causante de la antracosis llamado *Colletotrichum* spp. tiene gran variabilidad morfológica debido a los parámetros como las condiciones de incubación, temperatura y humedad.

## 6.2 Pruebas de fitopatogenicidad

En las pruebas *in vivo*, la cepa ANq (*C. siamense*) y ANc (*C. gloeosporioides*) tuvieron la mayor tasa de desarrollo de los síntomas de la enfermedad provocando fuerte daño al fruto. Al realizar la inoculación por la herida, se encontró que el *C. gloeosporioides* fue la más patogénica y la cual causó más severos daños al fruto (Figura 10), aunque en todos los tratamientos se observaron los síntomas de antracosis en los aguacates inoculados a partir del décimo día. Todas las cepas se distinguieron por presentar zonas color salmón en la parte enferma del fruto al décimo día, por lo cual los re-aislamientos a partir de los aguacates infectados artificialmente comparten las características de las cepas que fueron inoculados, es

decir, cumplen con los postulados de Koch, además que presentan una alta variabilidad morfológica, patogénica y genética de acuerdo al lugar donde fue presentada la enfermedad (Casarrubias *et al.*, 2003).

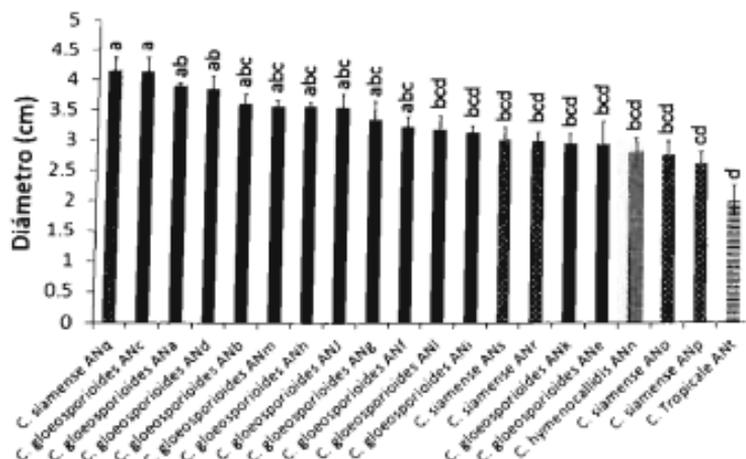


Figura 10. Cepas de *Colletotrichum* spp. evaluadas *in vivo* tanto en crecimiento y susceptibilidad a los fungicidas.

La prueba de patogenicidad de los diferentes aislados de *Colletotrichum* spp. demostró que las 20 cepas fueron capaces de generar, a los 10 días después de la incubación (ddi), los mismos signos de la enfermedad que se presentaron en las lesiones de las que fueron aislados. Sin embargo, se encontró que hay diferencia significativa entre ellos, siendo las cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* las que presentaron mayor virulencia en los frutos de aguacate, seguido por el *Colletotrichum siamense* que también causa daños severos al fruto, y en menor ataque al fruto de aguacate se encuentra los *C. hymenocallidis* y *C. tropicale*. De acuerdo con Montero *et al.* (2010) la variabilidad del *Colletotrichum gloeosporioides* se debe a sus aspectos bioquímicos, mientras que Kelemu *et al.* (1999) sostiene que existe una gran variabilidad patogénica la cual hace que las reacciones diferenciales expresadas en las interacciones de *Colletotrichum gloeosporioides* sean diferentes. Domínguez *et al.* (2012) encontraron que las diferentes especies de *Colletotrichum* spp. tienen gran variabilidad genética y molecular que hacen que

el grado de daño sea variable entre sí (Figura 11). Por esta razón los primeros signos de antracnosis en la evaluación *in vivo* comenzaron entre el tercer y cuarto día de incubación y los cuales fueron en aumento al comenzar la maduración del fruto, lo que a su vez puede deberse a que se trata de una enfermedad latente, es decir, donde la infección se presenta en estados tempranos del desarrollo del fruto e incluso desde la floración y se mantiene latente hasta que el fruto alcanza las condiciones óptimas como son la máxima producción de etileno, fenómeno que desencadena eventos enzimáticos que estimulan el desarrollo del hongo, así como la disminución de la concentración de algunos compuestos que lo inhiben (Bautista-Rosales, 2013; Fuentes-Castillo y Blanco-Cancelo 2007), en congruencia con lo observado en el presente trabajo. Además, en frutos de aguacate se encuentra un flavonoides llamado epicatequina, que mantiene al *Colltotrichum spp.* en estado latente, sin embargo, durante la maduración del fruto los niveles de dicho compuesto y otros que son antifúngico disminuyen, lo que provoca la activación del hongo (Beno y Prusky 2000, Guestsky *et al.*, 2005).



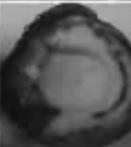
### 6.3 Efecto de los fungicidas en las pruebas de patogenicidad

De acuerdo a la figura 12, se puede observar que el mayor daño provocado por *Colletotrichum* spp., en el interior del fruto del aguacate se ubica en un rango de 69.27 a 30.67 % en los tratamientos a base de Ultramyl 500, Captan y Kocide 2000.

El fungicida Ultramyl 500 fue el que superó ligeramente a los otros dos fungicidas, obteniéndose un porcentaje de inhibición del 69.27 %, es decir, tuvo un menor porcentaje de fruta dañada por antracnosis, ya que la sintomatología observada fue poco notoria en virtud que el fungicida inhibió al hongo y evitó que la enfermedad siguiera avanzando en todo el mesocarpio del fruto.

En tanto el Captan que inhibió 67.26 % de la antracnosis, también retuvo el avance de esta enfermedad resultando un poco dañado en el mesocarpio del fruto del aguacate, mientras que el Kocide 2000 resultó con el alto valor de daño al mesocarpio del aguacate, inhibiendo la enfermedad con el 65.50 % causado por la antracnosis.

Con lo que se puede señalar que, para el caso de aguacate es poco el efecto de los fungicidas por si solos para el control de *Colletotrichum* spp., además de que el uso de estos componentes su mayor influencia ha sido cuando se ha aplicado de manera preventiva y no curativa.

Patógeno	Ultramyl 500	Captan	Kocide 2000
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (ANa-m)			
<i>Colletotrichum hymenocallidis</i> (ANn)			
<i>Colletotrichum siamense</i> (ANo-s)			
<i>Colletotrichum tropicale</i> (ANt)			

**Figura 12.** Efectos de fungicidas sobre las cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* AN(a-m), *Colletotrichum hymenocallidis* AN(n), *Colletotrichum siamense* AN(o-s) y *Colletotrichum tropicale* AN(t) inoculadas en el fruto de aguacate.

#### 6.4 Identificación de especies con cebadores específicos

La identificación molecular de las especies de *Colletotrichum* spp., a través del uso de los cebadores universales ITS1 y ITS4 en combinación con el ADN del *Colletotrichum* spp., permitió la identificación de 20 especies del género *Colletotrichum*, de las cuales se lograron amplificar alrededor de 400 pares de bases (pb) como se muestra en la figura 13.

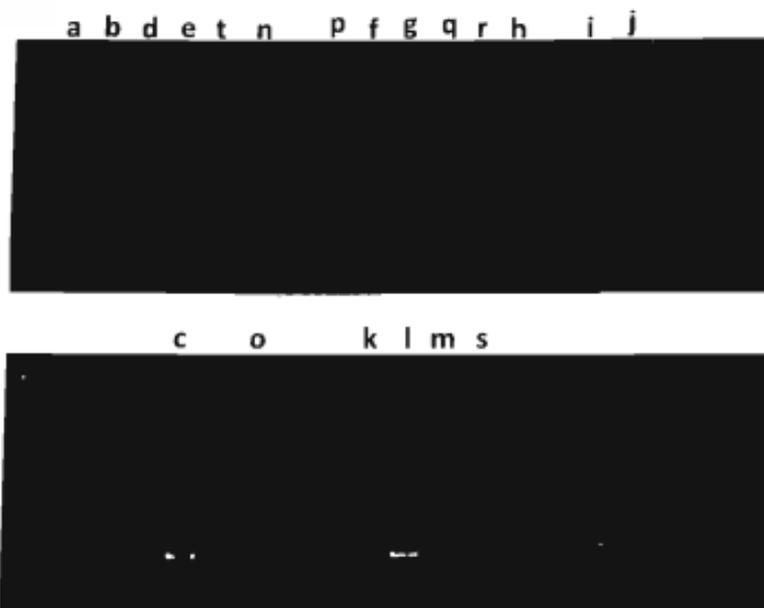


Figura 13. Geles de agarosa que visualizan el amplificado de los aislamientos identificados como *Colletotrichum* spp., con un fragmento de 400 pb.

#### 6.5 Evaluación *in vitro* de la susceptibilidad de cepas de *Colletotrichum* spp. a fungicidas químicos.

Para la variable porcentaje de inhibición del crecimiento micelial se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos. Las cepas *C. gloeosporioides* (ANa, ANb, ANc, ANd, ANe, ANf, ANg, ANh, ANi, ANj, ANk, ANl y ANm), *C. hymenocallidis* (ANN), *C. tropicale* (ANt) y *C. siamense* (ANo, ANp, ANq, ANr y ANs) fueron inhibidas completamente por los tres fungicidas, sin embargo, la gran mayoría de las cepas aisladas presentaron menor inhibición, es decir, mayor resistencia a los fungicidas empleados en este estudio (cuadro 7).

**Cuadro 7.** Porcentajes de inhibición del crecimiento micelial (PICM) por efecto de los fungicidas químicos.

Patógeno	Fungicidas		
	Ultramyl 500	Captan	Kocide 2000
	PICM (%)		
<i>C. gloeosporioides</i> ANa	50,63 cdD	30,36 eF	52,44 cdC
<i>C. gloeosporioides</i> ANb	59,78 cC	17,13 fgG	59,78 Cc
<i>C. gloeosporioides</i> ANc	51,86 cdD	10,63 gH	54,00 cC
<i>C. gloeosporioides</i> ANd	52,33 cdD	3,24 ghH	54,05 cC
<i>C. gloeosporioides</i> ANe	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
<i>C. tropicale</i> ANf	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
<i>C. hymenocallidis</i> ANn	7,14 gG	40,43 dE	100,00 aA
<i>C. siamense</i> ANo	54,00 cD	18,82 fgG	65,50 bcB
<i>C. siamense</i> ANp	50,38 cdD	88,55 abB	69,47 bcB
<i>C. gloeosporioides</i> ANf	58,99 cC	4,71 ghH	64,00 bcB
<i>C. gloeosporioides</i> ANg	100,00 aA	67,26 bcC	25,33 fF
<i>C. siamense</i> ANq	8,65 gG	51,92 cdD	30,67 eFD
<i>C. siamense</i> ANr	42,31 dE	33,33 eF	33,33 eD
<i>C. gloeosporioides</i> ANh	69,27 bcB	69,27 bcC	0,56 hH
<i>C. gloeosporioides</i> ANi	100,00 aA	100,00 aA	10,29 gG
<i>C. gloeosporioides</i> ANj	24,16 fF	100,00 aA	100,00 aA
<i>C. gloeosporioides</i> ANk	100,00 aA	24,10 fG	24,10 fF
<i>C. gloeosporioides</i> ANl	100,00 aA	100,00 aA	3,64 ghH
<i>C. gloeosporioides</i> ANm	69,27 bcB	72,07 bC	10,50 gG
<i>C. siamense</i> ANs	37,09 deE	33,77 eF	28,10 fD

Las medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p > 0.05$ ). Letra mayúscula representa la comparación en columna y las letras minúsculas significan la comparación entre filas.

Según la FAO (2012), el uso continuo y frecuente de un mismo plaguicida o fungicida, el no aplicar la dosis recomendada en la etiqueta, una pobre cobertura del área bajo tratamiento, las condiciones ambientales, la baja o nula incorporación

de otras prácticas de control como buenas prácticas agrícolas, rotación de cultivos y la limpieza de los equipos agrícolas, son consecuencias de la baja efectividad de los tratamientos o incluso ocasionar resistencia a agentes químicos. Sin embargo, si se tienen en cuenta estas condiciones, se puede prevenir la diseminación de las enfermedades y/o plagas y así evitar la persistencia del patógeno.

Juica *et al.* (2005) evaluaron fungicidas químicos como Antracol (Propineb), Benlate (Benomil), Captan, Carbendazim, Isoprothiolate y Granit encontrando diferencias en su porcentaje de inhibición al *Colletotrichum* spp., siendo Granit el más efectivo con un 100% de inhibición y el menos efectivo Captan con 17.6%.

Pinto *et al.* (1996) recomiendan el oxiclóruo de cobre (Cupravit) y el Mancozebén para el cultivo de cítricos, pero con el primero de ellos también se han reportado problemas de resistencia a nivel de laboratorio e incluso con dosis altas. Rondón *et al.* (2006) evaluaron el efecto de Benomil, Prochloraz, Mancozeb y Sulfato de cobre, resultando mejor con 100% de efectividad Prochloraz y como el peor Sulfato de cobre con 62%. Santamaría *et al.* (2011), demostraron que *C. gloeosporioides* solo fue inhibido por Prochloraz, Ferbam, Azoxystrobin, Tryfloxystrobin y Clorotalonil, por otra parte, el desarrollo de *C. dematium* fue inhibido sólo por Prochloraz, Ferbam y Clorotalonil. Arias *et al.* (2006) evaluaron Fluncloraz, Curacarb, Benlate y Captan observando que al aplicar la dosis comercial dio buen resultado y con dosis bajas se presentó crecimiento micelial del hongo *C. gloeosporioides*, con lo cual se demostró que al no aplicar las dosis correctas trae consecuencias negativas en la efectividad de los fungicidas químicos.

De acuerdo con Richmond, (1977) el Captan es un fungicida protector que actúa inhibiendo la germinación de las esporas o cuando están germinando producen tubos germinativos más cortos, aunque también actúa sobre el patógeno interfiriendo en varias reacciones químicas durante la respiración, reduciendo así la resistencia al producto.

En la figura 14 se presenta de manera general la inhibición del crecimiento de las cepas tratadas con los diferentes fungicidas. Se puede observar que las 20 cepas de *Colletotrichum* spp. evaluadas *in vitro* presentaron desde un alto grado de

susceptibilidad (85.96 %) hasta una moderada o baja susceptibilidad (32.65 % - 64.49 %) a los fungicidas Captan, Ultramyl y Kocide.

En el caso del fungicida Ultramyl 500 se observó una mayor susceptibilidad, inhibiendo 85.96 % el crecimiento del hongo *Colletotrichum* spp. Con Captan se observó una susceptibilidad media de *Colletotrichum* spp. de 64.49 %, sin embargo, el tratamiento con Kocide 2000 se presentó una baja susceptibilidad del hongo *Colletotrichum* spp. con una inhibición de 32.62 %.

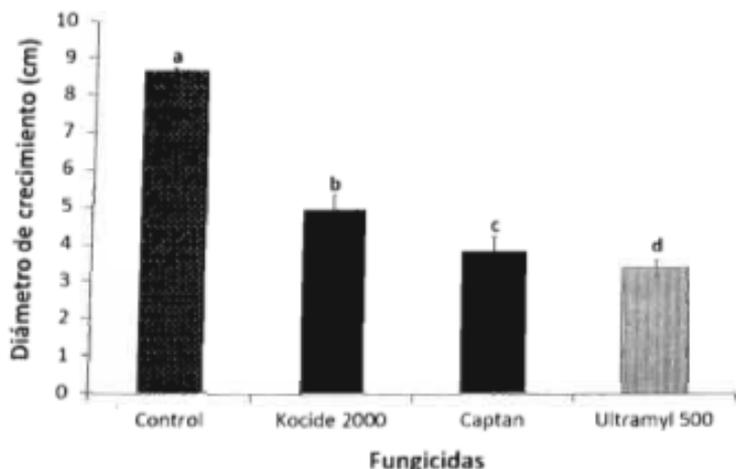
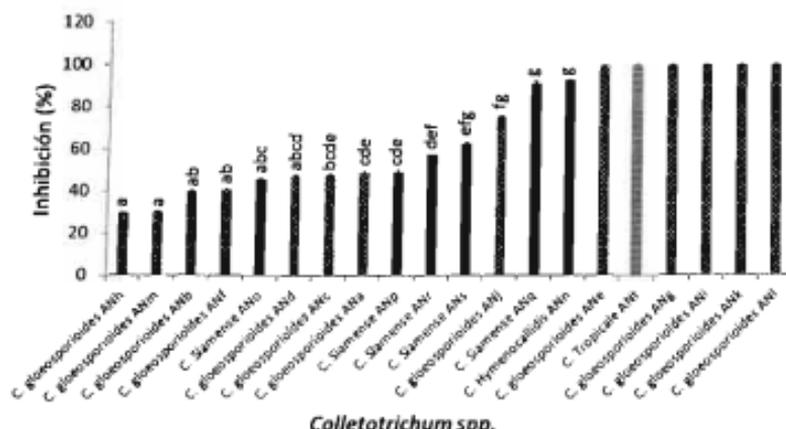


Figura 14. Evaluación *in vitro* de los fungicidas sobre la inhibición de crecimiento del hongo *Colletotrichum* spp.

Echeverri *et al.* (2007) realizaron ensayos con diferentes productos cúpricos, encontrando que Kocide (hidróxido de cobre) inhibe un 70% del crecimiento de *Colletotrichum* spp., sin embargo, en el presente trabajo este fungicida no fue tan efectivo, ya que las cepas evaluadas solo redujeron menos de la mitad de lo reportado.

En la figura 15 se observa que las cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* ANe, ANg, ANi, ANk, ANl y *Colletotrichum tropicale* ANt presentaron una inhibición del 100% con el fungicida Ultramyl 500, mientras que las cepas de *C. gloeosporioides*

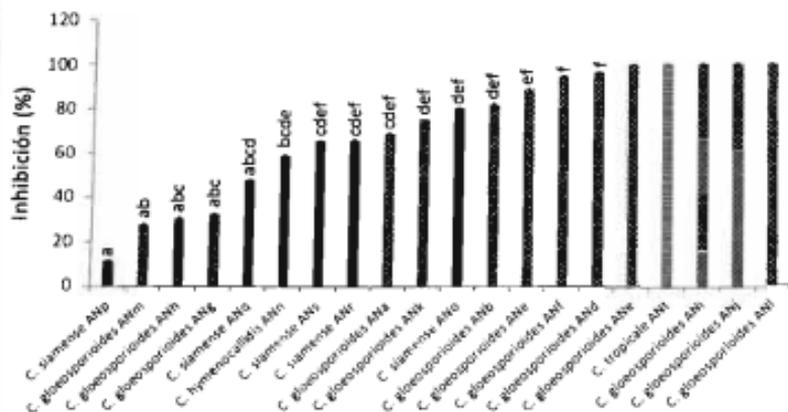
ANh, ANm, ANb y ANf mostraron una inhibición del 30, 31, 40 y 41 % respectivamente con la dosis recomendada por el fabricante.



**Figura 15.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de las cepas de *Colletotrichum* spp. con el fungicida Ultramyl 500 con la dosis recomendada por el fabricante.

Mondragón (2008) evaluó *in vitro* el efecto de los fungicidas sobre cepas de *Colletotrichum* spp. aisladas de frutos de aguacate, encontrando que el Ultramyl 500 presentó una ineffectividad en la inhibición del hongo. En otro estudio de Nueva Zelanda se determinó que el Ultramyl 500 no redujo significativamente los síntomas de antracnosis ocasionado por el hongo *Colletotrichum* spp. (Everett y Machin, 2005).

En la figura 16 se observa una mayor susceptibilidad de las cepas de *C. gloeosporioides* (ANe, ANi, ANj y ANl) y *C. tropicale* (ANI) al Captan, ya que presentaron una inhibición de 100% al aplicar la dosis recomendada por el fabricante, mientras que las cepas de *C. siamense* (ANp) y *C. gloeosporioides* (ANm, ANh y ANg) mostraron una inhibición menor que va del 11, 28, 30 al 31 %.

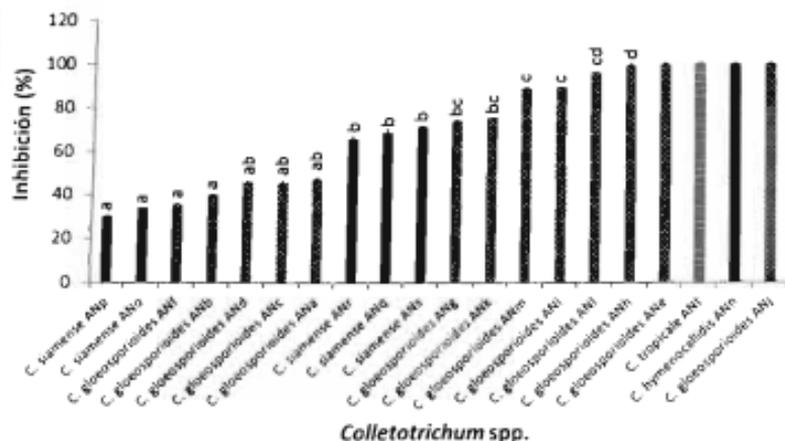


#### Colletotrichum spp.

**Figura 16.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de las cepas de *Colletotrichum* spp. con el fungicida Captan con la dosis recomendada por el fabricante.

Apuy-Medrano (1997) evaluó *in vitro* e *in situ* el efecto del captan sobre la antracnosis en plantas de palma aceitera (*C. gloeosporioides*), encontrando que el Captan tuvo eficacia al inhibir el crecimiento del patógeno. En otro estudio realizado *in vitro* por Rodríguez (2002) para determinar la inhibición de *Colletotrichum* aislado de olivo, se determinó que los fungicidas sistémicos dieron el mejor efecto comparados con los de contacto como es el caso del captan.

En la figura 17 se observa que con Kocide 2000 las diferencias de susceptibilidad no son tan elevadas como con los otros dos fungicidas (Ultramyl 500 y Captan). En cepas de *C. siamense* (ANo y ANp) y *C. gloeosporioides* (ANf y ANb) la inhibición fue del 31, 34, 36 Y 40 %, respectivamente, mientras que las cepas de *C. gloeosporioides* (ANe y ANj), *C. hymenocallidis* (ANn) y *C. tropicale* (ANt) mostraron un porcentaje de susceptibilidad del 100 %.



**Figura 17.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de las cepas de *Colletotrichum* spp. con el fungicida Kocide 2000 con la dosis al 100%.

Según Kumar *et al.* (2007) los fungicidas como Kocide 2000 y el Ultramyl 500, por su mecanismo de acción multisitio no específico poseen bajo riesgo para el desarrollo de resistencia del *Colletotrichum* spp. Kocide 2000 (hidróxido de cobre) fueron los fungicidas químicos con mayor eficiencia *in vitro* en el control de *C. gloeosporioides* y de *C. acutatum*, en mora de castilla y otros tipos de cultivo concordando con reportes realizados por Bailey y Jeger (1992), De los Santos y Romero (2002), Peres *et al.* (2002) y Rueda (2010).

La menor efectividad del Kocide 2000 en el medio de cultivo posiblemente esté asociada al mecanismo de acción del producto, mas no a la eficiencia del ingrediente activo en el control de los patógenos, ya que según Mendoza (2010) los fungicidas cúpricos a base de cobre metálico poseen baja solubilidad en agua. Lo anterior es una propiedad física que en condiciones de campo puede ser útil, ya que reportes de Echeverri *et al.* (2007) sobre ensayos realizados con diferentes productos cúpricos mencionan que Kocide (hidróxido de cobre) presentó mayor adherencia a los frutos de tomate de árbol durante las épocas de lluvia, lo cual conllevó a reducir en 70% la aparición de síntomas de antracnosis.

## 6.6 Crecimiento del tubo germinativo y tamaño de esporas de *Colletotrichum* spp.

Según estudios realizados por Adaskaveg y Hartin (1997), se considera que el tamaño de las esporas es una característica que puede variar para el desarrollo del tubo germinativo tanto en condiciones de campo como en condiciones controladas, sin embargo, en esta investigación se encontró poca variabilidad en cuanto al tamaño de las esporas pero en sí en el tubo germinativo, presentándose longitudes promedio muy similares entre los aislamientos estudiados; esta característica podría ser utilizada como base para identificar los aislamientos en cuanto al tamaño de las esporas y al tubo germinativo.

En el presente estudio, cuatro grupos fueron diferenciadas con respecto al desarrollo del tubo germinal (Figura 18). El primer grupo figuran la cepa ANa, que presentaron un crecimiento de 102,9  $\mu\text{m}$ ; el segundo grupo contiene la cepa ANc (71,6  $\mu\text{m}$ ); el tercer grupo contenida y, ANb, ANf, ANj, ANm, ANg, ANt, ANh, ANi, ANn, la ANr, ANq, ANk y ANs (46.1 - 22.5  $\mu\text{m}$ ), mientras que el cuarto grupo estaba compuesto de la ANi, ANe, ANp y ANo cepas (20.5 - 9.2  $\mu\text{m}$ ). El valor más alto de crecimiento del tubo germinal en ocho horas se encontró en *Colletotrichum gloeosporioides*. En relación al tamaño de la espora, se comprobó que existe una gran variabilidad tanto en longitud y anchura de la espora, con longitudes que van desde 14,8  $\mu\text{m}$  a 33,9  $\mu\text{m}$ , mientras que la anchura puede oscilar desde 5.2  $\mu\text{m}$  a 8.6  $\mu\text{m}$ .

El cuadro 8 muestra el coeficiente de correlación de Pearson, donde se muestra que no hay correlación estadística entre el tamaño y el desarrollo de esporas del hongo *in vitro* ni *in vivo* ( $p > 0.05$ ). Sin embargo, el tubo germinal presenta correlación estadísticamente significativa con el desarrollo del patógeno *in vitro* e *in vivo*, con una  $r$  de Pearson de 0.548 y 0.552, respectivamente ( $p < 0.05$ ).

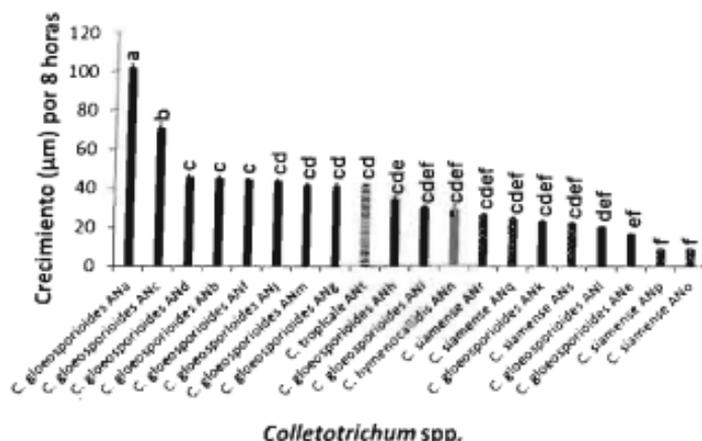
**Cuadro 8.** Correlación de Pearson (Esporas).

	Largo	Ancho	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	T. germinativo
Largo	1	.042	-.357	-.191	-.189
Ancho	.042	1	-.178	-.325	-.158
<i>In vitro</i>	-.357	-.178	1	.946**	.548*
<i>In vivo</i>	-.191	-.325	.946**	1	.552*
T. germinativo	-.189	-.158	.548*	.552*	1

\*. Correlación es significativa al nivel de 0.05.

\*\*. Correlación es significativa al nivel de 0.01.

Según Rodríguez *et al.* (2013) menciona que no se necesita el desarrollo del apresorio para poder hacer daño al hospedero, pero si depende de la germinación y el desarrollo del tubo germinativo para poder formar la síntesis de una capa mucilaginoso que se adhiere al hospedero; de igual manera, no todas las especies de *Colletotrichum* forman apresorio para poder adherirse del hospedero, sino que pueden penetrar directamente con la ayuda del tubo germinativo para causar los primeros daños al hospedante (Cascino *et al.*, 1990; Kim *et al.*, 1999).



**Figura 18.** Desarrollo del tubo germinativo a las 8 horas de 20 cepas de *Colletotrichum* spp. aisladas del cultivo de aguacate.

Los resultados de este estudio mostraron claramente que hay por lo menos cuatro especies patógeno a aguacate, esta especie presenta diversidad patogénica y morfológica, incluso entre cepas de la misma especie. Sin embargo, se requiere mayor investigación 1) para evaluar la eficacia de fungicidas en las diferentes cepas de *Colletotrichum* spp., 2) para encontrar microorganismos biocontroladores con una eficacia igual o superior a los productos agroquímicos, 3) estudiar el antagonismo-planta-patógeno interacciones.

### 6.7 Efecto de los fungicidas en la inhibición de la germinación y crecimiento del tubo germinativo de esporas de *Colletotrichum* spp.

De los tres fungicidas evaluados, el Captan redujo visiblemente tanto en la germinación de esporas como el crecimiento del tubo germinativo, al obtener el 92.43 % de inhibición, permitiendo un menor desarrollo de las esporas y tubo germinativo de 7.57 % respectivamente, en la figura 19 estos dos fungicidas como el Ultramyli 500 y Kocide 2000 no evita la germinación de esporas ni afecta durante las primeras etapas en la formación del tubo germinativo, ya que el patógeno adquiere resistencia a estos dos fungicidas (Köller y Scheinpflug, 1987) lo cual se confirmó a través de esta investigación.

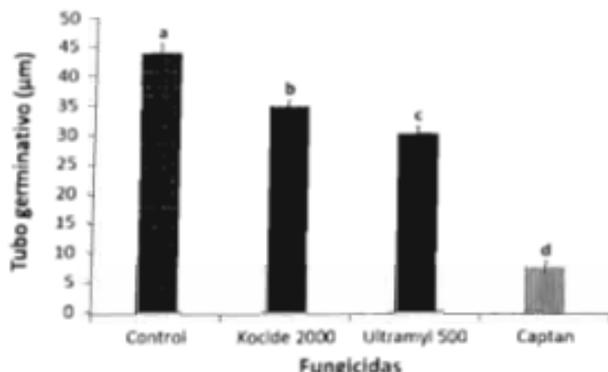


Figura 19. Evaluación *in vitro* de los fungicidas (Control, Ultramyli 500, Captan y Kocide 2000) sobre la inhibición de germinación de esporas y del tubo germinativo del hongo *Colletotrichum* spp.

Así mismo, Ultramyl 500 y el Kocide 2000 disminuyeron la germinación de esporas y del tubo germinativo entre un 69.67 y 65.04 %, respectivamente. Por lo tanto, los valores de germinación de esporas y tubo germinativo fueron de 30.33 y 34.96 %, respetivamente. Estos fungicidas actúan interfiriendo el flujo de electrones y, por consiguiente, afectando la producción de energía en forma de ATP. A pesar de ello, algunos hongos han logrado eludir el sitio de acción de estos fungicidas *in vitro* a través de una ruta alterna denominada respiratoria oxidativa o del complejo III del citocromo bc, que se ha propuesto como una posible explicación a la baja sensibilidad hacia estos fungicidas (Bartlett *et al.*, 2002).

### 6.8 Evaluación de las esporas del *Colletotrichum spp.*

En cuanto al tamaño de conidios, se obtuvieron rangos de 14.82 a 33.86  $\mu\text{m}$  de largo x 4.7 a 8.6  $\mu\text{m}$  de ancho respectivamente, mostrando diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) ambas variables entre las cepas de los diferentes aislados, como se puede observar en las figuras 20 y 21. Las esporas de la cepa ANi destacaron por ser la más largas de todas las cepas. En el caso de las cepas ANj, ANr y ANm sus longitudes promedio fueron estadísticamente iguales ( $p < 0.05$ ) y en las de menor longitud se encuentran las cepas ANg, ANa y ANk.

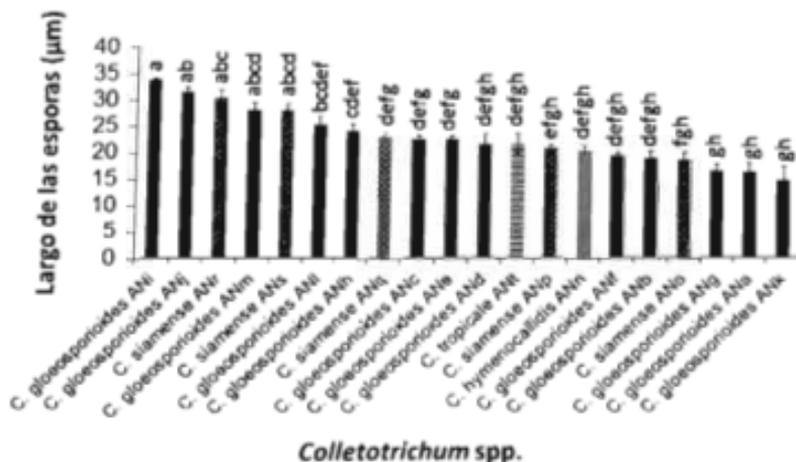


Figura 20. Comparación de longitud promedio ( $\mu\text{m}$ ) de esporas de cepas aisladas de *Colletotrichum spp.*

Como se observa en la figura 20, la longitud de los conidios de las diferentes cepas de *Colletotrichum* spp. aisladas fue diferente estadísticamente ( $p < 0.05$ ).

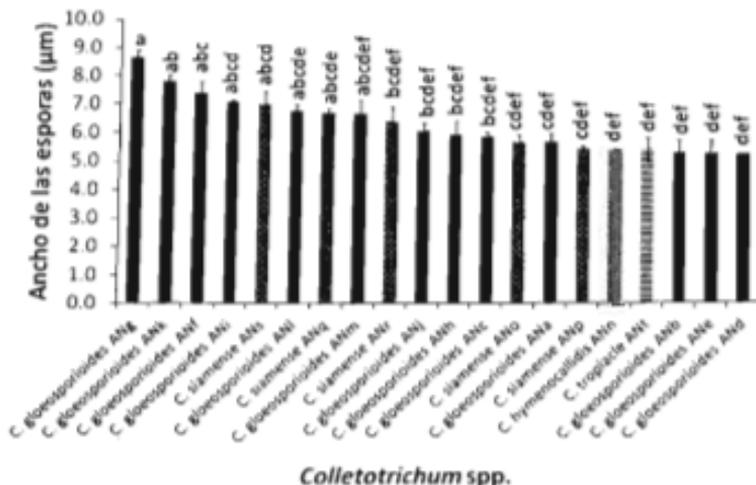


Figura 21. Comparaciones del ancho ( $\mu\text{m}$ ) de esporas de cepas de *Colletotrichum* spp.

En la figura 21. Se indica que las diferencias de promedios entre las esporas de *Colletotrichum* spp. se formaron dos grupos; comprendiendo un rango de 4.25-7.3 para el primer grupo (A) y 2.4- 5.04 para el segundo grupo (B), donde los aislados que presentaron conidios con valores en su diámetro de 4.2-5.04 son considerados en ambos grupos. Determinando con esto que, también esta característica por separado no puede ser considerada para diferenciar especies de *Colletotrichum*, debido a la amplitud de los rangos obtenidos, lo que también determina algunos autores, ya que en algunos casos un rango se establece para *Colletotrichum gloeosporioides* y este mismo, para otro autor corresponde a aislados de *C. acutatum* u otra especie de *Colletotrichum* (Du et al., 2005).

## 7. CONCLUSIONES

Se lograron obtener 80 aislados de hongos, de los que se identificaron 20 cepas del género *Colletotrichum* spp., de los cuales 13 cepas son *C. gloeosporioides*, 1 cepa es *C. hyemenocallidis*, 5 cepas son *C. siamense* y 1 cepa es *C. tropicale*.

Las cepas aisladas se clasificaron en 4 grupos de acuerdo a sus características morfológicas.

Todas las cepas de *Colletotrichum* spp. presentaron patogenicidad hacia los frutos de aguacate, con variabilidad patogénica y diferentes grados de desarrollo de la enfermedad.

La mayoría de las cepas presentaron el 50 % de susceptibilidad, solamente las cepas ANe, ANt, ANi, ANj y ANl no presentaron crecimiento para los tres fungicidas.

De los tres fungicidas químicos evaluados el que presentó mayor efectividad y porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) para la mayoría de las cepas fue Ultramyl 500 y como el menos efectivo fue Kocide. Sin embargo, el Captan sí presentó el mismo resultado satisfactorio de inhibición en la germinación de espora y tubo germinativo.



## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Adaskaveg, J. E. and Hartin, R. J. 1997. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. The American Phytopathological Society, Vol. 87, No. 9.
- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology, 5 ed. New York, US, Academic Press. 922 p.
- Apuy-Medrano, M. A. 1997. Etiología y manejo de la antracnosis en viveros de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.). Tesis. Mag. Sc. Universidad de Costa Rica, Programa de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio (Costa Rica). 61 p. San José. Universidad de Costa Rica. CR.
- Arias, R. B., Yáñez V., Carrizales L., Sánchez, M. 2006. Hongos asociados a la caída prematura de frutos en lima persa (*Citrus latifolia*) y evaluación de su control químico. *Bioagro* 18 (1): 31-39.
- Ávila-Quezada, G. D. 2007. Enfermedades más importantes en México y en el mundo. El aguacate y su manejo integrado, segunda edición. Mundi-prensa, México, S. A. de C. V.
- Akgun, O., Lurie, S. y Droby, S. 2001. Evaluation of the use of sodium bicarbonate, potassium sorbate and yeast antagonists for decreasing postharvest decay of sweet cherries. *Plant Protection Goruke of Agriculture* 23 (3): 233-236.
- Badii, M. J. L. 2007. Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *Toxicología de plaguicidas*. 21-34 pp.
- Bailey, J. A. and Jeger, M. J. 1992. *Colletotrichum: Biology, Pathology and control*. United Kingdom, British Society for Plant Pathology. 388 p.
- Barbosa, C., Ponce de León, L. y Sepulveda, J. 2002. Effects of ozone, Ionide and Chlorine on spore germination of fungi isolated from mango fruits. *Revista Mexicana de Fitopatología*. Vol. 20, No. 1. 60-65.
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. American Phytopathological Society, 4th Edition. St. Paul, Minnesota. USA.
- Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M. and Parr-Dobrzanski, B. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Management Science* 58: 649-662.
- Bartoli, A. J. A. 2008. Manual técnico del cultivo de aguacate Hass (*Persea americana* L.). Fundación hondureña de investigación agrícola. Honduras. 1, 4,5, 9 pp.
- Bautista, S., Barrera, L. L., Bravo, L. y Bermúdez, K. 2002. Actividad antifúngica de extractos de hojas y tallos de varias especies vegetales sobre la ocurrencia de *Colletotrichum gloeosporioides* en fruto de papaya y mango después del almacenamiento. *Revista Mexicana de Fitopatología*. Vol. 20, No. 1. 8-12.

- Bautista-Rosales, P. U. 2013. Evaluación de estrategias para el manejo de antracnosis y entomofauna potencialmente nociva en plantaciones de mango (*Mangifera indica* L.) cv. "Ataulfo" en huertos de Nayarit, México. Doctorado en ciencias, programa de estudios de posgrado, centro de investigaciones biológicas del noroeste S. C. 4, 24-29,56 pp.
- Beltrán, M. C. y García, D. J. 2006. *Colletotrichum gloeosporioides* fitopatógenos asociado a la nutrición humana. Investigaciones Andina, vol. 8, núm. 13, 2006, pp. 73-80 Fundación Universitaria del Área Andina Pereira, Colombia.
- Benbow, J. M. and Sugar, D. 1999. Fruit surface colonization and biological control of postharvest diseases of pear by preharvest yeast application. *Plant Disease* 83 (9):839 - 844.
- Beno, D. B. and Prusky, D. 2000 Early events during quiescent infection development by *Colletotrichum gloeosporioides* in unripe avocado fruits. *Phytopathology*, Saint Paul, V.90, n.5. Pp.553-559.
- Bergh, B. O. 1992. The origin nature and genetic improvement of the avocado. *Calif avocado soc. Yearbook* 65-71.
- Calvente, V., Benuzzi, D. and Tosetti, M. I. S. 1999. Antagonistic action of siderophores from *Rhodotorula glutinis* upon the postharvest pathogen *Penicillium expansum*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 43:167 - 172.
- Cano, J., Guarro, J. and Gené, J. 2004. Molecular and morphological identification of *Colletotrichum* species of clinical interest. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, V. 42, n. 6. Pp. 2.450-2.454.
- Cannon P. F., Damn, u., Johnston, P. R. and Weir, B. S. 2012. *Colletotrichum*-current status and future directions. *Studies in Micology* 73: 181-213.
- Casarrubias, U., González, M. M., Cruz, A., Cárdenas, E., Nieto, D. y Guevara R. G. 2003. Variabilidad Genética de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Penz. Y Sacc. Aislado de Frutos de Papaya (*Carica papaya* L.) Mediante el Uso de Marcadores Moleculares RAPD. *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 21, núm. 3, diciembre, 2003, pp. 338-345.
- Chacín, C., Blanco, M. L., Sánchez, S. C. y Acevedo, C. 2013. Evaluación a nivel de laboratorio del efecto de 7 extractos vegetales para el control de *Colletotrichum* sp., agente causal de la antracnosis en el cultivo de tomate de árbol. Universidad de Santander. *Innovaciencia*. 30-35 pp.
- Coates, L. M., Stirling, A. M., Cooke, A. W. and Cannon, K. T. 1995. Biological control of avocado anthracnose. In: McCarthy, a proceeding of the Australian avocado grower's federation conference the way ahead. Department agriculture, Western Australian pp. 115-119.
- Coria, A. V. M. 2009. Tecnología para la Producción de Aguacate en México. 2da. Edición. SAGARPA-INIFAP. Uruapan, Michoacán, México 222p.

De Los Santos, B. and Romero, F. 2002. Effect of different fungicides in the control of *Colletotrichum acutatum*, causal agent of anthracnose crown rot in strawberry plants. *Crop Protection*. 21:11-15.

Dickman, M. B. 2006. *Colletotrichum gloeosporioides* (en línea). Hilo, Hawai, Universidad de Hawai, Departamento de la Patología de Planta. Consultado 28 abril 2016. Disponible en [www.extento.hawaii.edu/Kbase/crop/type/c\\_gloeo.htm](http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/crop/type/c_gloeo.htm)

Dinham, B. and Malik, S. 2003. Pesticides and human rights. *Int. J. Occup. Environ. Health*. 9: 40-52.

Dominguez, P., Mohali, S. R., Marin, M. A. y Pino, H. B. 2012. Caracterización y variabilidad genética de *Colletotrichum gloeosporioides* sensu lato en plantaciones de pal aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) en Venezuela. *Tropical Plant Pathology*, vol. 37(2): 108-122, 2012.

Droby, S., Wisniewski, M., Macarasin, D. and Wilson, C. 2009. Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm? *Postharvest Biology and Technology* 52:137 - 145.

Du, M., Schardl, C. L., Nuckles, E. M. and Villancourt, L. J., 2005. Using matingtype gene sequences for improved phylogenetic resolution of *Colletotrichum* species complexes. *Mycologia*, 97(3): 641-658.

Echeverri, L., Echeverri, C., Navarro, R. y Gaviria, B. 2007. Evaluación de fungicidas cúpricos para el control de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) del tomate de árbol en el municipio de Rio negro. *Revista Universidad Católica de Oriente* (24): 99-108.

Everett, K. R. and Machin, T. 2005. The efficacy of fungicides and biocontrol agents for control of *Glomerella cingulate* on satsuma mandarins New Zealand *Plant Protection* 58: 84-88.

FAO, 2012. Detección y medición de la resistencia a los fungicidas. Principios generales. Método FAO, *Plant Protección* 30:47-71.

FAOSTAT – Estadística. 2012. Agriculture. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [www.faostat.org](http://www.faostat.org).

Freeman, S., Shalev, Z. and Katan, J. 2002. Survival in Soil of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* Pathogenic on Strawberry. *Plant Disease*. Vol. 86. No. 9. Pp. 965 – 970.

Freeman, S. 2000. Genetic diversity and host specificity of *Colletotrichum* species on various fruits. In Prusky, D, Freeman, S; Dickman, MB (eds.). Host specificity, pathology and host-pathogen interaction. The American Phytopathological Society p.131-141.

Fuentes-Castillo, C. y J.L. Blanco-Cancelo. 2007. Los Postulados de Koch: Revisión histórica y perspectiva actual. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 1 (2):262 - 266.

Fundación hondureña de investigación agrícola FHIA (2008). Manual técnico del cultivo de aguacate Hass (*Persea americana*) la lima, cortes, honduras, C.A. 1-10 pp.

Gaviria-Hernández, V., Patiño-Hoyos, L. F. y Saldarriaga-Cardona, A. 2013. Evaluación in vitro de fungicidas comerciales para el control de *Colletotrichum* spp., en mora de castilla. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu.* 14(1) 67-75.

Guerrero, M. S. y Martínez, Q. E. 2010. Control Químico de *Colletotrichum gloeosporioides* Causante de la Antracnosis en Aguacate, en el Municipio de Nuevo Paraganricutiro, Michoacán.

Guestsky, R., Kobiler, I., Wang, X., Perlman, N., Gollop, N., Ávila-Quezada, G., Hadar, I. and Prusky, D. 2005. Metabolism of the flavonoid epicatechin by lacassa of *Colletotrichum gloeosporioides* and its effect on pathogenicity on avocado fruit. *Phytopathology* 95:1341-1348.

Guillen, H., Cuiris, H., Pedraza, M. E., López, J. y Vidales, I. 2007. Cartografía agroecológica del cultivo del aguacate en Michoacán. Editores de Morelia, Michoacana, México. 141 pp.

Gutiérrez, A., Robles, A., Santillan, C., Ortiz, M. y Cambero, O. J. 2013. Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México. *Revista biociencias* 102-108 pp.

Gutiérrez, C. M., Lara, C. M. B., Guillén, A. H. y Chávez, B. A. T. 2010. Agroecología de la Franja Aguacatera en Michoacán, México. *Interciencia* 35: 647-653.

Gutiérrez, C. M. 2008. Diagnóstico genético y patogénico de *Colletotrichum* spp., en el área aguacatera de Michoacán, México. Tesis de Doctorado. Posgrado en Ciencias Biológicas Agropecuarias. Universidad Autónoma de Nayarit. Pp. 24.

Gutiérrez, A., Nieto, D. y Gutiérrez, J. G. 2002. Características morfológicas culturales y patogenicidad de aislamientos de *Colletotrichum* spp. Obtenidos de frutos de guayaba (*Psidium guajaba* L.) *Revista mexicana de fitopatología*. 24-30 pp.

Hartill, W. F. T. 1991. Post-harvest diseases of avocado fits of New Zealand. *New Zealand journal of crop and horticultural science*. 19 pp

James, R. S., Ray, J., Tan, Y. P. and Shivas R. G. 2014. *Colletotrichum siamense*, *C. theobromicola* and *C. quæenlandicum* from several plant species and the identification of *C. asianum* in the Northern Territory, Australia. *Australasian Plant Dis.* Pp 9:138.

Julca-Otiniano, A., Bello-Amez, S., Carhuallanqui-Pérez, R., and Crespo-Costal, R. 2005. Control químico de *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) penz. y sacc. a nivel de laboratorio. *Volumen 23, N° 1*:19-23

Kim, Y. K., Kawano, T., Li, D. and Kolattukudy, P. E. 1998. Induction of Ca<sup>2+</sup> + Calmodulin signaling by hard-surface contact primes *Colletotrichum gloeosporioides* conidia to germinate and form appressoria. *Journal of Bacteriology* 180: 5144-5150.

- Kim, Y. K., Kawano, T., Li, D., and Kolattukudy, P.E. 2000b. Two novel genes induced by hard-surface contact of *Colletotrichum gloeosporioides* conidia. *Journal of Bacteriology* 182: 4688-4695.
- Köller, W. and Scheinpflug, H. 1987. Fungal resistance to sterol biosynthesis inhibitors: a new challenge. *Plant Disease* 71: 1066-1074.
- Kumar, A., Reddy, N., Reddy, K. and Devi, M. 2007. Evaluation of fungicidal resistance among *Colletotrichum gloeosporioides* isolates causing mango anthracnose in Agri export zone of Andhra Pradesh, India. *Plant Pathology Bulletin* 16:157-160.
- Latunde-Dada, A. O. 2001. *Colletotrichum*: tales of forcible entry, stealth, transient confinement and breakout. *Molecular Plant Pathology* 4:187-198.
- Lavaire, E. L. 2013. Manual técnico del cultivo de aguacate en honduras (*Persea americana* Mill). Programa Nacional de Desarrollo Agroalimentario de la Secretaría de Agricultura y Ganadería (SAG). Tegucigalpa honduras. 32-50 pp.
- Lira, S. R. H. 2003. Fisiología vegetal Ed. Trillas México. 237 pp.
- Martínez, B. R. y Estrada, N. L. 1996. Importancia de la antracnosis *Colletotrichum gloeosporioides* y la roña *Sphaceloma perseae* en la producción de aguacate en Michoacán. El cultivo del aguacate en Michoacán.
- Mendoza, G. 2010. Utilización del cobre en la agricultura intensiva. En: Actualidad del campo agropecuario (110):30-32. <http://issuu.com/adca/docs/agosto2010>. Consulta: marzo de 2011.
- Mondragón, F. A. 2008. Comportamiento *in vitro* de *Colletotrichum* spp. en presencia de fungicidas. Tesis de licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez". Uruapan, Mich.
- Montero, V., Morales, J. L., González, M. M., Anaya, J. L., Corona, T. y Gálvez, A. 2010. Diversidad Genética, Patogénica y Morfológica del Hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) de Michoacán, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* vol. 1 Núm. 2 pp. 159-174.
- Morales, C. N. y Gamboa, Z. T., 2010. El aguacate como eje de una estrategia de desarrollo regional en Nayarit. *Revista de geografía agrícola* num.44. Universidad autónoma de Chapingo. P. 42.
- Morales, J. L., Azpiroz, H. S. y Pedraza, M. E. 2009. Caracterización cultural, morfológica, patogénica e isoenzimática de aislamiento de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., causante de la antracnosis del aguacate (*Persea americana* Mill.) en Michoacán, México. *UDO Agrícola* 9: 848-856.
- Morales, G. J. L. 2005. Enfermedades que atacan al fruto de aguacate en la región aguacatera de Michoacán, México. En Memorias del Curso Taller de Fitosanidad e Inocuidad. II Congreso Mexicano y Latinoamericano del Aguacate. Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez" U.M.S.N.H. Uruapan, Mich. Pp. 53 – 67.

Morrissey, J. P. and Osbourn, A. E. 1999. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63:708-724.

NCBI (National Center for Biotechnology Information, US). (en línea). US. Consultado 5 mar 2008. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

NOM-066-FITO-2002, "Especificaciones para el manejo fitosanitario y movilización del aguacate".

Ochoa, J. L., Hernández-Montiel, L. G., Latisnere-Barragán, H., León de la Cruz, J. L. y Larralde-Corona, C. P. 2007. Aislamiento e identificación de hongos patógenos de naranja *Citrus sinensis* L. Osbeck cultivada en Baja California Sur, México. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 5 (5):352 - 359.

Ochoa, A. S. 2005. Enfermedades poscosecha del aguacate. En *Memorias del Curso Taller de Fitosanidad e Inocuidad. II Congreso Mexicano y Latinoamericano del Aguacate. Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez". U.M.S.N.H. Uruapan, Mich. Pp. 41-51.*

O'Connell, R.J., Pain, N. A., Hutchison, K. A., Jones, G. L. and Green, J. R. 1996. Ultrastructure and composition of the cell surfaces of infection structures formed by the fungal plant pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. *Journal of Microscopy* 181:204-212.

Pegg, K. G., Coates, L. M., Korsten, L. and Harding, R. M. 2007. Enfermedades foliares del fruto y el suelo. En: Whiley, AW., Schaffer B., and Wolstenholme, B.N. 2007. *El palto. Botánica, Producción y usos. Editions Universitarias de Valparaíso* Pp. 25-45.

Peres, N., Souza, N., Zitko, S. and Timmer, L. 2002. Activity of benomyl for control of postbloom fruit of citrus caused by *Colletotrichum acutatum*. En: *Plant Disease* 86(6):620-624. <http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS.2002.86.6.620>; consulta: septiembre de 2010.

Pérez, L. M., Saquero, M. y Beltrán, J. D. 2003. Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp. como agente causal de la antracnosis en ñame *Dioscorea* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. V, núm. 1, julio, 2003, 24-35 pp.

Pinto, C. B., Cruz, B. M. y López, M. S. 1996. Determinación de las enfermedades fúngicas de los cítricos de la zona norte de Veracruz y evaluación de fungicidas para el control químico de la Antracnosis. *IV Simposio Internacional sobre Sistemas de Producción de Cítricos. U. A. Chapingo. 24-30 pp.*

Podila, G. K., Rogers, L. M., and Kolatukudy, P. E. 1993. Chemical signal from avocado surface wax trigger germination and appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Physiology* 103:267-272.

Prusky, D., Freeman, S. and Dickman, M. 2001 *Colletotrichum*. Host specificity, pathology and host-pathogen interaction. *St. Paul: American Phytopathological Society* Pp. 393.

Prusky, D., Freeman, S. and Dickman, M. B. 2000. *Colletotrichum* host specificity, pathology and host-pathogen interaction. The American Phytopathological Society, Minnesota, USA. 393 pp.

Prusky, D., Wattad, C. and Kobiler, I. 1996. Effect of ethylene on activation of lesion development from quiescent infections of *Colletotrichum gloeosporioides* in avocado fruits. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 9:864-868.

Reyes, A. J. C. y Aguilar, M. J. J. 2002. Guía técnica del cultivo del aguacate. Fundación Salvador Sánchez Colín. CICTAMEX, S. C. Edo de México.

Richmond, D.V. 1977. Permeation and migration of fungicides in fungal cells. In "Antifungal compounds". *Interaction in Biological and Ecological System* 2:251-276.

Rodríguez, E. S., Cárdenas, E., Hernández, S., Gutiérrez, A. y Mayek, N. 2013. Análisis de la infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc. De Frutos de Aguacatero. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal-SP*, vol. 35, n. 3 pp. 898-905.

Rodríguez, E. S., González, J. M. y Mayek, N. 2009. La infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. Y Sacc. En aguacatero (*Persea americana* Mill.): Aspectos bioquímicos y genéticos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 27:53-63.

Rodríguez, O. M. 2002. Etiología y control químico de la aceituna jabonosa causada por *Colletotrichum* spp. Universidad Córdoba. España.

Rondón, O., Sanabria de Albarracín, N. y Rondón, A. 2006. Respuesta *in vitro* a la acción de fungicidas para el control de antracnosis, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, en frutos de mango. *Agronomía Tropical* 56:219-235.

Rondón-Garnier, A. J. 1991. La producción frutícola con fines de exportación problemas patológicos y alternativas de control. Maracay, Venezuela, FONAIAP/ CENIAP, Departamento Protección Vegetal. FONAIAP Divulga no. 36.

Rojas, E. I., Rehner, S. A., Samuets, G. J., Van Bael, S. A., Cannon, P., Chen, Rui., Pang, J., Wang, R., Zhang, Y., Peng, Y. Q. and Tao Sha. 2010. *Colletotrichum gloeosporioides* S.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panamá: multilocus Phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. *The Mycological Society of America*, Lawrence, KS 66044-8897. *Mycology* 102 (6), 2010, pp. 1318-1338.

Rueda, K. 2010. Caracterización molecular de especies de *Colletotrichum* prevalentes en las zonas productoras de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) en Antioquia. Trabajo de grado para optar al título de Magister en Biotecnología. Medellín, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, 143 p.

Ruiz, P. E. 2001. Histopatología de frutos de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden infectados por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Edo. de México. 78 p.

SAGARPA, 2014. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. [www.Sagarpa.gob.mx](http://www.Sagarpa.gob.mx). Citada el 15 de noviembre del 2014.

SAGARPA, 2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. [www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx).

SAGARPA. 2012. Plan rector del sistema producto aguacate en el estado de Nayarit. 7, 8 pp.

Sambrook, J. and Russell, D. W., 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. CSHL Press, New York, USA, pp. 6.31-6.32.

Sánchez- colín, S. 2004. Situación actual del cultivo del aguacate en México. California avocado society. 1-3 pp.

Sánchez, P. J. L., Alcántar, R. J. J., Coria, A. V. M., Anguiano, C. J., Vidales, F. I., Tapia, V. L. M., Aguilera, M. J. L., Hernández, R. G. y Vidales, F. J. A. 2001. Tecnología para la Producción de Aguacate en México. INIFAP. División Agrícola Uruapan, Michoacán. Libro Técnico No. 1. Pp. 208.

Sánchez, P. 1999. Recursos genéticos de aguacate (*Persea americana* Mill) y especies afines en México. Revista Chapingo serie horticultura 5 núm. especial. 7-9 pp.

Santamaría-Basulto, F., Díaz-Plaza, R., Gutiérrez-Alonso, O., Santamaría-Fernández, J., y Larqué-Saavedra A. 2011. Control de dos especies de *Colletotrichum* causantes de antracnosis en frutos de papaya Maradol. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 2:631-643.

Santander, P. A. 2012. Uso de *Trichoderma harzianum rifai* y *bacillus subtilis (ehrenberg) cohn* para el control de (*Colletotrichum gloeosporioides penz*.) causante de la antracnosis en mango (*mangifera indica* L.). Universidad central de Venezuela facultad de agronomía postgrado en agronomía. pág. 5-26.

Sariah, M. 1994. Potential of *Bacillus* spp. As a biocontrol agent for anthracnose fruit rot of chilli. *Malaysian Applied Biology* 23:53 - 60.

Schaffer, B. 2002. The Avocado, Botany, Production and Uses. CABI publishing, South Africa. Pp. 330.

Sexton, A. C., and Howlett, B. J. 2006. Parallels in fungal pathogenesis on plant and animal host. *Eukaryotic Cell* 5:1941-1949.

Shovan, I. R., Bhuiyan, M. K. A., Begum J. A. and Pervez, Z. 2008. *In vitro* control of *Colletotrichum dematium* causing anthracnose of soybean by fungicides, plant extracts and *trichoderma harzianum*. Department of Plant Pathology, Bangabandhu Sheikh Mujibur Rahman Agricultural University. 3(3):10-17.

SIAP. 2014. Sistema de Información Agrícola y Pecuaria (SIAP). Desempeño positivo de la producción y exportaciones de aguacate durante el periodo 2013 – 2014. México D.F.

SIAP-SAGARPA. 2012. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. [www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx).

Siddiqui, Y. and Ali, A. 2014. *Colletotrichum gloeosporioides* (Anthracnose). Laboratory of Food Crops, Institute of Tropical Agriculture, University Putra Malaysia, Serdang Selangor D. E., Malaysia; Centre of Excellence for Postharvest Biotechnology (CEPB), School of Biosciences, The University of Nottingham Malaysia Campus, Semenyih, Selangor D. E., Malaysia 11: 35-337.

Silva, H. V. and Ávila, G. D. 2011. Phylogenetic and morphological identification of *Colletotrichum boninense*: a novel causal agent of anthracnose in avocado. *Plant Pathology* 60: 899-908.

Sutton, B. C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In Bailey, JA, Jeger, MJ. (eds). *Colletotrichum* – biology, pathology and control. Wallingford, Pais, CAB International. p. 1-26.

Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martins J. and Oliveira, H. 2005. Molecular and Phenotypic Analyses Reveal Association of Diverse *Colletotrichum acutatum* Groups and a Low Level of *C. gloeosporioides* with Olive Anthracnose. *Applied Environmental Microbiology*. Vol. 71. No. 6. Pp. 2987 – 2998.

Tamayo-Molano, P. J. 2007. Enfermedades del Aguacate. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica. Regional 4. Antioquia, Colombia. 51-70 pp.

Téliz, D. y Mora, A. 2007. El aguacate y su manejo integrado. Editorial Mundi prensa, México 2da edición. 219 – 321pp.

Téliz, O. D. 2000. El aguacate y su manejo integrado. Ed. Mundi prensa. México D.F. 139-146 pp.

Turner, B. L. and Miksieki, C. H. 1984. Economic plant species associated with prehistoric agriculture in the Maya lowlands. *Economic Botany* 38(2): 179-173.

Villanueva-Arce, R., Cárdenas-Soriano, E., Hernández-Anguiano, M. y Téliz-Ortiz, D. 2004. Patogénesis de la antracnosis (*Colletotrichum fragariae*) en frutos de chirimoya. *Agrociencia* 40:773-782.

Waller, J. M., Bridge, P. D., Black, B. and Hakiza, G. 1993. Characterization of the coffee berry disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* sp. nov. *Mycological Research* 97(8):989-994.

Wharton, P. and Diéguez, J. 2004. The biology of *Colletotrichum acutatum*. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 61:3-22.

Williams, L. O. 1977. The avocados, a synopsis of the genus *Persea*, subg. *Persea*. *Economic Botany* 31: 315-320.

Xiao, C. L., MacKenzie, S. J. and Legard, D. E. 2004. Genetic and Pathogenic Analyses of *Colletotrichum gloeosporioides* Isolates from Strawberry and Noncultivated Hosts. *Phytopathology* 94: 446-453.

Yakoby, N., Zhou, R., Koblir, I., Dinoor, A. and Prusky, D. 2001. Development of *Colletotrichum gloeosporioides* restriction enzyme-mediated integration mutant as biocontrol agents against anthracnose disease in avocado fruits. *Phytopathology* 91:143-148.

Zamora M. M., Gujosa S. M. A. and Equihua A. M. E. 1991. Aspectos de Postcosecha en aguacate (*Persea americana Mill.*) var. Hass de tres regiones de Michoacán. Tesis profesional, Facultad de Agrobiología "Pte. Juárez" Uruapan, Mich. Pp. 136.

Zentmyer, G. A. 1991. The genus *Persea* Calif avocado soc. yearbook 119-123.