



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE AGROBIOLOGÍA PRESIDENTE JUÁREZ



PROGRAMA INSTITUCIONAL
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ÁREA TEMÁTICA: Interacción Planta-Microorganismo- Insecto

TESIS

**VIRULENCIA ASOCIADA A LA VARIABILIDAD MORFOLÓGICA
DE AISLADOS DE *Elsinoe perseae* (= *Sphaceloma perseae*) Jenkins
Y SU CONTROL *in vitro***

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

EDNA ESQUIVEL MIGUEL

DIRECTOR:

DR. JOSÉ LUCIANO MORALES GARCÍA

CO-DIRECTORA:

DRA. SOLEDAD GARCÍA MORALES

URUAPAN, MICHOACÁN, MARZO 2023



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

DRA. MARTHA ELENA PEDRAZA SANTOS
COORDINADORA GENERAL DEL PROGRAMA INSTITUCIONAL DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
PRESENTE

Por este conducto nos permitimos comunicarle que después de haber revisado el manuscrito final de la Tesis Titulada: "VIRULENCIA ASOCIADA A LA VARIABILIDAD MORFOLÓGICA DE AISLADOS DE *Elsinoe perseae* (*Sphaceloma perseae*) Jenkins Y SU CONTROL *in vitro*" presentado por la Ing. Edna Esquivel Miguel con Número de Matrícula 03046936, consideramos que reúne los requisitos suficientes para ser publicado y defendido en Examen de Grado de Maestra en Ciencias.

Sin otro particular por el momento, reiteramos a usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE Morelia, Michoacán, a 09 de febrero de 2023

COMITÉ SINODAL

Dr. José Luciano Morales García
Director de Tesis

Dra. Soledad García Morales
Co directora

Dr. Samuel Pineda Guillermo
Presidente

Dra. Martha Elena Pedraza Santos
Vocal I

Dra. Ana Tztzqui Chávez Bárcenas
Vocal 2

AGRADECIMIENTOS

A Dios por siempre brindarme oportunidades para sobresalir.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero a la presente investigación.

A mi asesor y comité evaluador por sus correcciones, observaciones y su tiempo durante todo el proceso de la investigación.

A mi familia por estar acompañándome, por siempre estar para mí y confiar en mí para lograr este proyecto.

A mi hija Victoria Aguilar Esquivel, por ser mi motivación, mi compañera, mi cómplice y el amor de mi vida.

A todas las personas que directa e indirectamente participaron en este proyecto muchas gracias.

ÍNDICE

	PAGINA
ÍNDICE DE FIGURA	I
ÍNDICE DE CUADROS	II
RESUMEN	III
ABSTRAC.....	IV
I. INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS	3
OBJETIVOS	3
II. ANTECEDENTES	4
2.1 Importancia del cultivo de aguacate	4
2.2 Mancha púrpura en el cultivo de Aguacate.....	5
2.3 Desarrollo de la enfermedad	7
2.4. <i>Elsinoe perseae</i> (= <i>Sphaceloma perseae</i>) agente causal de mancha púrpura.....	7
2.5 Importancia de las melaninas.....	12
2.6 Virulencia.....	13
2.7 Control de enfermedades fungosas	15
2.8 Fungicidas químicos	17
2.9 Fungicidas orgánicos	19
2.10 Efecto de los fungicidas	20
2.11 Vida media de los fungicidas.....	21
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1 Colecta de muestras.	22
3.2 Aislamiento del patógeno	25
3.3 Selección de cada aislado por áreas agroecológicas	26
3.4 Caracterización morfológica.....	27
3.5 Pruebas de patogenicidad.....	28
3.6 Pruebas de Control <i>in vitro</i>	30
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1 Características morfológicas de los aislados de <i>E. perseae</i>	34
4.2 Virulencia.....	46
4.3 Pruebas de control <i>in vitro</i>	51
4.3.1. Productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánicos.....	51

4.3.2 Productos químicos	54
V. CONCLUSIONES.....	57
VI. LITERATURA CITADA.....	58
VII. APÉNDICE	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pagina
1. Producción, volumen y valor de las exportaciones de aguacate.	4
2. Grados de severidad de mancha púrpura en frutos de aguacate.	5
3. Daños de Mancha púrpura en campo variedad Méndez.	6
4. Daños de mancha púrpura en viveros, variedad Méndez.	6
5. Daños de Mancha púrpura en plantas variedad “Flor de María”	7
6. Tipos de crecimiento de <i>E. perseae</i> en medio de cultivo PDA. a) Cerebroide, b) Viscoso.....	8
7. Variabilidad morfológica en cepas de <i>E. perseae</i> aisladas de diferentes áreas agroecológicas.....	9
8. Cambios en la morfología de los aislados influenciada por la edad.....	9
9. Cambios morfológicos en los aislados de <i>E. perseae</i> influenciado por el medio de cultivo.	9
10. Crecimiento de <i>E. perseae</i> reportado. Fuente Hinojosa-Paredes, 2021.	10
11. Acervulos de <i>E. perseae</i> al realizar cortes histológicos. Fuente López-Cornejo, 2021.....	11
12. Aislado, micelio y conidios de <i>E. perseae</i> . Fuente Hinojosa-Paredes, 2021.....	11
13. Producción de elsinocromos en aislados de <i>E. perseae</i>	11
14. Sitios de colect	23
17. Selección y replica de cada aislado de <i>E. perseae</i>	26
18. Tablas de colores HSV (Hue, Saturation and Value).....	27
19. Conteo de conidios de <i>E. perseae</i> en cámara Neubauer.	28
20. Proceso de inoculación de frutos de aguacate para las pruebas de patogenicidad.....	30
21. Diseño experimental pruebas de control <i>in vitro</i>	33
22. Crecimiento de un mes de los aislados de cada área agroecológica.	34
23. Desarrollo de los aislados de <i>E. perseae</i> vista por el reverso de la caja.....	35
24. Crecimiento de <i>E. perseae</i> 1 día después de la siembra.	36
25. Tasa de crecimiento de los aislados de cada área agroecológica	37
26. Número de colores de los aislados de cada área agroecológica	38
27. Producción de elsinocromos en aislados de <i>E. perseae</i>	39
28. Producción de conidios uno y dos meses de crecimiento	39
29. Aislados, micelio y conidios de <i>E. perseae</i> de cada área agroecológica.....	45
30. Acervulos de <i>E. perseae</i> al realizar cortes histológicos.	46
31. Pruebas de patogenicidad por los aislados de <i>E. perseae</i>	46
32. Desarrollo de síntomas de mancha púrpura en variedad “Flor de María”	47
33. Comparación Variedad “Flor de María” y Méndez	48
34. Comparación en variedad “Flor de María”	49

35. Comparación en variedad Méndez.	50
36. Aspectos de los aislados sometidos a cada tratamiento.	78
37. Pruebas de control productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico.....	78
38. Aspecto de los aislados en el primer mes con productos químicos.....	79
39. Aspecto de los aislados en el segundo mes con productos químicos.....	80
40. Aspecto de los aislados en el tercer mes con productos químicos.	81
41. Aislados de cada área agroecológica a los tres meses con productos químicos.	82

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Fungicidas utilizados en los ensayos sobre <i>Elsinoe perseae</i>	31
2. Colores utilizados para describir los aislados de <i>E. perseae</i>	37
3. Desarrollo de los aislados de <i>E. perseae</i>	40
4. Porcentaje de inhibición productos autorizados en huertos con manejo orgánico	51
5. Porcentaje de inhibición sobre los aislados de <i>E. perseae</i> de cada área agroecológica ...	54
6. Porcentaje de inhibición de micelio de los productos químicos.....	55
7. Porcentaje de inhibición sobre los aislados de <i>E. perseae</i> de cada área agroecológica ...	56
8. Variabilidad de colores en aislados de <i>E. perseae</i> durante cinco meses de desarrollo. ...	69
9. ANOVA Caracterización morfológica	76
10. ANOVA Virulencia en los diferentes cultivares	76
11. ANOVA Virulencia en cada uno de los aislados de cada área agroecología	76
12. ANOVA Pruebas de sensibilidad	77

RESUMEN

Elsinoe perseae (= *Sphaceloma perseae*) Jenkins es el agente causal de la enfermedad conocida como mancha púrpura del aguacate (*Persea americana* Mill.), la cual disminuye hasta 60% la producción. En este estudio se determinó la virulencia de aislados de *E. perseae* procedentes de distintas áreas agroecológicas productoras del estado de Michoacán, México. Para ello, se utilizaron frutos de aguacate de las variedades Flor de María y Méndez. También se evaluaron, a la dosis del producto formulado y de forma *in vitro*, cinco fungicidas químicos (azoxystrobin, tiabendazol, pyraclostrobin, cyprodinil+fludioxonil y azoxystrobin + propiconazol). Además, se evaluaron cuatro productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico (sulfato de cobre, gluconato de cobre, oxicloruro de cobre y el extracto vegetal *Larrea tridentata*). La caracterización morfológica (micro y macroscópica) coincidió con la reportada para el hongo *E. perseae*. En los frutos inoculados se observaron síntomas de mancha púrpura, por lo que se corrobora a *E. perseae* como agente causal y su presencia en Michoacán. La variedad más susceptible fue Flor de María. Los aislamientos de *E. perseae* presentaron diferentes grados de virulencia y sensibilidad a los productos expuestos. Los productos químicos más efectivos para inhibir el crecimiento de *E. perseae* fueron tiabendazol y azoxystrobin + propiconazol (100%), mientras que los autorizados en huertos orgánicos fueron *L. tridentata* y oxicloruro de cobre (58%).

Palabras clave: Mancha púrpura del aguacate, susceptibilidad, sensibilidad, fungicida.

ABSTRAC

Elsinoe perseae (= *Sphaceloma perseae* Jenkins) is the causal agent of “Mancha púrpura” in avocado (*Persea americana* Mill.), which decreases production by up to 60%. In this study, the virulence of *E. perseae* isolates from different agroecological producing areas of the state of Michoacán, Mexico, was determined. Avocado fruits of Flor de María and Méndez varieties were used. Five chemical fungicides (azoxystrobin, thiabendazole, pyraclostrobin, cyprodinil+fludioxonil and azoxystrobin+propiconazole) and four authorized for use in orchards with organic management (copper sulfate, copper gluconate, copper oxychloride and the plant extract *Larrea tridentata*). Symptoms of “Mancha púrpura” were observed in the inoculated fruits, thus corroborating *E. perseae* as the causal agent and its presence in Michoacán. The most susceptible variety was Flor de María. The isolates of *E. perseae* presented different degrees of virulence. The isolates from each agroecological area turned out to be some more sensitive than others to the exposed products. The chemical products with the greatest effect were thiabendazole and azoxystrobin + propiconazole (100%), while those authorized in organic orchards were *L. tridentata* and Copper Oxychloride (58%).

Keywords: “Mancha púrpura” in avocado, susceptibility, sensitivity

I. INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es uno de los cultivos económicamente más importantes de México, al mes de abril de 2022, la superficie sembrada destinada a la producción del aguacate fue de 259,769 hectáreas (ha), 11 mil 521 (4.6%) más en comparación a lo reportado al mismo mes de 2021 (248,248 ha). Michoacán con la mayor superficie (183 mil 385 ha), representa 70.6% del total nacional. En 2021, las exportaciones del fruto alcanzaron un millón 392 mil toneladas, lo cual refirió un incremento de 3.5% (46 mil 931 toneladas) respecto al año anterior (SIAP, 2022). Sin embargo, según Urrea y Cardona (2020) las plagas y las enfermedades son la principal limitante para lograr la sostenibilidad en la producción.

Morales (2017) menciona que una de las enfermedades que daña el fruto del aguacate es la denominada mancha púrpura, que afecta el epicarpio del fruto formando manchas pequeñas color púrpura, que al coalescer forman manchas corchosas color café y aunque no provoca daños al endocarpio, disminuye la calidad. Por su parte, Alfaro *et al.* (2017) mencionan que el valor de la producción disminuye en un 60%, al ser comercializada como fruta de segunda calidad en el mercado nacional.

En trabajos previos realizados por López (2021) e Hinojosa (2021) se identificó que *E. perseae* es el agente causal de la mancha púrpura; también, se evidenció que las cepas de este hongo presentan una gran variabilidad morfológica. Además, se ha demostrado la presencia de *E. perseae* en México, a través de diversos trabajos de aislamiento e identificación molecular (Everett, 2011; López, 2021; Hinojosa, 2021).

Según la FAO (2010) para evaluar la importancia de un patógeno además de conocer las características fenotípicas, genéticas, variabilidad de las cepas, síntomas, enfermedad que causa, huésped que afecta y mecanismos de infección, es necesario investigar sobre los factores que influyen en la infectividad, la virulencia, la patogenicidad, control del patógeno y la capacidad de resistencia de este.

De acuerdo con el Grupo de Investigación de Patología Vegetal (2009), la patogenicidad es la capacidad de los parásitos para infectar un huésped y causar enfermedad. Por otro lado, la virulencia es el grado de daño que causa un parásito a su huésped. Los factores de virulencia son todas las características que le permitirán al patógeno causar daño al hospedero, asegurar su sobrevivencia y proliferación en el hospedero, evadir los mecanismos defensivos del hospedero e incrementar su poder de penetración e invasión. La evolución de la patogenicidad y la virulencia en las poblaciones de los parásitos es un factor principal que pueden llevar al fracaso de las estrategias de control de las enfermedades infecciosas y de la emergencia de nuevas enfermedades.

Según López (2006), Alezones, *et al.* (2007) y Harish *et al.* (2018) la variabilidad morfológica que presentan los aislados y el área agroecológica influyen en los grados de virulencia. Por otro lado, Henson *et al.* (1999) mencionan que los pigmentos producidos por los hongos también llegan a ser de gran importancia en esta. En el hongo *E. perseae* se han reportado la producción de elsinocromos que son pigmentos rojos o naranjas (López, 2021) y de acuerdo a Chung (2011) permiten al hongo invadir y permanecer en la planta, además de proporcionarle nutrientes.

Para el control de *E. perseae* llega es importancia diferenciar los síntomas de roña ocasionada por este patógeno de los síntomas ocasionados por otros factores bióticos o abióticos como la alta incidencia de Trips y ácaros, los daños mecánicos (rozadura de viento) con la finalidad de evitar el uso innecesario de productos fungicidas (López, 2021; Hinojosa 2021), ya que además de la antracnosis del aguacate, la roña es la enfermedad a la que se dirige el mayor número de aplicaciones de fungicidas para su prevención (Marroquín, 1999).

Aunque recientemente ya se ha estudiado más acerca de este patógeno, aún se desconoce el grado de virulencia y un método control efectivo, por lo que la presente investigación tiene como objetivo caracterizar la virulencia asociada a la variabilidad morfológica de las colonias de *E. perseae*, así como identificar el producto con mayor efectividad para su control en condiciones *in vitro*.

1.1 HIPÓTESIS

La variabilidad morfológica que presentan los aislados de *E. perseae* influyen en su virulencia y control.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo general

Caracterizar la virulencia, asociada a la variabilidad morfológica de aislados de *E. perseae* y determinar el producto más efectivo para su control en condiciones *in vitro*.

1.2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar morfológicamente aislados de *E. perseae*
- Determinar la virulencia de *E. perseae* mediante pruebas de patogenicidad.
- Evaluar el efecto de diferentes fungicidas sobre distintos aislados de *E. perseae*.

II. ANTECEDENTES

2.1 Importancia del cultivo de aguacate

La Revista Mexicana del comercio exterior (2020) menciona que actualmente México es uno de los principales exportadores de aguacate a nivel mundial, un producto que se consume en 34 países del mundo. Con una producción de un millón 644 mil toneladas, México es líder en su cultivo y exportación. Más de 60 países del mundo son productores de por lo menos 500 variedades de aguacate, entre los cuales México es generador de las cuatro variedades más apreciadas por los consumidores: Hass, Méndez, Criollo y Fuerte.

En un reporte realizado por SAGARPA (2016) se menciona que para el 2030 habrá un aumento en la producción de 3.16 millones de tonelada, de estas se destinarán al consumo nacional 1.02 y 2.14 a las exportaciones, con un aumento en el valor de 4,655 millones de dólares a precio del 2016. También, se estima un aumento en la demanda mundial de 2.84 millones de toneladas (Figura 1).



Figura 1. Producción, volumen y valor de las exportaciones de aguacate. Fuente SAGARPA (2016)

2.2 Mancha púrpura en el cultivo de Aguacate

Como manifiesta Flores (2015), el cultivo del aguacate se puede encontrar en una amplia gama de condiciones ambientales y su productividad depende de un conjunto de factores como heladas, granizadas, vientos fuertes, nutrición, riego, presencia de plagas como trips (*Frankliniella* sp.), araña roja (*Oligonychus punicae*) y enfermedades como mancha púrpura (*E. perseae*) y antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), son las principales limitantes para obtener los rendimientos y calidad de fruto esperado.

Según Morales (2017), la mancha púrpura es una enfermedad que afecta el epicarpio del fruto, mostrando en sus síntomas iniciales manchas pequeñas de color púrpura que con forme avanza la enfermedad estas manchas se agrandan y se convierten a manchas corchosas más oscuras, cuando el daño es muy severo la costra que se produce puede llegar a parecer y dar el aspecto de roña (Figura 2).



Figura 2. Grados de severidad de mancha púrpura en frutos de aguacate.

Palmateer (2006) y Morales (2017) plantean que, en la mayoría de los casos, los daños causados en frutos por *E. perseae* no profundizan hasta la pulpa, al momento de la madurez y durante el consumo del fruto, pero las lesiones pueden ser la entrada de otros organismos.

Morales (2017) dio a conocer que existe una notable preferencia de *E. perseae* por atacar con mayor incidencia y severidad en campo al cultivar Méndez. Citando a Salazar (2018), el aguacate “Méndez No. 1” (Plant Patent 11,173 USA 2002), conocido en México como “Méndez” tiene importancia económica y relevancia debido a que una parte importante de su cosecha anual madura más temprano (verano) que la de ‘Hass’ (otoño-invierno) y esa cosecha llega a alcanzar los precios más altos del año (Figura 3 y 4).



Figura 3. Daños de Mancha púrpura en campo variedad Méndez.



Figura 4. Daños de mancha púrpura en viveros, variedad Méndez.

Mientras que, en vivero, en pruebas de patogenicidad realizadas por López, (2021) e Hinojosa, (2021), en distintas variedades de aguacate inoculadas con *E. perseae*, observaron que la variedad “Flor de María” fue la más susceptible, presentando síntomas más severos (Figura 5).



Figura 5. Daños de Mancha púrpura en plantas variedad “Flor de María” al ser inoculadas, Fuente Hinojosa-Paredes, 2021 y López-Cornejo, 2021.

Espíndola y Álvarez (2019) señalan que la variedad “Flor de María” es procedente de una mutación de Hass y se caracteriza por ser altamente productiva, con frutos de 300 a 400 g, madura en púrpura oscuro y el tipo floración es A. Además, ofrece una gran adaptación a climas cálidos donde la variedad Hass no tiene un buen crecimiento debido al estrés que presenta por el calor, esto ofrece posibilidades para aquellos productores que no están en la zona ideales para la producción de aguacate.

2.3 Desarrollo de la enfermedad

Marroquín (1999) menciona que *E. perseae* requiere de alta humedad relativa (mayor del 80%) y altas temperaturas (10 a 26 °C) para su óptimo desarrollo. El periodo más susceptible del fruto es durante el cuajado a un tercio o a un medio de su tamaño final, ya que, al madurar el fruto, el epicarpio se endurece. Los daños a los frutos por insectos, roedores o golpes, también pueden favorecer la entrada de este patógeno.

2.4 *Elsinoe perseae* (= *Sphaceloma perseae*) agente causal de mancha púrpura

Taxonómicamente, la especie *E. perseae* (Jenkins, 1934) pertenece a la división Ascomycota, clase Dothideomycetes, orden Myriangiales, familia Elsinoeaceae, género *Elsinoe* (Bary 1874).

E. perseae presenta dos tipos de crecimiento micelial en estroma de tipo cerebroide, y crecimiento viscoso o pulvinado (Figura 6) (Everett *et al.*, 2010; López, 2021; Hinojosa, 2021).

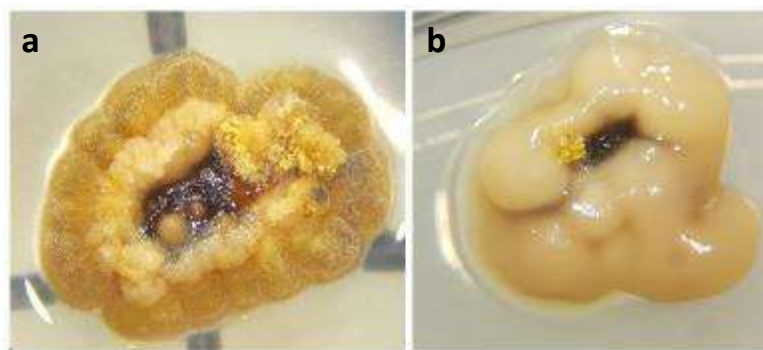


Figura 6. Tipos de crecimiento de *E. perseae* en medio de cultivo PDA. a) Cerebroide, b) Viscoso.

El inferior de las cajas Petri, las colonias jóvenes son de color claro y se oscurecen con la edad, (Everett *et al.*, 2011).

López (2021) e Hinojosa (2021) reportaron que al inicio del desarrollo se observan colonias generalmente de color amarillo pajizo a anaranjado y conforme se realizan réplicas de la cepa, las colonias presentan variabilidad morfológica (colonias de múltiples colores y elevaciones) y que una cepa puede variar de coloración y de forma con la edad si se transfiere a cajas Petri en varias ocasiones.

El género *Elsinoe* se caracteriza pues por la gran variación en la morfología de las colonias que dependen de la ubicación geográfica de donde se obtengan los aislados y el tipo de medio de cultivo donde se reproduzcan (Othip *et al.*, 2009) (Figuras 7, 8 y 9).



Figura 7. Variabilidad morfológica en cepas de *E. perseae* aisladas de diferentes áreas agroecológicas.



Figura 8. Cambios en la morfología de los aislados influenciada por la edad.

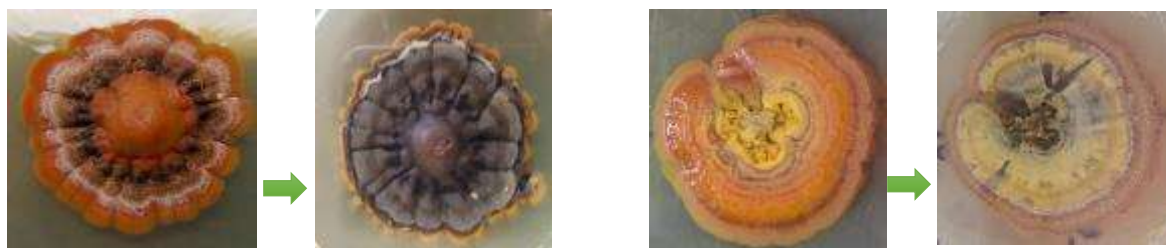


Figura 9. Cambios morfológicos en los aislados de *E. perseae* influenciado por el medio de cultivo.

Al igual que otras especies de *Elsinoe*, el crecimiento de las colonias de *E. perseae* es lento, alcanzando un promedio de 2.5 cm de diámetro en dos meses de incubación a 28 °C (Everett *et al.*, 2011; Fan *et al.*, 2017; López, 2021; Hinojosa, 2021). (Figura 10).

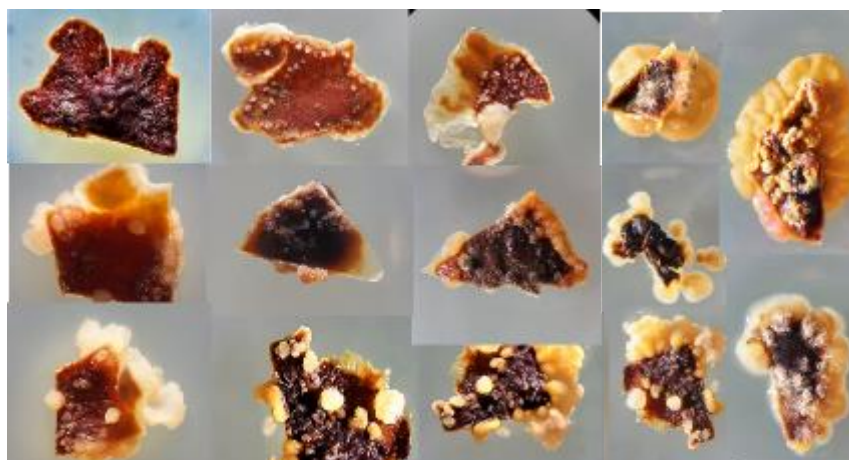


Figura 10. Crecimiento de *E. perseae* reportado. Fuente Hinojosa-Paredes, 2021.

Crous *et al.* (2009) describen que el aislamiento de *Elsinoe* sp. en cultivo puro es muy complicado debido a su crecimiento lento; además, Fan *et al.* (2017) declaran que debido a esto es fácil que otras cepas contaminen el medio e impidan su desarrollo, como es el caso de *Colletotrichum* sp. que penetra como invasor secundario.

Horst (2013) destaca que el género *Elsinoe* presenta acérvulos en forma de disco o cojín, con aspecto ceroso. En tanto que, López (2021) e Hinojosa (2021) declaran que el crecimiento de las colonias de *E. perseae*, en la primera etapa, el micelio es filamentoso y con forme se desarrolla cambia a micelio toruloso, que con el tiempo se compacta hasta formar el estroma que da el aspecto cerebroide a la colonia. También describieron los conidios de *E. perseae* pequeños (3-4 μm), ovalados y que solo se observan en mayor cantidad al inicio del desarrollo de las colonias, una vez que la colonia desarrolla el estroma es difícil su identificación (Figura 11 y 12).



Figura 11. Acervulos de *E. perseae* al realizar cortes histológicos. Fuente López-Cornejo, 2021.

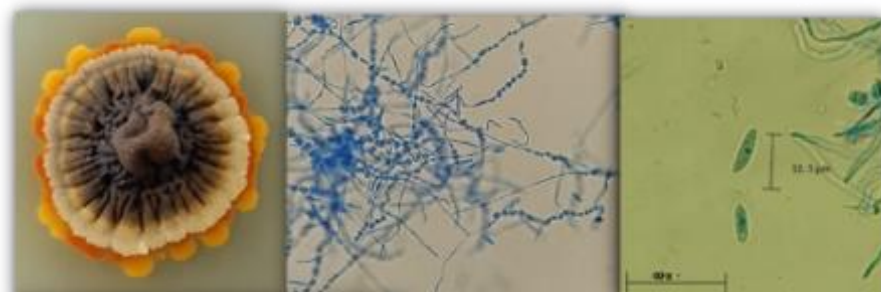


Figura 12. Aislado, micelio y conidios de *E. perseae*. Fuente Hinojosa-Paredes, 2021.

En cepas de dos meses de desarrollo *in vitro*, López (2021) observó monofiálides simples de aproximadamente 9 a 12 μm y también indicó que, al igual que en otras especies del género *Elsinoe*, la especie *E. perseae* presenta la producción de elsinocromos A, este nombre fue propuesto por Bitancourt y Jenkins en 1934 y fueron observados en colonias con más de dos meses de desarrollo (Everett *et al.*, 2011; Fan *et al.*, 2017) (Figura 13).



Figura 13. Producción de elsinocromos en aislados de *E. perseae*.

“Los elsinocromos son pigmentos rojos o naranjas producidos por diversas especies de fitopatógenos del género *Elsinoe*” (Weiss *et al.*, 1987). Entre las principales especies de *Elsinoe* que producen este tipo de compuesto se encuentran: *E. manihoticola* (Rademacher

et al., 1982), *E. tectificae* (Cheewangkoon *et al.*, 2009), *E. fawcettii* (Hui & Kuang, 2008). Según Hui y Kuang (2008), los elsinocromos inducen toxicidad celular en las células vegetales al funcionar como compuestos fotodinámicos que generan especies reactivas de oxígeno y desempeñan un papel importante en la virulencia fúngica.

2.5 Importancia de las melaninas

Según Langfelder *et al.* (2003) Las melaninas fueron reportadas en los hongos y son los que les dan coloración que van desde iomelaninas, feomelanina de color amarillas o rojas, (Carreira *et al.*, 2001; Wakamatsu e Ito, 2002; Nosanchuk y Casadevall, 2006; Kogej *et al.*, 2006; Urán y Cano, 2008), y las betalainas que son pigmentos que van de violetas-rojizos hasta amarillos-anaranjados, respectivamente (Stintzing y Carle, 2004).

Las melaninas se asocian con la resistencia a estrés generado por agentes físicos y químicos y también a la virulencia y/o la patogénesis de muchos hongos (Henson *et al.*, 1999). De acuerdo con Jacobson (2000), uno de los roles más importantes de las melaninas es proteger a los componentes estructurales de la pared celular del hongo frente a la acción de enzimas hidrolíticas como glucanasas y proteasas liberadas por el hospedante.

Estudios realizados en *Aspergillus nidulans*, *Monilinia fructicola* y *Venturia inaequalis* confirman el rol protector de la melanina frente a la digestión de la pared celular fúngica por enzimas hidrolíticas. Asimismo, cuando las paredes celulares de hongos pigmentados son atacadas por microorganismos, las zonas degradadas son las que están libres o presentan menos melanina (Bell y Wheeler, 1986; Plonka y Grabacka, 2006).

Además, Langfelder *et al.*, (2003) mencionan que las melaninas fúngicas también han sido relacionadas con la patogénesis en plantas, como en el caso de *Colletotrichum lagenarium* y *Magnaporthe grisea* agente causal del tizón del arroz.

También, en patógenos de plantas, la melanina protege al hongo de los radicales libres de oxígeno que la planta genera como parte de su mecanismo de defensa (Henson *et al.*, 1999).

Los elsinocromos son pigmentos que se asemejan estructuralmente a los producidos por varias especies de hongos como son la aspergilina producida por *Aspergillus niger* (Lund *et al.*, 1953); alteichin, altertoxin, alterlosin y stemphytoxin producidos por *Alternaria* spp. (Davis y Stack, 1991; Stack *et al.*, 1986; Stierle y Cardellina, 1989) y *Stemphylium botryosum* (Davis y Stack, 1991); cercosporina producida por muchas *Cercospora* spp. (Daub *et al.*, 2005) y *Scolicotrichum graminis* (Tabuchi *et al.*, 1994); hipomicina A producida por *Hypomyces* spp. (Liu *et al.*, 2001); hipocrelin A/B producida por *Hypocrella bambusae*; shiraiacromos producidos por otro patógeno de bambú, *Shiraia bambusicola* (Wu *et al.*, 1989); y phleicromo, calfostin C, cladocromo y ent-isophleicromo producidos por *Cladosporium* spp. (Arnone *et al.*, 1988; Weiss *et al.*, 1987; Yoshihara *et al.*, 1975).

2.6 Virulencia

De acuerdo con Casadevall y Pirofski (2009), la virulencia es el grado de patogenicidad de un microorganismo y se usa para describir o comparar cepas dentro de una especie, estos favorecen a los patógenos en la invasión y la resistencia a las defensas del huésped. La comprensión de las interacciones entre un hospedero y un microorganismo es esencial para la prevención y control eficaz de la mayoría de los procesos infecciosos (Trigo, 2006).

Como plantea Casadevall y Pirofski (2003) la virulencia microbiana resulta de la interacción entre el hospedero y el microorganismo. Este último puede ser altamente virulento en un hospedero susceptible, pero de baja virulencia en un hospedero inmunizado contra ese microorganismo. Sin embargo, en hospederos susceptibles se pueden observar diferencias en la virulencia de microorganismos de una misma especie o cepa (Soriano *et al.* 2004). Estas diferencias se deben a la expresión de diferentes factores de virulencia, que se

define como los componentes microbianos que pueden causar daño al hospedero (Casadevall & Pirofski, 1999).

Entre algunos factores de virulencia en hongos se pueden mencionar características como la morfología, diferentes cepas, componentes bioquímicos o estructura fúngica de la pared celular, transición dimórfica, cápsulas, enzimas o toxinas (Casadevall y Pirofski, 2003). En el caso de *E. perseae* se ha reportado la producción del elsinocromo (López, 2021)

El elsinocromo producido por muchas especies de *Elsinoe* spp. es un policétido fotosensibilizante y es claramente un factor de virulencia crítico, contienen perilenoquinonas una toxina que funciona absorbiendo energía luminosa y generando ROS (especies reactivas de oxígeno), que mata las células huésped (Daub y Chung, 2009). La producción de elsinocromos puede proporcionar a *Elsinoe* spp. acceso a los nutrientes y permite que el patógeno prospere dentro de los tejidos del huésped (Chung, 2011).

Por otro lado, la variabilidad morfológica también influye en la virulencia tal como describe López (2006), con el hongo *Histoplasma capsulatum*, demostró que la morfología de éste (micelio y levadura) presentó diferente grado de virulencia, siendo la forma de levadura la que corresponde a la forma virulenta, de este mismo hongo se obtuvieron cepas provenientes de diversas regiones geográficas en los que se demostró diferencia en su virulencia.

Otro estudio realizado por Alezones *et al.* (2007), en maíz con 25 aislados de *Rizotocnia solani*, mostraron que cada aislamiento tuvo un comportamiento particular de virulencia y esto dependió de la variabilidad de las características fenotípicas de cada uno de los aislamientos. También, Harish *et al.* (2018) encontraron que diferentes aislados de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* presentaron diferentes grados de virulencia en plantas de tomate y se relacionó con la variabilidad en el crecimiento, producción de conidios, características fenotípicas y genéticas que presentaba cada uno de los aislados.

2.7 Control de enfermedades fungosas

Las enfermedades son una de las principales fuentes de daño para las plantas y los cultivos, son causadas por un número diverso de organismos fitopatógenos. A nivel mundial, los hongos son la principal causa de pérdidas en cultivos (Smart, 2003; McGrath, 2004; Correia y Delerue, 2016).

Los fungicidas son los productos utilizados para el control de las enfermedades provocadas por hongos. Gan y Wickings (2017) aluden que los productos de síntesis química son creados por el hombre de manera sintética y se han empleado por décadas para el control de enfermedades fungosas. De acuerdo con Andrade *et al.* (2019), el uso de los fungicidas está relacionado con la generación de resistencia, daños al ambiente y la salud humana. Por lo que, Pérez *et al.* (2018) consideran que el control orgánico es una de las prácticas eficientes y ecológicamente viables para el desarrollo de una agricultura sostenible. Estos fungicidas suelen estar basados en cobre, en azufre, o en extractos de plantas o microorganismos con propiedades antifúngicas (Smart, 2003; McGrath, 2004; Correia y Delerue, 2016).

Los fungicidas actúan produciendo efectos en la planta, el medio ambiente y el patógeno. Hay productos químicos que controlan las enfermedades mediante los efectos que producen en la planta afectada o en el medio ambiente, alterando los niveles de infección, pero sin afectar al patógeno de una manera directa. Esta interferencia puede efectuarse por alteración de los niveles de carbohidratos, estímulo de producción de defensas de la planta y alteración física de la planta. Un ejemplo sería el cobre y las sales de mercurio que estimulan la producción de fitoalexinas en la planta, las cuales actúan como sustancias tóxicas contra los patógenos (Agrosavia, 2011)

También se suelen agrupar atendiendo a sus mecanismos de acción. Pérez *et al.* (2005) expresa que son muy variados, ya que actúan sobre distintos procesos bioquímicos o fisiológicos de los hongos. Estos mecanismos son relativamente independientes de su estructura química, puesto que fungicidas que pertenecen a grupos estructurales diferentes

pueden actuar sobre una misma ruta metabólica o de biosíntesis de un compuesto determinado.

A continuación, se mencionan algunos mecanismos de acción de los fungicidas según Pérez *et al.* (2005).

- A) Síntesis de ácidos nucleicos. Inhibición de la síntesis de ADN.
- B) Mitosis y división celular. Pertenecen a este grupo bencimidazoles y tiofanatos que inhiben el ensamblaje de las subunidades de β -tubulina en la mitosis.
- C) Respiración. Una familia importante dentro de este grupo está formada por los fungicidas llamados estrobilurinas o QoI ("Quinone Outside Inhibitors"), que inhiben el complejo mitocondrial citocromo bc1 (complejo III) de la cadena respiratoria. Como son los metoxi-acrilatos (azoxistrobin) y los metoxi-carbamatos (piraclostrobin).
- D) Biosíntesis de esteroides de membranas. Actúan inhibiendo la biosíntesis de ergosterol (fungicidas IBE), un esteroide que forma parte de las membranas de las células fúngicas. En este grupo se encuentran las siguientes familias: piperacinas, piridinas, pirimidinas, imidazoles y triazoles.
- E) Síntesis de glucanos y pared celular. En este epígrafe se incluyen inhibidores de quitina sintasa como los peptidil pirimidina nucleósidos (polioxinas).
- F) Acción multisitio. Comprende a los ditiocarbamatos (maneb, mancozeb y ziram), ftalimidas (captan, folpet) y cloronitrilos (clortalonil). No son fungicidas de acción específica, sino que tienen un amplio espectro de acción.

2.8 Fungicidas químicos

Azoxystrobin: Este fungicida pertenece al grupo químico Metoxi-acrilatos que inhibe la respiración mitocondrial en las células de los patógenos (FRAC, 2016) y de acuerdo con ROTAM (2016) detiene la transferencia de electrones entre el citocromo b al c1, en el sitio de oxidación del ubiquinol, causando que no se forme el ATP, energía para el trabajo celular en el complejo III del citocromo bc1. Puede ser transportado de forma acrópeta (de abajo hacia arriba en las hojas) y de forma translaminar dentro de las hojas (SYNGENTA, 2017).

En un estudio realizado por Alburqueque y Gusqui (2018), en pruebas *in vitro*, observaron que Azoxystrobin logró un porcentaje de inhibición de micelio (PICM) en *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Penicillium* spp. con un valor superior a 99.5% e inhibió 70.25% y 75.25% a *Lasiodiplodia theobromae* y *Colletotrichum gloeosporoides*, 52.25% y 49% a *Rhizoctonia solani* y *Botrytis cinerea* y solo 34.75% a *Phytophthora infestans*.

Tiabendazol: Este fungicida pertenece al grupo químico de los benzimidazoles. Su modo de acción es sistémico, protector y curativo. Inhibe la mitosis y división celular, afectando el crecimiento y desarrollo del patógeno además de inhibir de la formación de beta-tubulina (FRAC, 2017). En pruebas de control *in vitro* el Tiabendazol tuvo una eficacia en *R. solani*, *F. oxysporum*, *L. theobromae* y *Penicillium* spp. (Alburqueque y Gusqui, 2018).

Fludioxonil y Cyprodinil: el Fludioxonil es un fenilpirrol de contacto y actúa inhibiendo la proteína quinasa mitógeno activada (MAP) involucrada en la ruta de transducción de la señal osmoregulatoria (síntesis del glicerol). Estudios *in vitro* del fludioxonil revelaron la inhibición de la germinación conidial, del tubo germinativo y del crecimiento del micelio (Syngenta, 2021). El cyprodinil afecta la síntesis de metionina y la secreción de enzimas hidrolíticas de las células de los hongos (FRAC, 2017).

En conclusiones de Arahana *et al.* (2012), el fungicida a base Fludioxonil y Ciprodinil (Switch) funcionó de manera eficaz para inhibir el crecimiento de *Monilinia* de manera *in*

vitro; sin embargo, las esporas del hongo lograron germinar. Este fungicida también ha sido utilizado para control de *Botritis* inhibiendo un 100% al hongo (Larios *et al.*, 2021). También se aplica para hacer lavados de postcosecha en algunos cultivos (Arahana *et al.*, 2012). Actualmente se ha demostrado su alta eficacia contra *Botritis* y es especialmente utilizado para el control de esta enfermedad en frutillas (SYNGENTA, 2020).

Propiconazol: Es un fungicida sistémico (es absorbido rápidamente a través de la cutícula y transportado en forma acrópeta que inhibe la biosíntesis del ergosterol, elemento esencial de las membranas celulares de los hongos. Ejerce su acción preventiva, curativa y erradicante, en especial sobre las fases iniciales de la enfermedad (FRAC, 2019).

Pruebas de control *in vitro* contra *Curvularia lunata* realizados por Takede *et al.* (2017) indicaron que el propiconazol tuvo un porcentaje de inhibición de 75 a 100%. Por otro lado, Sánchez *et al.* (2021) reportaron una inhibición del 100% en aislados de *Colletotrichum* spp. causante de antracnosis en papaya.

El pyraclostrobin: De la familia de las estrobilurinas, sólo o en combinación con otros fungicidas presenta un modo de acción que se basa en la inhibición de la respiración mitocondrial. El mecanismo de acción del pyraclostrobin está enfocado en la inhibición de la cadena transportadora de electrones, actuando en el complejo III sobre el sitio de reducción de la ubiquinona oxidasa (QoI) (FRAC, 2019).

Además, tiene otros efectos fisiológicos en la planta como el aumento de la tasa fotosintética, reducción de la tasa de respiración, mejora la asimilación de nitrógeno e incrementa la actividad de las enzimas anti-estrés. (IAUSA, 2022).

En estudios realizados por Araya (2013), de manera *in vitro*, se obtuvo un porcentaje de inhibición de 60% en el crecimiento del micelio de *Fusarium oxysporum*. Según Martínez *et al.* (2017), el pyraclostrobin inhibió de manera importante el crecimiento de *Alternaria* sp. en condiciones *in vitro*. De igual forma, Karadimos *et al.* (2005) confirmaron la efectividad de pyraclostrobin contra *Cercospora beticola* en plantas de remolacha azucarera a tasas de aplicación muy bajas y realizadas luego de que los síntomas de la enfermedad aparecieron.

2.9 Fungicidas orgánicos

El cobre, el azufre, los aceites y los bicarbonatos están entre los productos más utilizados en huertos con manejo orgánicos. Por lo general, requieren aplicaciones más frecuentes que los productos sintéticos. El cobre además de ser un elemento esencial para el desarrollo de la planta actúa como fungicida y bactericida, ya que presenta acción protectora multisitio, que actúa sobre 6 estructuras diferentes y/o procesos de la célula del hongo (núcleo, ribosoma, mitocondria, retículo endoplasmático liso y rugoso, membrana plasmática y cromatina) (Adama, 2021).

Sulfato de cobre: contiene entre 20% y 25% de cobre metal. Su menor contenido en cobre y su mayor tamaño de partícula hace que las dosis que se aplican sean mucho mayores respecto a las otras formulaciones, por lo que su costo por hectárea es mayor. Además, puede resultar fitotóxico y tener complicación de mezclas con otros productos fitosanitarios. En bioensayos con sulfato de cobre pentahidratado se observó que inhibe 100% a *P. infestans* *in vitro* y en menor medida a *C. gloeosporoides* y *R. solani*. (Alburquerque & Gusqui, 2018),

Oxicloruro de cobre: 35-70% de cobre metal, posee poca adherencia y persistencia y, por lo tanto, es menos fitotóxico. En condiciones *in vitro*, el oxicloruro de cobre logró inhibir entre 70% y 80% a *Verticillium theobromae*, *Fusarium proliferatum*, *C. gloeosporoide*, *Alternaria alternata* (Perera *et al.*, 2010).

Gluconato de cobre: Resulta de combinar la sal de cobre con el ácido glucónico como elemento complejante, funcionando este último para mejorar la asimilación del cobre en el interior de la planta. El gluconato fue echo para ser usado como fertilizante y corrector de carencias de cobre. De hecho, el uso del complejo está pensado para aumentar su asimilación por la planta, tanto en aplicación foliar como en fertirrigación. Sin embargo, cada vez son más los productores y técnicos que lo recomiendan por su acción preventiva contra el desarrollo de enfermedades causadas por hongos y bacterias, y no como corrector de carencias de cobre. Aunque aún falta por hacer muchos ensayos tanto en campo como en

laboratorio para corroborar su acción anti fúngica. El Gluconato de cobre se ha probado recientemente contra el crecimiento de *Curvularia eragrostidis* con una concentración de 0.025%; sin embargo, no inhibió totalmente el crecimiento del hongo (García *et al.*, 2021).

Aceite de gobernadora (*Larrea tridentata*): Los metabolitos secundarios de la resina entre los que destacan lignanos fenólicos (ácido dihidroguaiarético, hemi-norisoguaiacin, ácido nordihidroguaiarético, nordihidroguaiacin) y flavonoides (apigenina, kaempferol) son los que le otorgan un efecto antifúngico, actuando como un potente inhibidor en la cadena de transporte de electrones bloqueando el paso del oxígeno, también afecta a los agentes intercaladores en la hélice doble del ADN, Inhibe la germinación de esporas y bloquea la síntesis de sustancias vitales en la pared, una ruptura de la misma y posteriormente su plasmólisis. El ácido nordihidroguaiarético tiene potencial para el control de hongos productores de aflatoxinas, (Arteaga *et al.*, 2005, Gowan, 2022, Vargas *et al.*, 2006, Lira 2003,).

Las propiedades antifúngicas de *L. tridentata* han sido corroboradas con trabajos desde hace aproximadamente 40 años mediante ensayos *in vitro*. Se ha demostrado actividad antifúngica *in vitro* contra *Aspergillus flavus*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp. y *Alternaria solani*, *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum* y *Rhizopus oryzae* entre otros hongos fitopatógenos, (Vargas *et al.*, 1997; López *et al.*, 2005; Lira *et al.*, 2003; Peñuelas *et al.*, 2015).

2.10 Efecto de los fungicidas

Varios autores sugieren que el efecto de los fungicidas depende de la variabilidad de los aislados y de las áreas de donde provengan éstos, tal es el caso de Wong *et al.* (2007) que mencionan que los aislamientos provenientes de áreas regularmente expuestas a los fungicidas muestran por lo general una concentración efectiva media (CE50) mayor que la de aislamientos de zonas sin uso frecuente de fungicidas, debido a la presión de selección que ejerce el agroquímico y que en algunos casos, la población puede volverse insensible al fungicida, perdiéndose una estrategia de manejo de la enfermedad.

Por otro lado, Salazar *et al.* (2012) destacan que en aislados de *Colletotrichum* sp. provenientes de diferentes zonas muestreadas productoras de bananos se observaron diferencias significativas para el control *in vitro*. Además, Espinoza *et al.* (2017) manifiestan que en aislados de *Colletotrichum acutatum* provenientes de dos regiones productoras de fresa del estado de Michoacán y sometidos a los fungicidas metil tiofanato y azoxystrobin respondieron diferente a cada ingrediente activo al que se sometieron, variando su respuesta de acuerdo a las dosis a las que se expusieron.

Martin (2012) expresa que se encontró variabilidad fenotípica y genética en aislados de *Phaeocrea monium aleophilum* y al someterlos a pruebas de control con fungicidas éstos tuvieron diferentes reacciones siendo algunos resistentes y otros sensibles al mismo ingrediente activo. Pons *et al.* (2020) encontraron gran variabilidad en aislados de *Phytophthora capsici*, agente causal de la marchitez del chile, y al someterlo a pruebas de control *in vitro* la respuesta de los aislados fue diferente, presentando resistencia intermedia al mefenoxam y otros resultaron muy sensibles a la molécula a la que fueron expuestos.

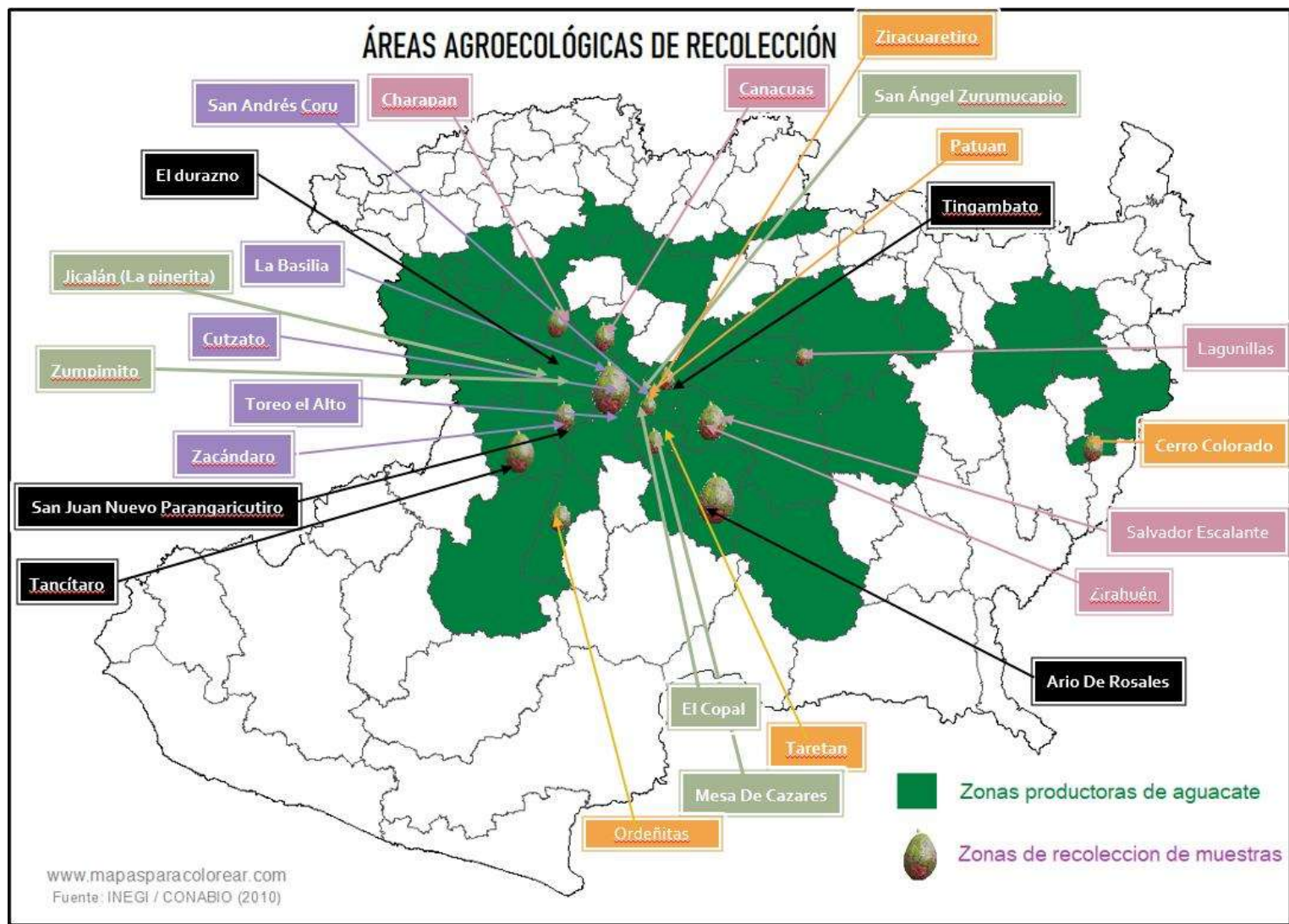
2.11 Vida media de los fungicidas

De acuerdo con IRET (2022) la vida media de un fungicida es el tiempo requerido (en días) para convertir el 50% de éste en otra(s) sustancia(s), en cualquiera de las matrices o compartimentos ambientales (agua, aire, suelo, biota) y según Técnico agrícola (2013), los productos orgánicos pierden efecto entre 1 y 7 días aunque depende de la formulación del producto y condiciones ambientales. Por otro lado, los productos químicos llegan a tener una mayor duración de su efecto por ejemplo para fludioxonil+cyprodinil es de un promedio de 10 a 30 días, para piraclostrobin de 2 a 36 días y para azoxystrobin es de 17 a 30 días. Mientras que, para propiconazol es de hasta 85 días y para tiabendazol hasta de 120 días (Syngenta, 2022). Aunque según NPIC (2022) se han encontrado una amplia variedad de vidas medias para el mismo fungicida bajo diferentes condiciones ambientales.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Colecta de muestras.

Se colectaron frutos de aguacate en diferentes huertos del estado de Michoacán, los cuales se colocaron en bolsas de papel estraza de 26 x 12.5 x 6.5 cm para evitar la humedad y el desarrollo de hongos que dañen la muestra. Para la colecta de los frutos, las áreas agroecológicas se dividieron de acuerdo con la altitud metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), que de acuerdo con Anguiano *et al.* (2007) destacan tres tipos de climas para el desarrollo favorable del cultivo de aguacate y expresar su máximo potencial productivo: húmedo (entre 1,600 y 1,800 m.s.n.m.), semicálido subhúmedo (entre 1,200 y 1,600 m.s.n.m.) y templado subhúmedo (entre 1,900 y 2,300 m.s.n.m.). Con base en estos datos, se realizó una tabla de rangos que va desde los 1,200 hasta los 2,300 m.s.n.m., los cuales se distribuyeron en cinco áreas agroecológicas donde se realizó las colectas de los frutos de aguacate: área uno (1,200-1,420 m.s.n.m.), área dos (1,421-1,640 m.s.n.m.), área tres (1,641-1,860 m.s.n.m.), área cuatro (1,861-2,080 m.s.n.m.) y área cinco (2,081- 2,300 m.s.n.m.). Se obtuvieron cinco aislados por área, dando un total de 25. El aislamiento de *E. perseae* se llevó a cabo en condiciones de laboratorio (Figura 14 y Cuadro 1).



- Área 1 (1,200-1,420 msnm)
- Área 2 (1,421-1,640 msnm)
- Área 3 (1,641-1,860 msnm)

Figura 14. Sitios de colect

- Área 4 (1,861-2,080 msnm)
- Área 5 (2,081- 2,300 msnm)

Cuadro 1. Descripción de sitios de colecta

Áreas agroecológicas				
Uno (1,200-1,420 m.s.n.m.)	Dos (1,421-1,640 m.s.n.m.)	Tres (1,641-1,860 m.s.n.m.)	Cuatro (1,861-2,080 m.s.n.m.)	Cinco (2,081- 2,300 m.s.n.m.)
CERRO COLORADO <i>19°31'69''N,</i> <i>100°46'58''O,</i> 1,243 m.s.n.m. 	ZUMPIMITO <i>19°37'29''N,</i> <i>100°55'4''O,</i> 1600 m.s.n.m. 	ZACÁNDARO <i>19°35'94''N,</i> <i>102°18'58''O,</i> 1700 m.s.n.m. 	ARIO DE ROSALES <i>19°20'72''N,</i> <i>101°70'80''O,</i> 1910 m.s.n.m. 	CANACUAS <i>19°64'38''N,</i> <i>102°04'83''O,</i> 2200 m.s.n.m. 
ORDEÑITAS <i>19°23'50''N,</i> <i>102°18'94''O,</i> 1,060 m.s.n.m. 	MESA DE CAZARES <i>19°37'75''N,</i> <i>101°85'39''O,</i> 1,560 m.s.n.m. 	CUTZATO <i>19°36'63''N,</i> <i>102°13'47''O,</i> 1700 m.s.n.m. 	TINGAMBATO <i>19°50'19''N,</i> <i>101°85'25''O,</i> 1980 m.s.n.m. 	ZIRAHUEN <i>19°54'167''N,</i> <i>101°73'19''O,</i> 2090 m.s.n.m. 
PATUAN <i>19°39'16''N,</i> <i>101°91'50''O,</i> 1260 m.s.n.m. 	SAN ÁNGEL ZURUMUCAPIO <i>19°44'77''N,</i> <i>101°88'86''O,</i> 1600 m.s.n.m. 	TOREO EL ALTO <i>19°46'00''N,</i> <i>102°00'30''O,</i> 1800 m.s.n.m. 	SAN JUAN NUEVO <i>19°41'66''N,</i> <i>102°12'86''O,</i> 1880 m.s.n.m. 	LAGUNILLAS <i>19°56'25''N,</i> <i>101°41'58''O,</i> 2100 m.s.n.m. 
ZIRACUARETIRO <i>19°43'57''N,</i> <i>101°92'93''O,</i> 1380 m.s.n.m. 	PAREO <i>19°33'13''N,</i> <i>102°45'08''O,</i> 1430 m.s.n.m. 	LA BASILIA <i>19°46'25''N,</i> <i>102°06'50''O,</i> 1860 m.s.n.m. 	TANCITARO <i>19°33'75''N,</i> <i>102°36'30''O,</i> 2080 m.s.n.m. 	CHERAN <i>19°68'66''N,</i> <i>101°95'47''O,</i> 2380 m.s.n.m. 
TARETAN <i>101°918'33''O,</i> <i>19°33'38''N,</i> 1130 m.s.n.m. 	JICALAN (LA PINERITA) <i>19°38'33''N,</i> <i>102°07'61''O,</i> 1600 m.s.n.m. 	SAN ANDRÉS CORU <i>19°46'75''N,</i> <i>101°94'50''O,</i> 1700 m.s.n.m. 	EL DURAZNO <i>19°08'25''N,</i> <i>101°66'00''O,</i> 1 900 m.s.n.m. 	SALVADOR ESCALANTE <i>19°40'64''N,</i> <i>101°64'00''O,</i> 2239 m.s.n.m. 

3.2 Aislamiento del patógeno

Se preparó medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), 39 g en 1 L de agua destilada, se calentó y se mantuvo en constante agitación para lograr su mejor disolución. Se esterilizó en una autoclave a 120 °C durante 15 min, se dejó enfriar y se agregaron 10 mL de ácido tartárico para inhibir el crecimiento de bacterias. Posteriormente, el medio de cultivos se vertió a cajas Petri, las cuales se mantuvieron a 26°C para favorecer la solidificación (Figura 15).



Figura 15. Preparación de medio de cultivo PDA.

Para el aislamiento, los frutos de aguacate se lavaron con agua corriente y enseguida con agua destilada para eliminar contaminantes. Se tomaron lesiones frescas de mancha púrpura del epicarpio del fruto en fragmentos de 5x5 mm. Para la desinfestación se utilizó la metodología propuesta por (Zhi Li *et al.*, 2008) con modificaciones hechas por López (2021) e Hinojosa (2021) la cual consistió en colocar los fragmentos de tejido del fruto de aguacate en hipoclorito de sodio al 6% durante 90 s, seguido de un enjuague con agua destilada estéril, un segundo lavado con etanol al 70% durante 60 s y un último enjuague con agua destilada estéril. El tejido se colocó en toallas de papel esterilizadas para absorber la humedad. Una vez que los fragmentos del material vegetal se desinfestaron, se realizó la siembra en cajas Petri con medio de cultivo PDA. La siembra de dicho material se realizó de manera equidistante, las cajas se sellaron con plástico parafilm, se incubaron a 28°C, con 80% de humedad, durante 72 h, transcurrido el tiempo, se revisaron las cajas Petri para observar el crecimiento de los hongos. De acuerdo con las características morfológicas de cada hongo se determinó si el desarrollo correspondía a *E. perseae*, tomando como referencia las cepas aisladas por López (2021) e Hinojosa (2021) y la cepa ATCC 11190 (*E. persea*) depositada

en el cepario de Miami, Florida, EUA y que fue facilitada por el CIATEJ. Los aislados con morfología de *E. perseae* se purificaron por punta de hifa (Figura 16).

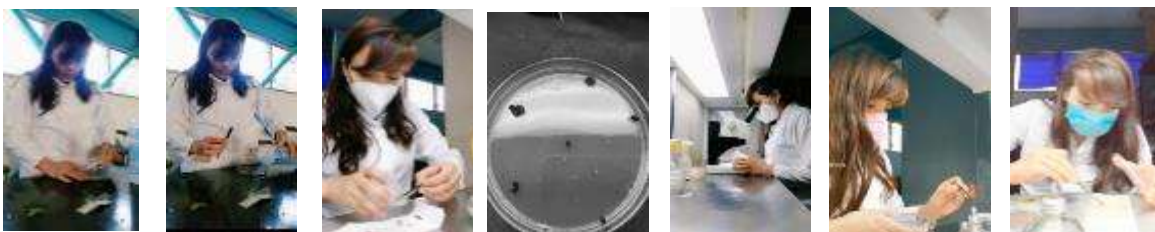


Figura 16. Desinfestación, aislamiento, monitoreo y purificación de aislados de *E. perseae*.

3.3 Selección de cada aislado por áreas agroecológicas

De los 25 aislados, de las diferentes áreas agroecológicas, se seleccionó un aislado de cada área para trabajar, esto debido al tiempo que se requiere para trabajar con los aislados de *E. perseae*, por su lento crecimiento y a la gran variabilidad morfológica que presenta. La manera de seleccionarlos fue con el programa Excel, seleccionando aleatoriamente un aislado de cada área. De los aislados seleccionados se realizaron replicas para las pruebas de patogenicidad, caracterización morfológica, así como para las pruebas de control *in vitro*. Las condiciones en las que se mantuvieron los aislados fueron similares; esto es, misma temperatura 28°C, humedad 80%, cantidad (10 mm) y tipo de medio de cultivo (PDA) y misma edad de los aislados al momento de realizar las pruebas *in vitro*, patogenicidad y caracterización (Figura 16).



Figura 17. Selección y replica de cada aislado de *E. perseae*.

3.4 Caracterización morfológica

El color de las colonias se determinó utilizando las tablas de colores de HSV Colour Plates For Mycology by David Malloch (El sistema HSV de definición de color está organizado en 44 láminas que representan 43 tonos relacionados con el Sistema RGB donde los colores se expresan como combinaciones de rojo, verde y azul. Este sistema se basa en tres atributos de color: tono, saturación y valor. El tono es el color real, la saturación es la intensidad de ese color y el valor es la claridad o brillo del color (Figura 18).

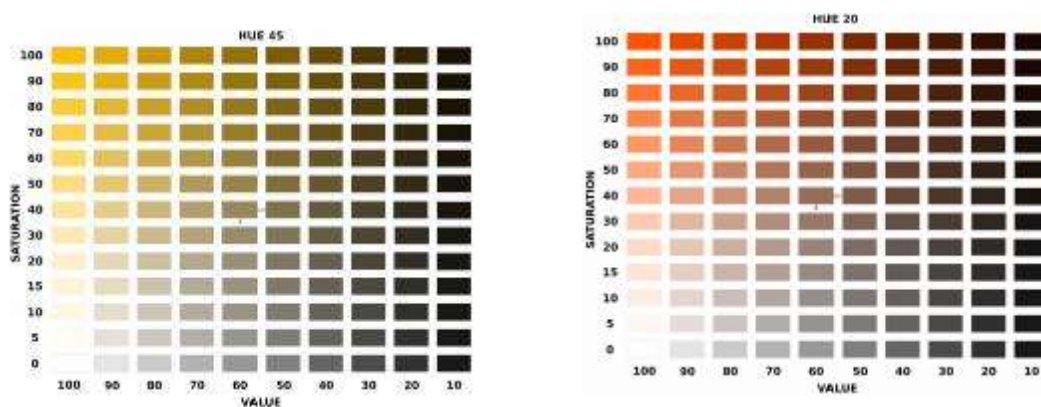


Figura 18. Tablas de colores HSV (Hue, Saturation and Value)

Para las texturas de las colonias, se tomaron como referencia las texturas descritas para otras especies de *Elsinoe* de acuerdo con Li *et al.* (2018) y Fan *et al.* (2017), así como de los aislados de *E. perseae* obtenidos por López (2021) e Hinojosa (2021). considerando si el crecimiento es cerebriforme o viscoso, con o sin elevaciones en el centro, contornos y márgenes irregulares, con o sin micelio aéreo. Se midió en mm, la tasa de crecimiento del hongo de acuerdo con el procedimiento establecido por Mead (1993), mediante la siguiente ecuación:

$$Tc = \frac{Cf - Ci}{Tf - Ti}$$

Donde:

Tc: tasa de crecimiento, Cf: Crecimiento diametral final expresado en mm, Ci: Crecimiento diametral inicial (día uno) expresado en mm, Tf: Tiempo final en el que termina

el crecimiento fúngico (día final) y Ti: Tiempo inicial (día uno). Se tomaron los radios de crecimiento de la colonia fúngica del día inicial y final.

Se midió la producción de conidios utilizando la cámara Neubauer (Figura 19).

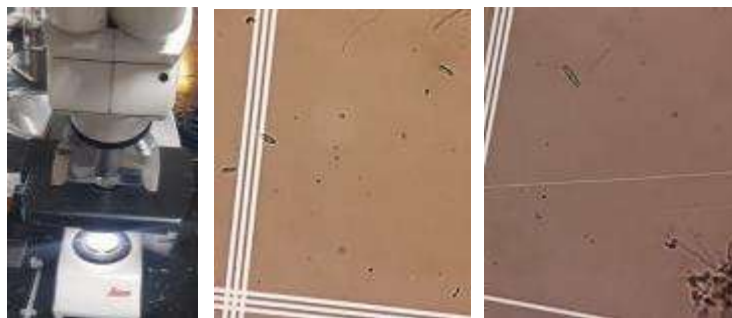


Figura 19. Conteo de conidios de *E. persea* en cámara Neubauer.

3.5 Pruebas de patogenicidad

Se utilizaron plantas de aguacate de vivero variedad Flor de María y Méndez, inoculando los frutos cuando tenían un tamaño de 6-9 cm de largo por 4-6 cm de ancho (etapa de llenado de fruto). El diseño experimental fue completamente al azar, cinco tratamientos con tres repeticiones más un testigo absoluto.

Para eliminar posibles patógenos que pudieran afectar los resultados de las pruebas de patogenicidad, las plantas de aguacate se trataron, un mes antes de la inoculación, con Switch[®] 1 g/L y Oleotech[®] higuierilla 0.35 mL/L. Se fertilizaron con fosfato monopotásico 2 g por planta. Las plantas de aguacate se mantuvieron en un vivero de la Facultad de Agrobiología Presidente Juárez, se regaron según los requerimientos hídricos (aproximadamente 2 litros de agua por planta cada 3er día). Con un alfiler entomológico del número cero se realizaron 8-10 punciones, en un área de aproximadamente 1.5 cm de diámetro, en el epicarpio del fruto de aguacate para facilitar la entrada del hongo. Posteriormente, sobre el área de las punciones, se colocó una porción (8 mm de diámetro) de medio de cultivo PDA que contenía micelio de aislados de *E. persee*, la cual se obtuvo con un sacabocados de este mismo diámetro. También, con ayuda de una porción de algodón, se

colocó una suspensión de esporas de cada aislamiento a una concentración de 1×10^6 conidios/mL. Posteriormente, cada fruto de aguacate se cubrió, durante tres días, con papel parafilm y con una bolsa de polietileno, la cual funcionó como cámara húmeda. Para obtener la suspensión se colocaron aislados de cada área agroecológica por separado en una licuadora con 100 mL de agua destilada estéril, para homogenizar la solución.

Se tomó una alícuota de 1 mL de la muestra y en la cámara Neubauer se realizó el conteo de conidios y fragmentos de micelio utilizando el microscopio óptico (se contabilizó por cuadros grandes y se ajustó a la siguiente ecuación;

$$\text{Concentración celular} = \frac{\text{Número de células contadas}}{\text{Número de cuadros}} \times 10,000.$$

Después de tres días, los discos del micelio de *E. perseae*, el algodón y bolsas se retiraron. Una vez realizada la inoculación, para medir la virulencia, se consideraron los siguientes parámetros: días en los que se presentaron los primeros síntomas, número y tamaño de manchas y caída del fruto. Las observaciones se realizaron cada tercer día durante 150 días (Figura 20).



Figura 20. Proceso de inoculación de frutos de aguacate para las pruebas de patogenicidad.

3.6 Pruebas de Control *in vitro*

Se utilizaron cinco fungicidas químicos y cuatro autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico. De cada uno de estos compuestos se usó la dosis del producto formulado. También se incluyó un tratamiento testigo sin fungicida. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Fungicidas utilizados en los ensayos sobre *Elsinoe perseae*.

Fungicida	Ingrediente activo	Grupo químico	Mecanismo de acción	Dosis	Concentración
QUÍMICOS					
Tecto 60®	Tiabendazol	benzimidazoles	Inhibición de mitosis y división celular	0.6 g/L	60%
Switch®	Fludioxonil+ Cyprodinil	Anilino pirimidinas+ Fenilpiroles	Inhibición de la metionina y la proteína quitinasa	1 g/L	25% y 37.5%
Bankit®:	Azoxystrobin	Estrobilurina	Inhibición de la respiración mitocondrial	0.4 mL/L	23.75%
Headline®	Pyraclastrobin	Estrobirulina	Inhibición de la respiración mitocondrial	1 mL/L	23.60%
Quilt®	Azoxystrobin+ propiconazol	Estrobirulinas+ Triazoles	Inhibición de la respiración mitocondrial y biosíntesis de ergosterol	0.4 g/	7.07% y 11.79%
AUTORIZADOS EN HUERTOS CON MANEJO ORGÁNICO					
Oxicu®	Oxicloruro de cobre	--	Acción multisitios	1 g/L	85%
Cutech®	Gluconato de cobre	--	Acción multisitios	2 mL/L	12.5% y 37.5%
Mastercop®	Sulfato de cobre pentahidratado	--	Acción multisitios	1 g/L	21.36%
Oleotech gobernadora®	<i>Larrea tridentata</i> ,	--	Acción multisitios	2 mL/L	95%

Para este ensayo se utilizaron cinco fungicidas químicos con dosis del producto formulado (Azoxystrobin 25SC 0.4 mL/L, Tiabendazol 60WP 0.6 g/L, Pyraclostrobin 25CE 1.0 mL/L, Cyprodinil+Fludioxonil 62.5WG 1.0 g/L y Azoxystrobin+Propiconazol 20SE 0.4 mL/L) y cuatro productos autorizados para huertos con manejo orgánico, (Sulfato de cobre 1.0 g/L, Gluconato de cobre 2.0 mL/L, Oxicloruro de cobre 1.0 g/L y extracto de *Larrea tridentata* 2.0 mL /L), el diseño experimental fue completamente al azar con cinco

tratamientos químicos, cuatro autorizados para huertos con manejo orgánico, con cinco repeticiones y un testigo absoluto.

El efecto de los fungicidas sobre el desarrollo de los diferentes aislamientos de *E. perseae*, se determinó de forma *in vitro*. Cada fungicida se incluyó, por separado, en el medio de cultivo PDA cuando se encontraba a 45-50 °C. Posteriormente, este medio de cultivo se vertió en cajas Petri, las cuales se mantuvieron en la campana de flujo laminar durante 24 h antes de ser utilizadas. Para el bioensayo, en una caja Petri se colocó, en el centro y por separado, un disco agar (8 mm de diámetro) que contenía micelio de cada uno de los cinco aislamientos de *E. perseae*. Para cada fungicida y aislamiento de este hongo se realizaron cinco repeticiones. Una repetición fue representada por una caja Petri que contenía un aislamiento de este hongo. También se incluyó un testigo, constituido solamente por las cajas Petri con el medio de cultivo PDA. El ensayo se mantuvo en una incubadora a 24° C y 80% de humedad relativa en completa oscuridad. En un diseño completamente al azar. Después del inicio del experimento, cada semana se midió, con un vernier, el diámetro de crecimiento de cada uno de los aislamientos de *E. perseae*. Para los fungicidas autorizados para huertos con manejo orgánico se tomaron mediciones durante un mes (sulfato de cobre, gluconato de cobre, oxicloruro de cobre y el extracto vegetal *Larrea tridentata*), para los fungicidas químicos (azoxystrobin, tiabendazol, pyraclostrobin, cyprodinil+fludioxonil y azoxystrobin + propiconazol) por tres meses, esto debido al lento crecimiento de *E. perseae* y la pérdida de efecto de los fungicidas autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico (Figura 21).

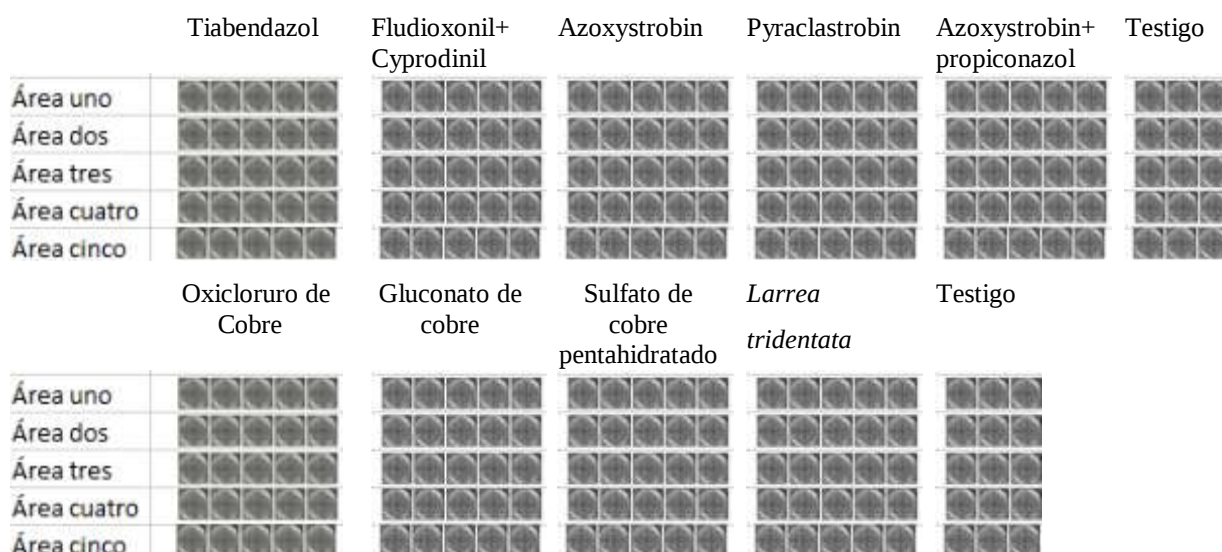


Figura 21. Diseño experimental pruebas de control *in vitro*.

Área uno (1,200-1,420 m.s.n.m.), área dos (1,421-1,640 m.s.n.m.), área tres (1,641-1,860 m.s.n.m.), área cuatro (1,861-2,080 m.s.n.m.), área cinco (2,081- 2,300 m.s.n.m.).

Se obtuvo el porcentaje de inhibición del micelio (PIM) con la siguiente fórmula: (Pandey *et al.*, 1982).

$$PIM = \frac{dc - dt}{dc} \times 100$$

Dónde: PIM = Porcentaje de inhibición del micelio, dc = diámetro de la colonia del testigo, dt = diámetro de los tratamientos. Los datos de PIM se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias Tukey ($P < 0.05$). Se utilizó el programa JMP de SAS institute.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Características morfológicas de los aislados de *E. perseae*

Al realizar el aislamiento de cada uno de los aislados de las distintas áreas agroecológicas, los aislados del área uno (1200-1420 m.s.n.m.) se caracterizaron por presentar un crecimiento combinado de tipo cerebroide y viscoso. El área dos (1421-1640 m.s.n.m.) solo tuvo aislamientos de tipo viscoso y las áreas tres (1641-1860 m.s.n.m.), cuatro (1861-2080 m.s.n.m.) y cinco (2081- 2300m.s.n.m.) los aislados presentaron solo características tipo cerebroide (Figura 22).

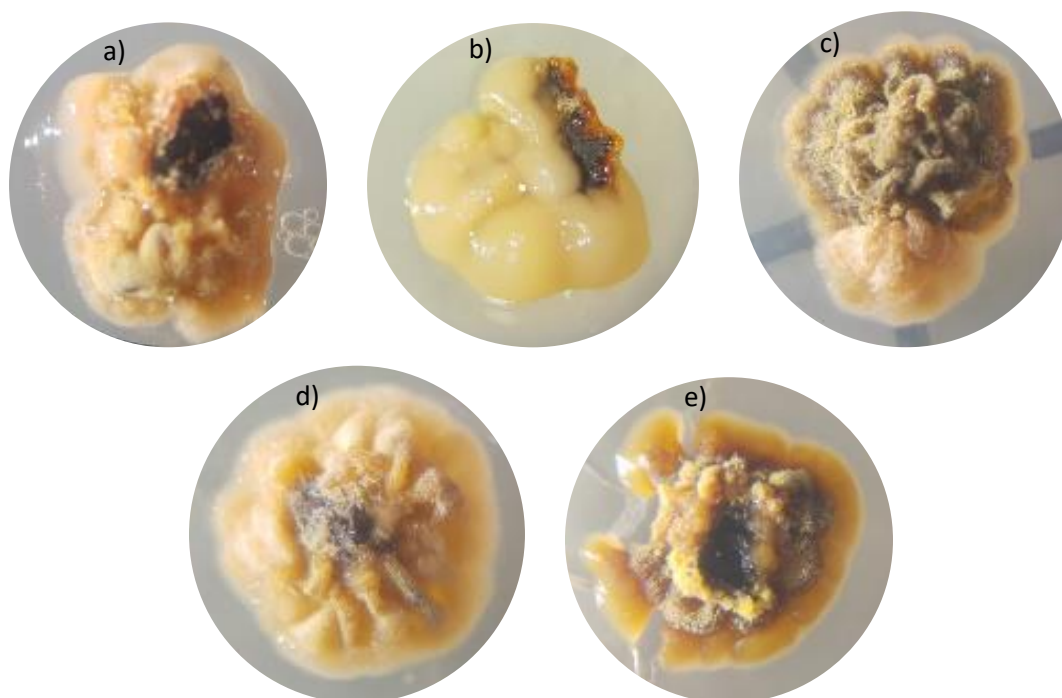


Figura 22. Crecimiento de un mes de los aislados de cada área agroecológica a) área uno (1,200-1,420 m.s.n.m.), b) área dos (1,421-1,640 m.s.n.m.), c) área tres (1,641-1,860 m.s.n.m.), d) área cuatro (1,861-2,080 m.s.n.m.), e) área cinco (2,081- 2,300 m.s.n.m.).

Sin embargo, al realizar las réplicas de los aislados todos se caracterizaron por presentar un crecimiento combinado cerebroide y viscoso, siendo los aislados del área cuatro (1861-2080 m.s.n.m.) y área cinco (2081- 2300 m.s.n.m.) los que presentaron una menor proporción de textura viscosa con respecto a la cerebroide. Para el tercer mes, solo 20% de los aislados

presentaron esta característica ya que la textura viscosa se fue transformando en textura rugosa tipo cerebroide. Al cuarto mes solo 3% de los aislados presentaba aun textura cerebroide combinada con viscosa, al quinto mes todos los aislados presentaron textura tipo cerebroide desapareciendo la textura viscosa (Cuadro 4). Estos resultados coinciden con lo reportado por Everett *et al.*, (2011); Fan *et al.* (2017); López (2021) e Hinojosa (2021) como variaciones de crecimiento para *E. perseae*.

Al reverso los aislados jóvenes se caracterizaron por presentar color beige claro y con la edad se fueron oscureciendo a café rojizo (Figura 23), tal como lo reporto Everett *et al.*, (2011); Fan *et al.* (2017); López (2021) e Hinojosa (2021).

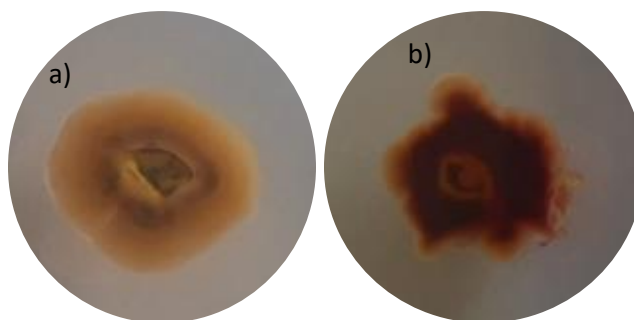


Figura 23. Desarrollo de los aislados de *E. perseae* vista por el reverso de la caja, a) 15 días y b) 2 meses de crecimiento.

El micelio aéreo solo se presentó en los aislados del área uno, en el primer mes el 16% de los aislados presento micelio aéreo, para el segundo mes el 33% lo presentaban, en los siguientes meses no se observó micelio aéreo. Everett *et al.* (2011); Fan *et al.* (2017); López (2021) e Hinojosa (2021) reportan micelio aéreo en los aislados de *E. perseae*.

El 67% de los aislados tenían aspecto afelpado. En cuanto a la forma de los aislado fue de irregular en los primeros meses y más redondeada en los últimos meses (Cuadro 4). Estas características concuerdan con las descritas por Everett *et al.* (2011); Fan *et al.* (2017); López (2021) e Hinojosa (2021).

Los aislados se caracterizaron además por presentar un crecimiento lento como lo reporta Everett *et al.* (2011), Fan *et al.* (2017); López (2021) e Hinojosa (2021) con un promedio de 0.32 mm/día, en donde los aislados del área uno (1200-1420 m.s.n.m.) tuvieron la mayor tasa de crecimiento y los aislados del área dos (1421-1640 m.s.n.m.) la menor tasa de crecimiento. Durante el primer mes del establecimiento del experimento se obtuvo el crecimiento más lento, con 0.26 mm/día. Mientras que, en el segundo mes se observó la mayor tasa de crecimiento, con un promedio de crecimiento de 0.32 mm/día (Figuras 24 y 25).

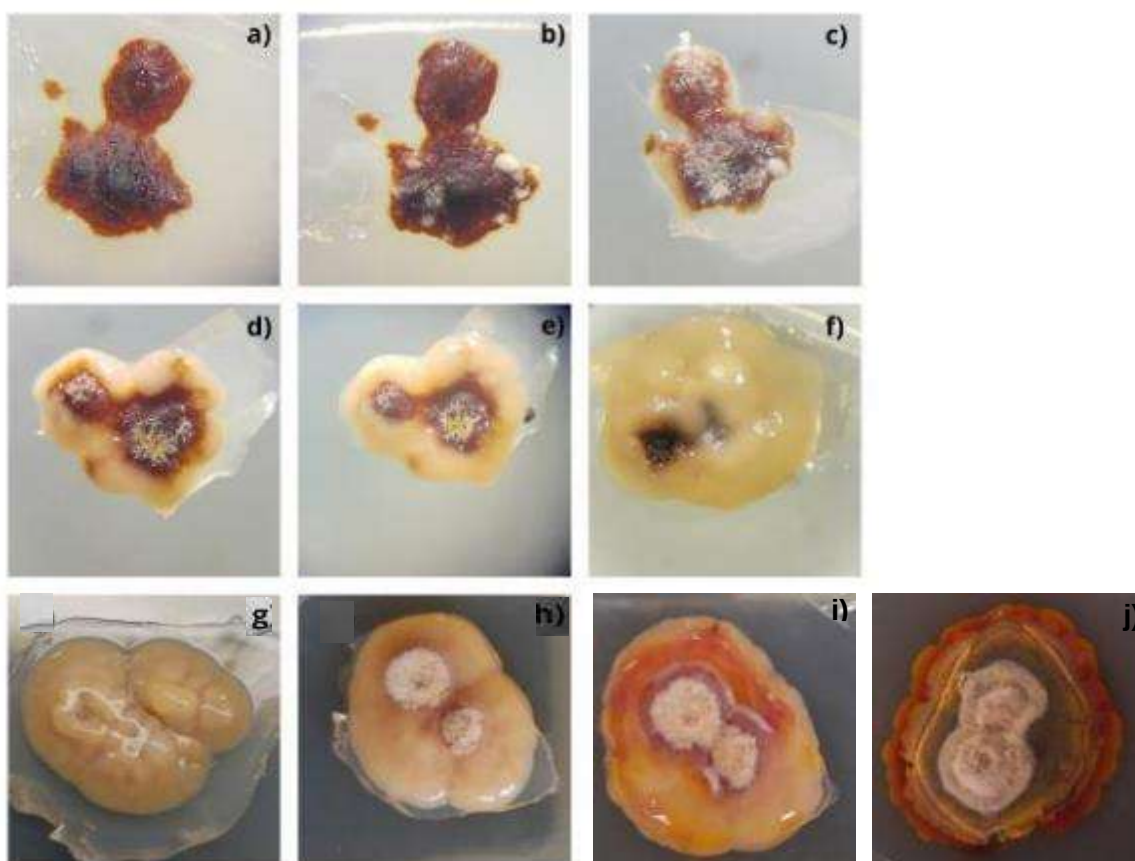


Figura 24. a) Crecimiento de *E. persei* 1 día después de la siembra, b) 6 días c) 12 días d) 15 días, e) 20 días f) 25 días g) 1 mes h) 2 meses i) 2.5 meses j) 3.5 meses.

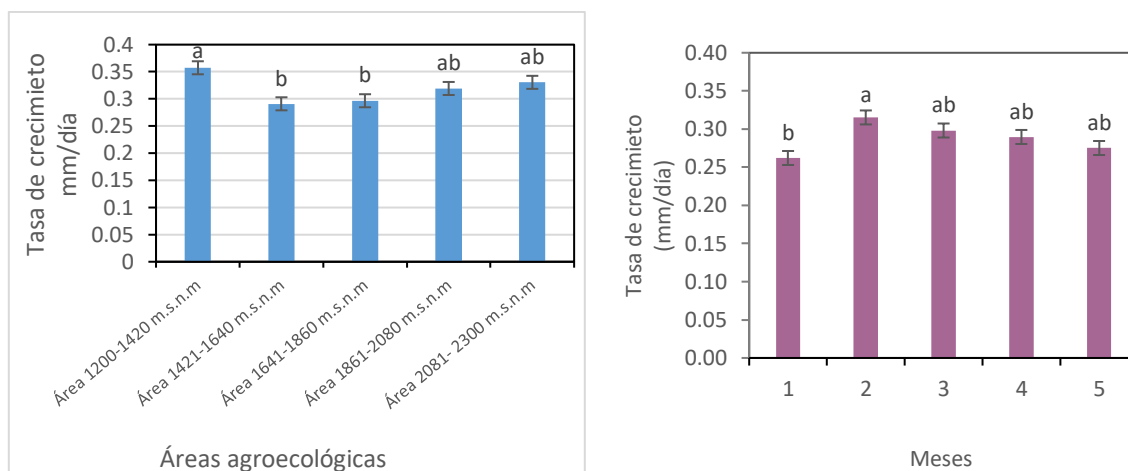


Figura 25. a) Tasa de crecimiento de los aislados de cada área agroecológica, b) tasa de crecimiento promedio por mes de los aislados de las cinco áreas agroecológicas. Valores promedio $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

En cuanto al color de los aislados en los primeros meses, presentaron colores más claros y conforme se iban desarrollando, los colores fueron más oscuros. Los colores que predominaron fueron los amarillos y los naranjas tornándose a colores más oscuros con la edad, de cafés y rojos coincidiendo con lo reportado por López (2021) e Hinojosa (2021) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Colores utilizados para describir los aislados de *E. perseae*.

Color	Clave	Color	Clave
Naranja muy claro	40:70:100	Beige	45:20:100
Naranja claro	30:70:100	Rosa muy claro	20:10:100
Naranja medio	20:70:90	Rosa claro	30:40:100
Naranja fuerte	35:100:80	Rosa medio	20:30:100
Naranja muy fuerte	30:100:80	Rosa fuerte	15:40:90
Amarillo claro	55:40:100	Rosa muy fuerte	05:50:90
Amarillo medio	50:60:100	Rojo claro	10:70:90
Amarillo fuerte	50:90:100	Rojo fuerte	10:100:60
Amarillo verdoso claro	50: 70: 80	Rojo muy fuerte	10:90:60
Amarillo verdoso medio	45:100:80	Café rojizo	25:100:80
Verde claro	55: 90:70	Café rojizo claro	15:60:70
Verde medio	50: 80:60	Café rojizo fuerte	20:80:70
Verde fuerte	50: 90:50	Café rojizo muy fuerte	15:100:30
Café verdoso claro	40: 60:70	Gris claro	25:05: 60
Café verdoso	40: 90:60	Gris medio	25:10:50
Café muy claro	30:50:90	Gris fuerte	45:05:30
Café claro	10:30:80	Negro	10:100:10
Café medio	15:40:70		

En cuanto a la variabilidad de colores el área uno presento el mayor número de colores y el menor número de colores el área dos y tres, teniendo un aumento y disminución de colores con forme se iban desarrollando los aislados, siendo el cuarto mes en el cual hubo mayor variabilidad de colores de los aislados estadísticamente significativo, relacionándose con el mes en el que a todos los aislado presentaban elsinocromos (Figuras 26) y Cuadro 4). Las melaninas en los hongos se asocian a la virulencia y/o la patogénesis (Henson *et al.*, 1999), también a la protección de la pared celular de estos Jacobson (2000).

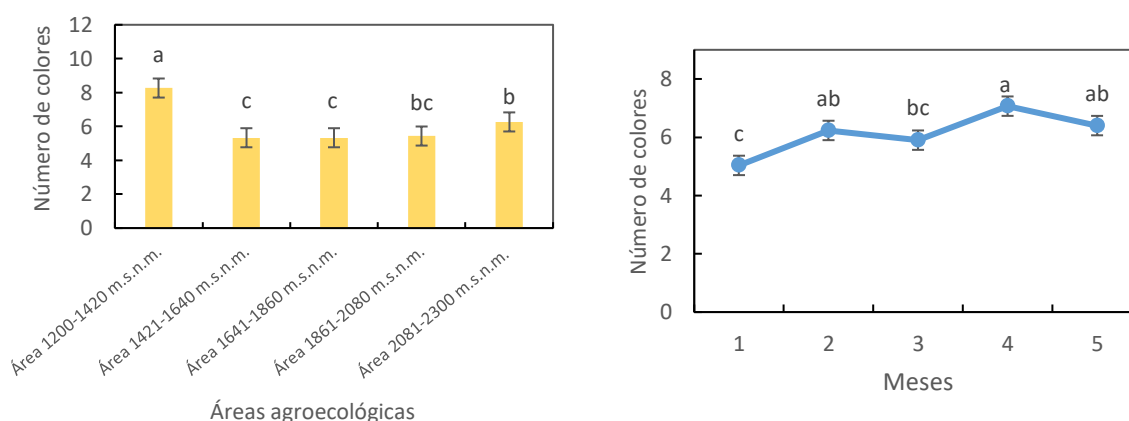


Figura 26. Número de colores de los aislados de cada área agroecológica, b) Variación del número de colores cada mes de crecimiento de los aislados de las cinco áreas agroecológicas. Valores promedio $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

La producción de elsinocromos se comenzó a observar en el 13% de los aislados en el segundo mes de su crecimiento, similar a lo reportado por López (2021) e Hinojosa (2021) que los aislados de más de dos meses de desarrollo liberan pigmentos naranjas a rojos al medio de cultivo y Weiss *et al.* (1987), quienes reportan que el género *Elsinoe* produce pigmentos fotosensibilizadores a los que nombraron elsinocromos.

Los aislados del área dos (1421-1640 m.s.n.m.) fueron los primeros en notárseles visiblemente los elsinocromos de color rojo, en un promedio de 75 días, en los aislados del resto de las áreas fue similar el número de días en que los presentaron, notándose estos pigmentos en el 100% de los aislados al cuarto mes de desarrollo. Todas las áreas agroecológicas presentaron elsinocromos de color rojo, excepto en el área tres que fueron de color naranja. En el cuarto y quinto mes, el color de los elsinocromos fue más intenso (Figura 27 y Cuadro 4).

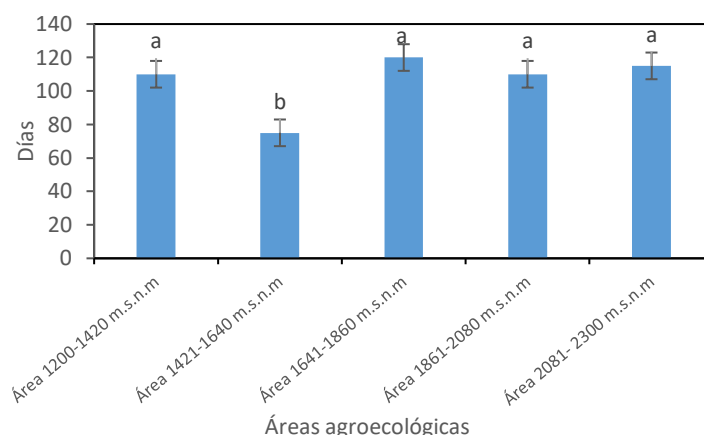


Figura 27. Producción de elsinocromos en aislados de *E. perseae*. Valores promedio $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

En el primer y segundo mes fue cuando los conidios se diferenciaron ya que en los demás meses el estroma estaba tan compactado que no se diferenciaban. Igual que lo expuesto por López (2021) e Hinojosa (2021) quien observó conidios en mayor cantidad al inicio del desarrollo de los aislados, una vez que se desarrolla el estroma se dificulta la identificación de estos. En el primer mes se observó que los aislados que presentaron mayor producción de conidios fue en el área cuatro (1861-2080 m.s.n.m.) y área dos (1421-1640 m.s.n.m.) siendo los aislados del área uno (1200-1420 m.s.n.m.) la que presentó la menor producción de éstos. En el segundo mes los aislados del área dos (1421-1640 m.s.n.m.) presentaron la mayor producción de conidios (Figura 28).

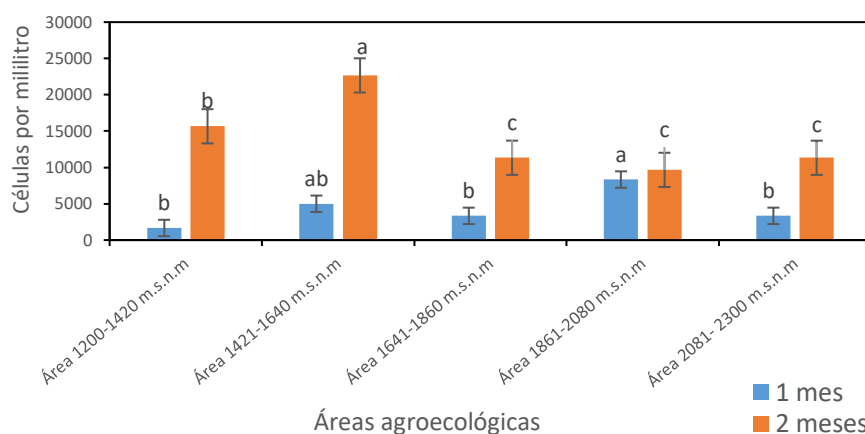
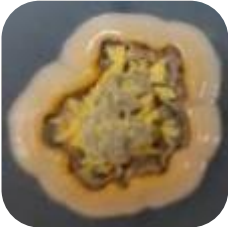
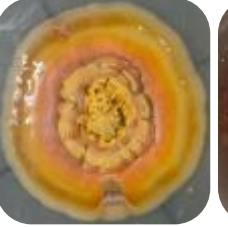
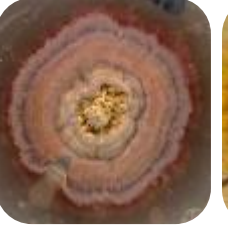
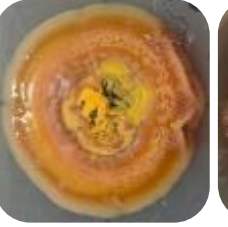
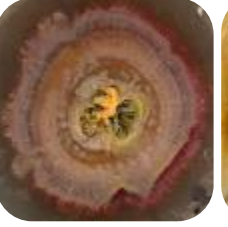
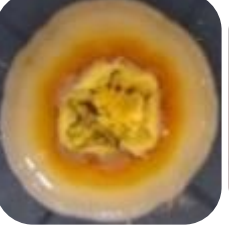
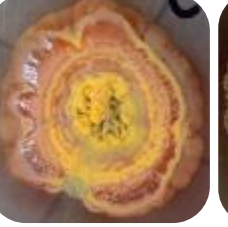
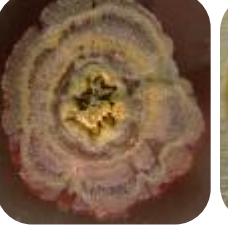
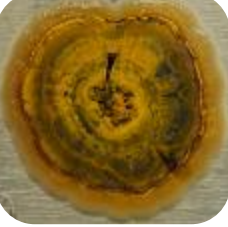
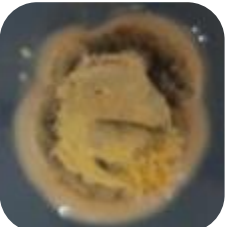
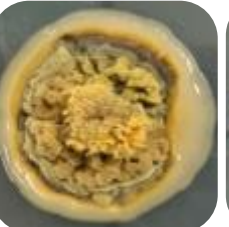
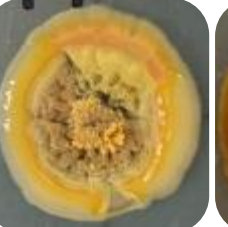


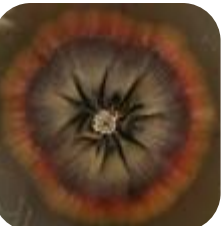
Figura 28. Producción de conidios uno y dos meses de crecimiento. Valores promedio $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Cuadro 4. Desarrollo de los aislados de *E. perseae*.

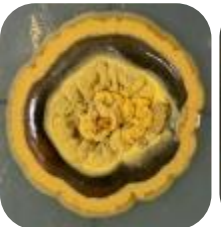
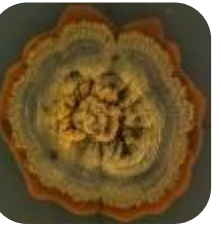
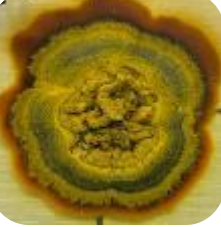
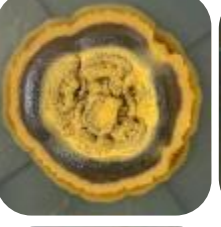
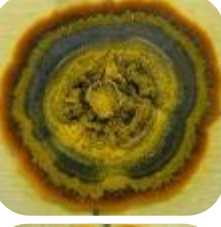
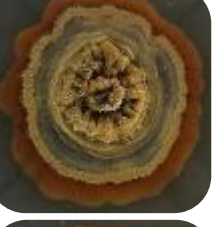
ÁREA UNO (1,200-1,420 msnm)

Aislado	Un mes	Dos meses	Tres meses	Cuatro meses	Cinco meses
CC21					
CC24					
CC30					
CC35					
CC44					
CC50					

ÁREA DOS (1,421-1,640 msnm)

Aislado	Un mes	Dos meses	Tres meses	Cuatro meses	Cinco meses
ZU8					
ZU19					
ZU22					
ZU25					
ZU29					
ZU50					

ÁREA TRES (1,641-1,860 msnm)

Aislado	Un mes	Dos meses	Tres meses	Cuatro meses	Cinco meses
ZA11					
ZA12					
ZA14					
ZA15					
ZA17					
ZA19					

ÁREA CUATRO (1,861-2,080 msnm)

Aislado	Un mes	Dos meses	Tres meses	Cuatro meses	Cinco meses
AR11					
AR22					
AR30					
AR35					
AR37					
AR58					

ÁREA CINCO (2,081- 2,300 msnm)

Aislado	Un mes	Dos meses	Tres meses	Cuatro meses	Cinco meses
CA33					
CA34					
CA46					
CA49					
CA59					
CA60					

Microscópicamente los aislados de *E. perseae* de cada una de las áreas agroecológicas se caracterizaron por presentar conidios de 4-6.8 μm x 2.5 μm cilíndricos elípticos, y micelio turuloso. Como declara López (2021) e Hinojosa (2021) que las colonias de *E. perseae*, presentan micelio toruloso, que con el tiempo se compacta hasta formar el estroma que da el aspecto cerebroide a la colonia; además de presentar conidios que van de 3- 14 μm , ovalados, cilíndricos, falcados o lunados y que solo se observan en mayor cantidad al inicio del desarrollo de las colonias (Figura 29)

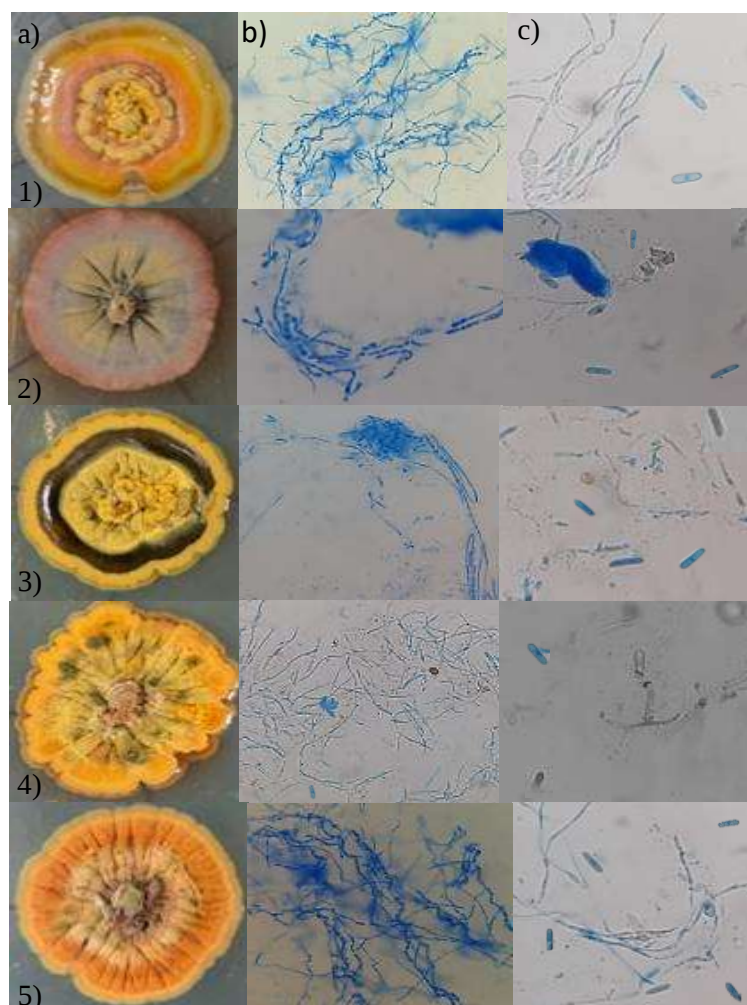


Figura 29. a),b), c) Aislados, micelio y conidios de *E. perseae* de cada área agroecológica 1) área uno (1,200-1,420 m.s.n.m.), 2) área dos (1,421-1,640 m.s.n.m.), 3) área tres (1,641-1,860 m.s.n.m), 4) área cuatro (1,861-2,080 m.s.n.m.), 5) área cinco (2,081- 2,300 m.s.n.m.).

Al realizar cortes histológicos en frutos con síntomas de macha púrpura se observaron acérvulos en forma de disco como lo reporta Everett *et al.* (2010) (Figura 30).

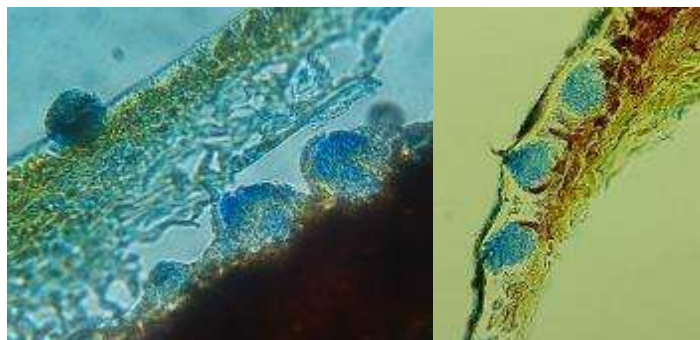


Figura 30. Acervulos de *E. perseae* al realizar cortes histológicos.

4.2 Virulencia

Todos los aislados de cada una de las áreas agroecológicas fueron capaces de producir síntomas en frutos de aguacate, los cuales concuerdan con los reportados por Everett *et al.* (2011), Morales, (2017), Fan *et al.* (2017), López (2021) e Hinojosa (2021) como roña=mancha púrpura del aguacate (Figura 31). En los frutos de la variedad “Flor de María” los síntomas de la enfermedad comenzaron a aparecer a los 41 días después de la inoculación; mientras que, en los frutos de la variedad Méndez fue hasta los 91 días.

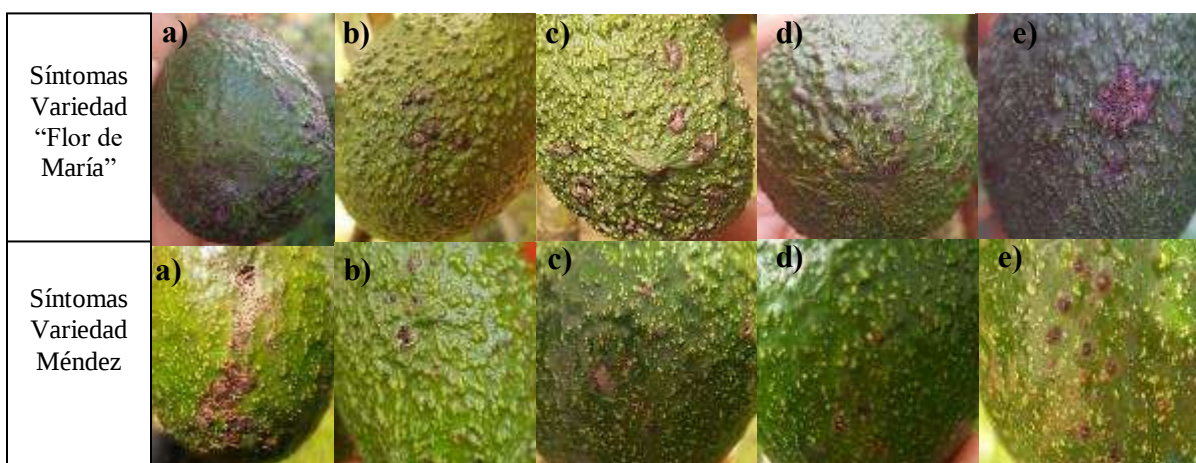


Figura 31. Síntomas de mancha púrpura=roña en frutos de aguacate producidos en las pruebas de patogenicidad por los aislados de *E. perseae*, provenientes de las distintas áreas agroecológicas; a) área uno (1,200-1,420 m.s.n.m.), b) área dos (1,421-1,640 m.s.n.m.), c) área tres (1,641-1,860 m.s.n.m), d) área cuatro (1,861-2,080 m.s.n.m.), e) área cinco (2,081- 2,300 m.s.n.m.).

Los síntomas comenzaron con manchas pequeñas de color púrpura que conforme se desarrollaba la enfermedad aumentaban su tamaño y coalescían, se comenzó a observar el aspecto roñoso a los 150 días postinoculación (Figura 32).

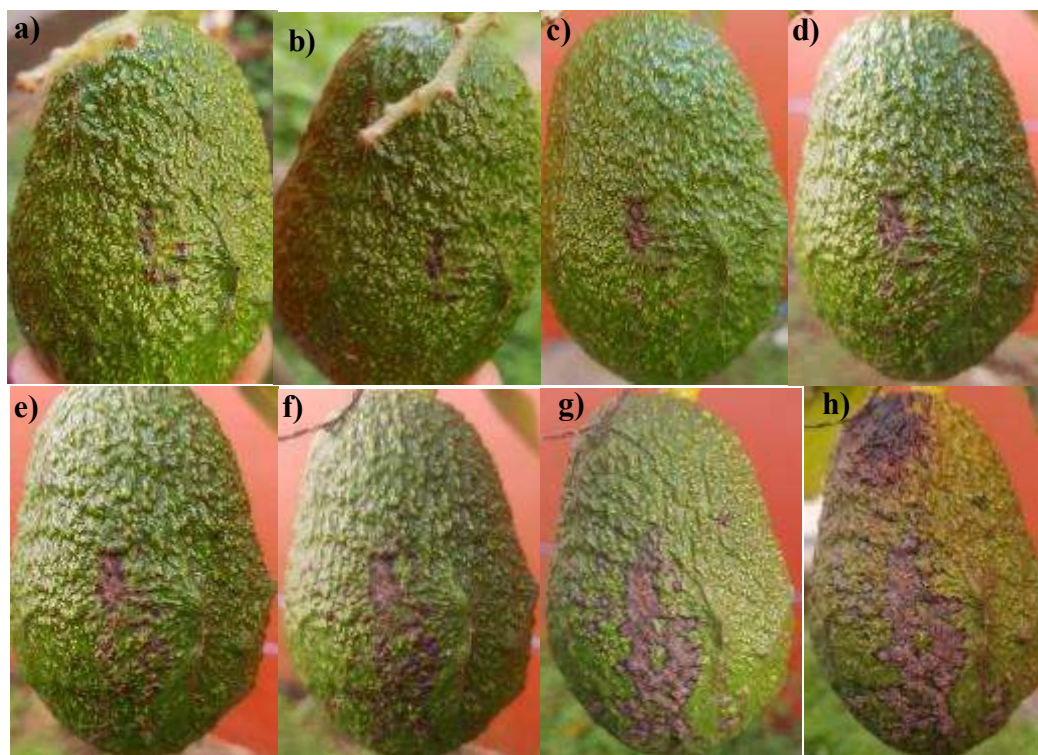


Figura 32. Desarrollo de síntomas de mancha púrpura en variedad “Flor de María” a) síntoma inicial, b) 15 días, c) 30 días, d) 45 días, e) 60 días f) 90 días, g) 120 días, h) 150 días.

Como todos los aislados fueron capaces de producir elsinocormos esto pudo ser parte importante en el desarrollo de la enfermedad sobre los frutos ya que según Daub y Chung (2009) el elsinocromo producido por muchas especies de *Elsinoe* spp. es claramente es un factor de virulencia crítico ya que contienen perilenoquinonas, una toxina que funciona absorbiendo energía luminosa y generando ROS, que induce la muerte celular del huésped. La producción de elsinocromos puede proporcionar a *Elsinoe* spp. acceso a los nutrientes y permite que el patógeno prospere dentro de los tejidos del huésped (Chung, 2011).

En cuanto al grado de virulencia, la variedad “Flor de María” fue la primera en presentar síntomas en comparación con la variedad Méndez, con un promedio aproximado de 41 días; mientras que, Méndez tuvo un promedio de 91 días. Esta variedad también

presentó mayor número y tamaño de manchas, con un promedio de 7-8 manchas y un tamaño promedio de 3 mm; mientras que, la variedad Méndez presentó un promedio de 2-3 manchas y un tamaño promedio de 2 mm, esto al mes de haberse observado la presencia de síntomas (Figura 33). Con estos resultados se observa la susceptibilidad variedad “Flor de María” con respecto a la variedad Méndez, lo que concuerda con lo expuesto por López (2021) e Hinojosa (2021) quien reportó que en distintas variedades de aguacate inoculadas con *E. perseae*, la variedad “Flor de María” fue la más susceptible, presentando síntomas más severos. Al contrario de lo que menciona Morales (2017) quien dio a conocer que existe una notable preferencia de *E. perseae* por atacar con mayor incidencia y severidad en campo al cultivar Méndez. Sin embargo, en campo se observa mayor superficie sembrada de variedad Méndez que de “Flor de María”, por lo cual es que no se ha detectado la susceptibilidad de esta variedad a dicha enfermedad.

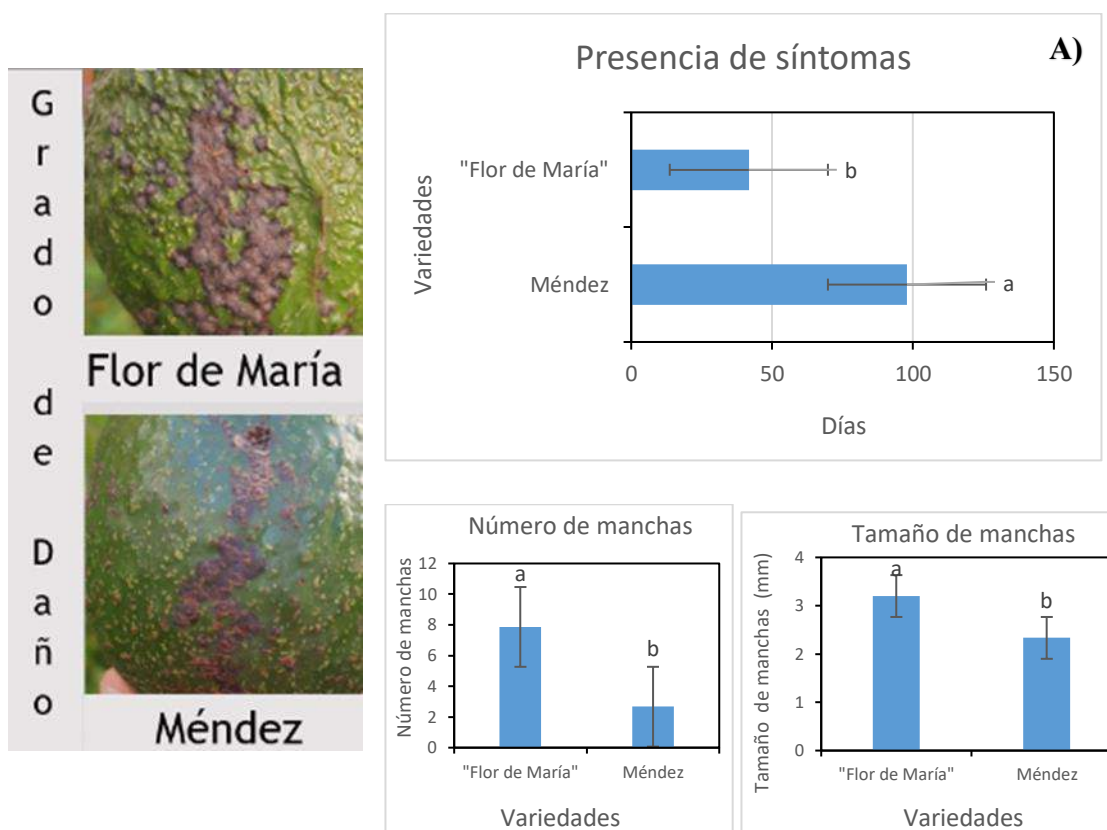


Figura 33. Comparación Variedad “Flor de María” y Méndez. A) Grado de daño, B) Presencia de síntomas (días), C) en número de manchas y D) tamaño de manchas de los cultivares flor de María y Méndez. Valores promedio $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Con respecto a los grados de virulencia de los aislados de cada una de las áreas agroecológicas, se pudo observar que en la variedad “Flor de María”, los frutos inoculados con los aislados del área uno (1200-1420 m.s.n.m.) y cinco (2081-2300 m.s.n.m.) fueron los primeros en presentar síntomas, mientras que para el número de manchas fue el área uno (1200-1420 m.s.n.m.) y fue estadísticamente significativo, en cuanto al tamaño de las manchas no hubo significancia (Figuras 34).

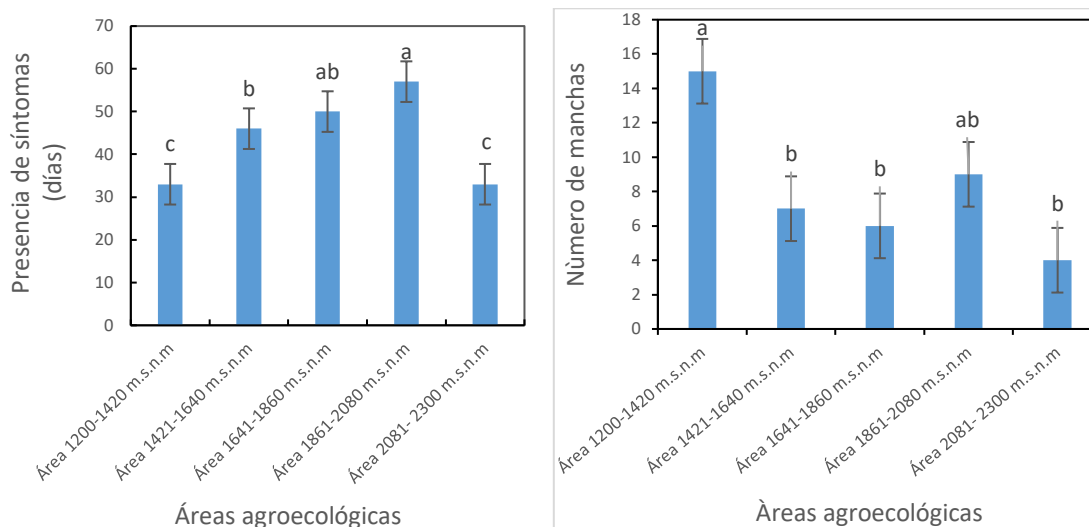


Figura 34. Comparación de presencia de síntomas y número de manchas de los aislados de cada área agroecológica en variedad “Flor de María”. Valores promedio $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

En la variedad Méndez se pudo observar que los frutos inoculados con los aislados de las áreas agroecológicas tres (1641-1860 m.s.n.m.) y cinco (2081-2300 m.s.n.m.) fueron los primeros en mostrar síntomas. En cuanto al número de manchas, los frutos inoculados con los aislados del área tres (1641-1860 m.s.n.m.) presentaron el mayor número de manchas; mientras que, en el tamaño de las manchas no existió diferencia significativa (Figura 35).

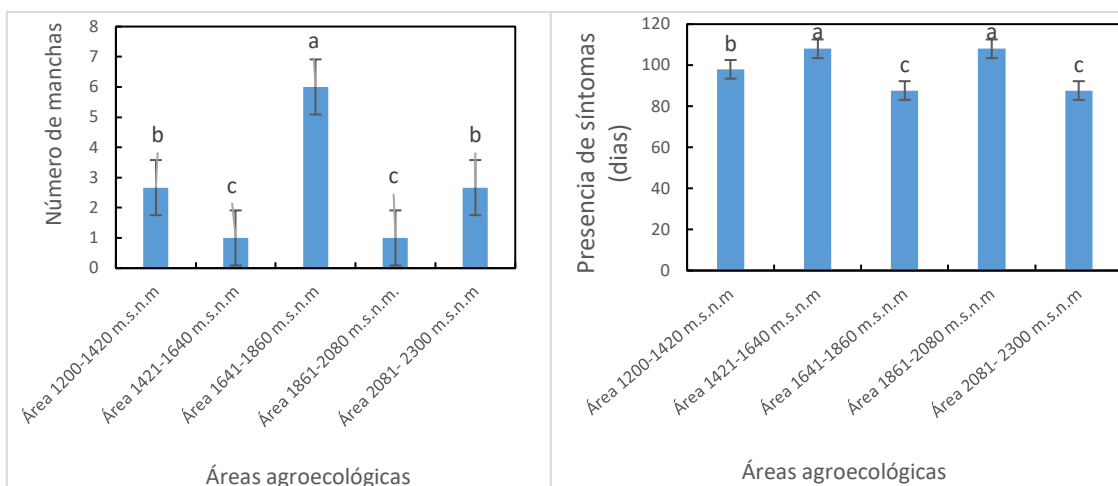


Figura 35. Comparación de presencia de síntomas y número de manchas de los aislados de cada área agroecológica en variedad Méndez. Valores promedio $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Los aislados del área uno (1200-1420 m.s.n.m.) mostraron mayor grado de virulencia, en la variedad Flor de María y los aislados del área tres (1641-1860 m.s.n.m.) en la Méndez de acuerdo con los parámetros evaluados, seguidos de los aislados del área cinco en ambas variedades.

La variabilidad que presentaron los aislados de *E. perseae* y el área agroecológica de donde provenían influyó en su virulencia, ya que hubo diferencia estadística significativa en presencia de síntomas y número de manchas, esto es similar a lo reportado por López (2006) que encontró que aislados de *Histoplasma capsulatum* de aspecto rugoso eran muy virulentos; mientras que, en los aislados con morfología de colonia lisa la virulencia se veía disminuida, de este mismo hongo se obtuvieron cepas provenientes de diversas regiones geográficas en los que se demostró también diferencia en su virulencia.

Por otro lado, Alezones *et al.* (2007) mostraron en maíz inoculado con 25 aislados de *Rizotocnia solani*, que cada aislamiento tuvo un comportamiento particular de virulencia y esto dependió de la variabilidad de las características fenotípicas de cada uno de los aislamientos. Por último, Harish *et al.* (2018) encontraron que diferentes aislados de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* presentaron diferentes grados de virulencia en plantas de tomate y se relacionó con la variabilidad en el crecimiento, producción de conidios, características fenotípicas y genéticas que presentaba cada uno de los aislados.

4.3 Pruebas de control *in vitro*

4.3.1. Productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico

En la primera semana, el extracto de gobernadora (*L. tridentata*) tuvo el mayor porcentaje de inhibición de micelio (79.4%) siendo significativo por sobre gluconato de Cu y el testigo. A los 15 días todos los productos perdieron efecto, al disminuir su porcentaje de inhibición. Sin embargo, al término de las mediciones se observó que *L. tridentata* y oxiclورو de Cu fueron estadísticamente mejores con un 58% de inhibición (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de inhibición de micelio de los productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico sobre los aislados de *E. perseae* a los 7,15 y 30 días.

Tratamientos	Inhibición del crecimiento del micelio (%)		
	7 días	15 días	30 días
<i>L. tridentata</i>	79.40a	56.23a	58.10a
Oxicloruro de cobre	66.55a	48.46a	57.50a
Sulfato de cobre	65.89a	46.90a	42.80b
Gluconato de cobre	30.35b	23.21b	21.80c
Testigo	0c	0c	0d

Valores con distinta letra, en la misma columna, son significativamente distintos ($p > 0.05$).

De acuerdo IRET (2022), la vida media de un fungicida es el tiempo requerido (en días) para convertir el 50% de éste en otra(s) sustancia(s), en cualquiera de las matrices o compartimentos ambientales (agua, aire, suelo, biota). TECAGR (2013), menciona que los productos orgánicos y cobres pierden efecto entre 1 y 7 días aunque depende de la formulación del producto y condiciones ambientales.

El buen efecto que mantuvo *L. tridentata* sobre los aislados de *E. perseae* puede deberse a que este extracto contiene ácido nordihidroguaiaretico, que según Arteaga *et al.* (2005), Vargas *et al.* (2006) y Gowan (2022) tiene un alto potencial para el control de hongos productores de aflatoxinas. *E. perseae* se caracteriza por producir elsinocromos que según Daub y Chung, (2009) es un tipo de toxina similares a las del género *Aspergillus*.

El efecto significativo que tuvo el oxiclورو de Cu por sobre los otros tratamientos con productos a base de Cu, puede ser porque posee de 35-70% de Cu metal, a diferencia del sulfato de Cu (25%) o el gluconato de Cu (<9%) (Adama, 2021). El Cu metal es la parte que tiene la acción fungicida e inhibe la germinación de la espóra; además, presenta baja solubilidad, esto es que el Cu se va liberando más lentamente y por lo tanto actúa más tiempo (TECAGR, 2013).

El Cu actúa sobre seis diferentes estructuras y/o procesos de la célula del hongo (núcleo, ribosoma, mitocondria, retículo endoplasmático liso y rugoso, membrana plasmática y cromatina) (Adama, 2021).

La baja inhibición que tuvo el gluconato de Cu *in vitro* podría deberse a que este producto actúa al interactuar con la planta debido a que fue echo especialmente para mejorar la asimilación del Cu en el interior de la planta (ATEEC, 2022).

Como argumentan Kirkby y Römheld (2007) el Cu ayuda a la planta en la fotosíntesis, respiración y desintoxicación de radicales superóxido también en la producción de fitoalexinas que inhiben la germinación de esporas y el crecimiento de hongos y ligninas que forman una barrera mecánica como resistencia de la planta a enfermedades. Por lo cual sería interesante probar su eficacia en campo.

En las distintas áreas agroecológicas, los aislados presentaron diferentes grados de sensibilidad, siendo unos más sensibles que otros, lo que podría deberse al manejo agronómico ya que Wong *et al.*, 2007 encontraron que aislamientos de conidios individuales de *Colletotrichum cereale* de 10 campos de golf de California, ocho de los cuales habían estado expuestos a fungicidas QoI y dos donde no se habían usado fungicidas, las dos poblaciones no expuestas pudieron ser controladas a dosis de 0.0060 y 0.089 µg/mL; mientras que, los aislamientos de las poblaciones expuestas no pudieron inhibirse por completo con dosis de azoxistrobina de hasta 8.0 µg/mL.

El área agroecológica también puede influir en la sensibilidad ya que Espinoza *et al.* (2017) al evaluar la sensibilidad de 60 aislamientos *Colletotrichum acutatum* a los fungicidas

tiofanato-metilo y azoxistrobina de dos regiones productoras de fresa, la dosis efectiva de tiofanatometil varió de 0.28 a 9.72 mL/L en el Valle de Maravatío y de 1.39 a 2.99 mL/L en el Valle de Zamora y para azoxistrobina varió de 0.04 a 0.36 mL/L en Maravatío y de 0.07 a 0.99 mL/L en Zamora, mostrando así diferentes grados de sensibilidad en cada zona.

Aunque Pons *et al.* (2020) determinaron que la variabilidad morfológica puede influir también en la sensibilidad, ya que al realizar un estudio con aislamientos de *Phytophthora capsici*, éstos presentaron cinco formas de crecimiento (estrellada, turuloso, estolonífera, filamentoso, petaloide) y se encontró variabilidad en la sensibilidad al mefenoxam, mostrando el 66% de los aislados de baja a intermedia sensibilidad, siendo el resto sensibles.

Por otro lado, según Fuentes *et al.* (2014) mencionan que las melaninas que producen los hongos pueden protegerlos de algunos productos antimicóticos, en el caso de *E. perseae* produce elsinocromos es sus aislado a partir del segundo mes según reporta López (2021) e Hinojosa (2021).

El tratamiento con *L. tridentata* presentó el mayor porcentaje de inhibición en las áreas agroecológicas dos (1421-1640 m.s.n.m.) y cinco (2081-2300 m.s.n.m.) con diferencia significativa en el resto de las áreas, siendo el área tres (1641-1860 m.s.n.m.) donde hubo menor efecto sobre el crecimiento del micelio. Oxiclورو de Cu en las áreas dos (1421-1640 m.s.n.m.) y cinco (2081-2300 m.s.n.m.) logró un mejor control sobre el crecimiento de los aislados de *E. perseae* siendo significativo sobre el resto de las áreas. El sulfato de Cu en los aislados del área uno (1200-1420 m.s.n.m.) y cinco (2081-2300 m.s.n.m.), siendo el área cuatro (1861-2080 m.s.n.m.) donde hubo menos efecto. Por otra parte, con el tratamiento de gluconato de Cu no existió diferencias significativas en el crecimiento del micelio en todas las áreas agroecológicas (Cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentaje de inhibición de micelio de cada fungicida sobre los aislados de *E. perseae* de cada área agroecológica a los 7,15 y 30 días.

Tratamientos	Días	Inhibición del crecimiento del micelio (%)				
		Área uno (1,200-1,420 m.s.n.m.)	Área dos (1421-1640 m.s.n.m.)	Área tres (1641- 1860 m.s.n.m.)	Área cuatro (1861- 2080 m.s.n.m.)	Área cinco (2081-2300 m.s.n.m.)
<i>L. tridentata</i>	7 días	62.53b	78.95ab	60.15b	63.49b	87.93a
	15 días	44.82b	70.00a	45.00b	51.35b	70a
	30 días	57.37b	74.13a	34.04 c	50 b	75a
Oxicloruro de cobre	7 días	47.31b	69.98ab	58.93ab	70.39ab	86.13a
	15 días	33.33b	52.00ab	40.00b	45.94ab	64a
	30 días	57.37b	72.41a	48.93 b	53.84 b	55b
Sulfato de cobre	7 días	76.67ab	72.67ab	55.24ab	41.40b	83.44a
	15 días	54.02a	54.00a	23.08bc	16.13c	62a
	30 días	60.65 a	32.75bc	37.5ab	27.02b	51.66 ab
Gluconato de cobre	7 días	44.04ab	8.075b	47.88a	31.46ab	34.99ab
	15 días	31.03 ab	6.00b	32.50a	20.54 ab	27.5 ab
	30 días	37.70a	8.27a	23.40a	26.15a	21.66a

Valores con distinta letra, en la misma fila, son significativamente distintos ($p > 0.05$).

4.3.2 Productos químicos

Los bioensayos con productos químicos se midieron durante tres meses, en los cuales en el primer mes todos los productos lograron inhibir el crecimiento del micelio en un 100%. Sin embargo, en el segundo mes Azoxistrobin+propiconazol, Tiabendazol, azoxystrobin siguieron teniendo efecto sobre los aislados, al inhibir 100% el crecimiento del micelio. Sin embargo, fludioxonil+cyprodinil y piraclostrobin perdieron efecto en el segundo mes de evaluación, mostrando un porcentaje de inhibición de 93%, esto podría deberse a su vida media para la degradación que de acuerdo con Syngenta (2022) para fludioxonil+cyprodinil es de un promedio de 10 a 30 días, para piraclostrobin de 2 a 36 días y para azoxystrobin es de 17 a 30 días. Mientras que, para propiconazol es de hasta 85 días y para tiabendazol hasta de 120 días. Aunque, según NPIC (2022) se han encontrado una amplia variedad de vidas medias para el mismo fungicida bajo diferentes condiciones ambientales.

En el tercer mes, los productos Azoxistrobin+propiconazol y Tiabendazol continuaron inhibiendo el crecimiento del micelio en un 100%; mientras que, fludioxonil+cyprodinil y piraclostrobin inhibieron 87.52% y 86.35%, respectivamente, fue estadísticamente significativo. Aunque, azoxystrobin perdió efecto, inhibiendo solo el 93.34%, no fue estadísticamente significativo con respecto a Azoxistrobin+propiconazol y Tiabendazol. Todos los productos tuvieron un porcentaje de inhibición de micelio significativo comparado con el testigo (Cuadro 7).

Cuadro 7. Porcentaje de inhibición de micelio de los productos químicos sobre los aislados de *E. perseae* a los 30,60 y 90 días.

Tratamientos	Inhibición del crecimiento del micelio (%)		
	30 días	60 días	90 días
Tiabendazol	100a	100a	100a
Azoxystrobin+propiconazol	100a	100a	100a
Cyprodinil+fludioxonil	100a	93.7b	87.52bc
Piraclostrobin	100a	93.18b	86.35c
Azoxystrobin	100a	100a	93.34ab
Testigo	0b	0c	0d

Valores con distinta letra, en la misma columna, son significativamente distintos ($p > 0.05$).

Los aislados de las diferentes áreas agroecológicas presentaron diferentes grados de sensibilidad a los productos azoxystrobin, fludioxonil+cyprodinil y pyraclostrobin. Los aislados del área cinco (2081-2300 m.s.n.m.) resultaron con menor sensibilidad respecto al resto de los aislados. (Cuadros 8).

Cuadro 8. Porcentaje de inhibición de micelio de cada fungicida sobre los aislados de *E. perseae* de cada área agroecológica a los 30,60 y 90 días.

Tratamientos	Días	Inhibición del crecimiento del micelio (%)				
		Área uno (1,200-1,420 m.s.n.m.)	Área dos (1421-1640 m.s.n.m.),	Área tres (1641- 1860 m.s.n.m.)	Área cuatro (1861- 2080 m.s.n.m.)	Área cinco (2081-2300 m.s.n.m.)
Azoxytrobin	30 días	100a	100a	100a	100a	100a
	60 días	100a	100a	100a	100a	100a
	90 días	99a	99.72a	100a	100a	73.91b
Azoxytrobin+ propiconazol	30 días	100a	100a	100a	100a	100a
	60 días	100a	100a	100a	100a	100a
	90 días	100a	100a	100a	100a	100a
Cyprodinil +fludioxonil	30 días	100a	100a	100a	100a	100a
	60 días	98.07a	98.57a	92.72a	92.5a	86.66b
	90 días	9.5a	98.33a	92.5a	90.5a	67.53b
Pyraclostrobin	30 días	100a	100a	100a	100a	100a
	60 días	95.55a	98.57a	91.36ab	81.66b	98.78a
	90 días	91.75a	95.55a	92.08a	86a	66.37b
Tiabendazol	30 días	100a	100a	100a	100a	100a
	60 días	100a	100a	100a	100a	100a
	90 días	100a	100a	100a	100a	100a

Valores con distinta letra, en la misma fila, son significativamente distintos ($p > 0.05$).

V. CONCLUSIONES

1. La caracterización morfológica (micro y macroscópica) coincidió con la reportada para el hongo *E. perseae*.
2. Los frutos inoculados presentaron síntomas de mancha púrpura o roña, corroborando a *E. perseae* como el agente causal y su presencia en las zonas productoras de aguacate en el estado de Michoacán.
3. La variedad más susceptible en vivero fue “Flor de María”.
4. Los aislados del área uno (1,200-1,420 m.s.n.m.) tuvieron mayor grado de virulencia en la variedad “Flor de María” y los aislados del área tres (1641-1860 m.s.n.m.) en Méndez.
5. Los aislados del área cinco (2081-2300 m.s.n.m.) resultaron los más sensibles a los productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico, pero más resistentes a los productos químicos Azoxistrobin, fludioxonil+cyprodinil y piraclostrobin.
6. Los productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico que presentaron mayor efecto fueron los extractos de *L. tridentata* y el oxiclورو de cobre. Para el control químico fueron azoxystrobin+propiconazol y tiabendazol.

VI. LITERATURA CITADA

- Adama, 2021. <https://www.adama.com/mexico/es>
- Alburquerque A. D. & Gusqui M. R. 2018. Eficacia de fungicidas químicos para el control *in vitro* de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas. *Arnaldoa* vol.25 no.2. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S241332992018000200009&script=sci_arttext&tlng=en
- Alezones J., Perdomo, R., Hernández A., González A. y Pineda J. 2007. Caracterización y evaluación de virulencia en aislamientos de *Rhizoctonia solani* kühn, causante de la mancha bandeada en maíz. *Interciencia*, 32(1), 48-54. Recuperado en 12 de noviembre de 2022, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442007000100010&lng=es&tlng=es.
- Alfaro, E. E., Morales, G. J. L., Pedraza, S. M. E., Chávez, B. A. T., Morales, M. K. L. (2017). Hongos asociados al síndrome de la roña del aguacate en el estado de Michoacán, México Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate. Ciudad Guzmán, Jalisco, México, UMSNH, Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”.
- Anguiano C. J., Alcántar RJ, Toledo BR, Tapia VL, Ruíz CJ, Rodríguez CY. 2006. Caracterización edafo-climática del área productora de aguacate de Michoacán. INIFAP, Libro Técnico no. 4.pp 98-195.
<http://www.avocadosource.com/wac6/es/Extenso/3c-112.pdf>
- Arahana V., Borja E., Salgado C., Tobar J. y Torres M. 2012. Evaluación *in vitro* de fungicidas para el control de *Monilinia* spp. que afecta el cultivo de durazno (*Prunus persica*) en provincias de la Sierra Ecuatoriana. *Avances*, Vol. 4, No. 1, Pags. B5-B10. Disponible en: <https://doi.org/10.18272/aci.v4i1.80>.
- Araya G., P., 2013. Eficiencia de distintos fungicidas sobre el control *in vitro* de *Fusarium oxysporum* Aislado De Frutos Kiwi. Disponible en:
http://dspace.utalca.cl/bitstream/1950/9559/2/araya_gonzalez.pdf

- Arnone, A. , Assante, G. , Di Modugno, V. , Merlini, L. y Nasini, G. (1988) Perylenequinones de plántulas de pepino infectadas con *Cladosporium cucumerinum* . *Fitoquímica* , 6 , 1675 – 1678 .
- Arteaga S, Andrade CA, Cárdenas R. 2005. *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic. *Ethnopharmacol.* 98(3). doi: 10.1016/j.jep.2005.02.002.
- ATEEC (Antes todo esto era campo), 2022.Cómo utilizar gluconato de cobre en agricultura. Disponible en: <https://www.antestodoestoeracampo.net/gluconato-de-cobre/>
- Bary de H. A. 1874. *Protomyces microsporus* und seine Verwandten: *Botanische Zeitung*: 81–92
- Becerra, M. D. 2019. Síndrome de roña en frutos de aguacate ‘Hass’ y Criollos: hongos asociados, cambios fisiológicos fisicoquímicos en los frutos.” Universidad autónoma de Chapingo.
- Bell, A. A., & Wheeler, M. H. (1986). Biosynthesis and functions of fungal melanin. *Annual Review of Phytopathology*, 24, 411-451.
- Carreira, A., Ferreira, S. A. M., & Loureiro, V. (2001). Brown pigments produced by *Yarrowia lipolytica* result from extracellular accumulation of homogentisic acid. *Applied and environmental microbiology*, 67, 3463-3468.
- Casadevall, A. & Pirofski, L. 1999. Microbial virulence results from the interaction between host and microorganism. *Trends Microbiol* 2003; 11:157-158.
- Casadevall, A. & Pirofski, L.A. 2009. "Virulence factors and their mechanisms of action: the view from a damage –response framework". *Revista Water and Health*.
- Chung, K. R. 2011. *Elsinoë fawcettii* y *Elsinoë australis*: los patógenos fúngicos que causan la sarna de los cítricos. *Patología vegetal molecular*, 12: 123-135. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00663.x>
- Correia M., Delerue M. C. 2016. Fungicidas. *Encyclopedia of Food and Health*.
- Crous P.W., Verkley G.J.M., Groenewald J.Z. 2009. Fungal biodiversity. CBS laboratory manual series 1. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, the Netherlands.
- Davis, V. M. y Stack, M. E. 1991. Mutagenicidad de la estafilotoxina III, un metabolito de *Alternaria alternata*. *Aplicación Reinar. Microbiol.* 57, 180 - 182.

- Espíndola, B. M.C. & Álvarez, 2019. Perspectivas de nuevas selecciones de aguacate en México. <http://avocadosource.com/WAC9/13-EspindolaBarqueraMC2019.pdf>
- Espinoza A. D., Silva R. H. V., Leyva M. S. G., Marbán M. N., Rebollar A. Á. 2017. Sensibilidad de aislados de *Colletotrichum acutatum* obtenidos de fresa a los fungicidas metil tiofanato y azoxystrobin. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 35 (2). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1612-4>
- Everett K. R, Rees-George J., Pushparajah I.P.S., Manning M.A. y Fullerton R.A. 2011. Molecular Identification of *Sphaceloma perseae* (Avocado Scab) and its Absence in New Zealand. *Journal of Phytopathology*, 159(2). 106-113. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2010.01739.x>
- Fan, X. L., Barreto, R. W., Groenewald, J. Z., Bezerra, J. D. P., Pereira, O. L., Cheewangkoon, R., Mostert, L., Tian, C.M., Crous, P.W. 2017. Phylogeny and taxonomy of the scab and spot anthracnose fungus *Elsinoe* sp. (Myriangiales, Dothideomycetes) Pp.1-20. doi: 10.1016/j.simyco.2017.02.001.
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación Manual de inspección de los alimentos basada en el riesgo. Rome. 2008. Estudio FAO Alimentación y Nutrición 89. Available from: <http://www.fao.org/3/a-i0096s.pdf>
- Flores, S. C. U. 2015. Evaluación de la Tasa de Crecimiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands en Medios Alternativos.
- Frac, 2019. Clasificación fungicidas, bactericidas según modo acción, disponible en: <https://www.syngenta.es/sites/g/files/zhg516/f/2019/04/clasificacion-fungicidas-bactericidas-segun-modo-accion.pdf>
- Fuentes M., Hernández R., Godillo D., Amaro J., Falconer M. A., Alburquenque C., Tapia C. V. 2014. Actividad antifúngica de melanina en cepas clínicas de *Candida* spp. *Rev Chilena Infectol*; 31 (1): 28-33.
- Gallegos, E. R. 1983. “Aspectos del Aguacate y su Producción en Michoacán.” Ed. Patronato Universitario, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de Méx., México. 317 p.
- García O. H. A., Chan C. W., Buenrostro N. M. T., Valadez R. P. 2021. Efectividad in vitro de fungicidas químicos contra *Curvularia eragrostidis* (Henn) J. A. Mey, agente

- causal de la mancha foliar en piña. Scientia Agropecuaria vol.12 no.3. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.047>
- García R. J., Casadevall A. 2001. Melanization of *Cryptococcus neoformans* reduces its susceptibility to the antimicrobial effects of silver nitrate. Med Mycol. 39(4):353-7. doi: 10.1080/mmy.39.4.353.357. PMID: 11556765.
- Gowan Mexicana S.A.P.I de C.V. 2022. Org fung, ficha técnica. Disponible en: www.gowanmexicana.com
- Grupo de Investigación: Patología Vegetal, 2009, Coevolucion planta-virus - patogenicidad y virulencia, Centro o Instituto I+D+i: Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, CBGP, Departamento: Biotecnología. Disponible en: https://www.upm.es/observatorio/vi/index.jsp?pageac=actividad.jsp&id_actividad=62661
- Harish S., Manikandan R., Karthikeyan G., Raguchander T. 2018. Comparative Proteomic Analysis of Different Isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* to Exploit the Differentially Expressed Proteins Responsible for Virulence on Tomato Plants. Front. Microbiol. 9:420 doi: 10.3389/fmicb.2018.00420.
- Henson J. M., Butler M. J., y Day A.W. 1999. The dark side of mycelium: melanins of phytopathogenic fungi. Annual review of phytopathology, 37, 447-471. doi: 10.1146/annurev.phyto.37.1.447.
https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/2265/tesis_73d0e0.PDF?sequence=1&isAllowed
- Henson, J. M, Butler, M. J., & Day, A. W. (1999). The dark side of mycelium: melanins of phytopathogenic fungi. Annual review of phytopathology, 37, 447-471
- Hinojosa P. A. G. (2021). Caracterización morfológica y patogenicidad de hongos asociados al síntoma de roña del aguacate (*Persea americana* Mill.), en Michoacán.
- Horst, R. K. 2013. Spot Anthracnose. In: Westcott's Plant Disease Handbook. Springer, Dordrecht. pp 385-388.
- Hyun, J.W., Peres, N.A., Yi, S.Y., Timmer, L.W., Kim K.S., Kwon, H.M., Li, H.C. 2007. Development of PCR assays for the identification of species and pathotypes of *Elsinoe* causing scab on citrus. Plant Dis 91:865–870.
- Industrias Agrícolas Unidas (IAUSA), 2022. Headline®. <https://iausa.com.mx/>

- Instituto Regional de Estudios de Sustancias Tóxicas (IRET). 2022. Manual de Plaguicidas de Centroamérica. Destino ambiental. Diponible en:
<http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/destino-ambiental#:~:text=La%20vida%20media%20o%20DT,aire%2C%20suelo%2C%20biota>
- IRET. Instituto Regional de Estudios de Sustancias Tóxicas. 2022. Manual de Plaguicidas de Centroamérica. Destino ambiental. Diponible en:
<http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/destino-ambiental#:~:text=La%20vida%20media%20o%20DT,aire%2C%20suelo%2C%20biota>
- Jacobson, Eric S. (2000). Pathogenic roles for fungal melanins. *Clinical microbiology reviews*, 13, 708-717. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.4.708>
- Jenkins, A. 1934. "Historical Records of Avocado Scab in Florida and Cuba" , *California Avocado Association*. Retrieved 11 November 2015.
- Karadimos D. A., Karaoglanidis G. S. y Tzavella K. K., 2005. Biological activity and physical modes of action of the Qo inhibitor fungicides trifloxystrobin and pyraclostrobin against *Cercospora beticola*. *Crop Protection*, 24(1): 23–29
- Kenneth, H. R. 2013. "Westcott's Plant Disease Handbook" p 577.
- Kirkby E. A. and Römheld V. 2007. Micronutrients in plant physiology: functions, uptake and mobility. Proceedings 543, The International Fertilizer Society, P. O. Box, York, YO32 5YS, United Kingdom. Available from:
<https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/MicronutrientesenlaFisiologia.pdf>
- Kogej T., Gorbushina A. A., & Gunde-cimerman, N. 2006. Hypersaline conditions induce changes in cell-wall melanization and colony structure in a halophilic and a xerophilic black yeast species of the genus *Trimmatostroma*. *Mycological Research*, 110, 713-724.
- Langfelder K., Streibel M., Jahn B., Haase G., & Brakhage A. A. (2003). Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 38, 143-158.

- Li Z, Dang, *et al.*, 2018. Morphological characterization and optimization of conditions for conidial production of *Elsinoë ampelina*, the causal organism of grapevine anthracnose. *J Phytopathol.* 166:420–428. DOI: 10.1111/jph.12702.
- Lira S. R. H., Balvantín G. G. F., Hernández F. D., Gamboa C. R., Jasso R. A. D., Jiménez D. F., 2003. "Evaluation of resin content and the antifungal effect of *Larrea tridentata* (SESEE and MOC. Ex D.C.) Coville extracts from two mexican deserts against *Phytium* sp. Pringsh". *Revista Mexicana de Fitopatología*, **21**(2):97-101 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221217>
- Lira, R. H. 2003. Estado Actual del Conocimiento sobre las Propiedades Biocidas de la Gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, **21**(2),214-222.[fecha de Consulta 10 de Septiembre de 2022]. ISSN: . Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221217>
- Liu W. Z., Shen Y. X., Liu X. F., Chen Y. T. y Xie J. L. 2001. Una nueva perilenoquinona de *Hypomyces* sp. *Barbilla química Letón.* 12, 431 – 432.
- López B. A., López B. S., Vázquez B. M. E., Rodríguez H. S. A., Mendoza E. M., Padrón C. E., 2005. "Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* SCHLECHTEND f. sp. *lycopersici* (SACC.) SNYDER Y HANSEN. *Rhizotocnia solani* KÜHN y *Verticillium dahliae* KLEB. Mediante extractos vegetales acuosos". *Revista Mexicana de Fitopatología*, **23**(2): 183-190.
- López, C. C. I., 2021. Aislamiento e identificación morfológica y molecular del agente causal de la roña del aguacate (*Persea americana* mill.), en Michoacán y Jalisco. Disponible en:http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/6431/FQFB-M-2021-0860.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- López C. E. 2006. Dimorfismo y patogenia de *Histoplasma capsulatum*. *Revista Argentina de Microbiología*: 235-242. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=213016794012>.
- Lund N. A., Robertson A. y Whalley W. B. 1953. La química de los hongos. Parte XXI. Asperxanthone y un examen preliminar de aspergillin . *J. Chem. Soc.* 494 , 2324 - 2439 .
- Marroquín, P. F. J. 1999. Factores que favorecen la incidencia de roña (*Sphaceloma perseae* Jenkin.) en el cultivo del aguacate (*Persea americana* Mill.) ‘Hass’, en tres regiones

- agroclimáticas de Michoacán. México. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 309-312. Disponible en: https://www.avocadosource.com/WAC4/WAC4_p309.pdf
- Martin B. L. 2012. Caracterización molecular, fenotípica, patogénica y medios de control de *Phaeocrea monium aleophilum* y otros hongos asociados a los decaimientos de la vid en Castilla de León. Microbiología Clínica, 31 (6). Pp. 357-362. Disponible en: https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/2265/tesis_73d0e0.PDF?sequence=1&isAllowed
- Martínez H. M. S., Morales G. J. L., Pedraza S. M. E., Morales M. K. L. 2017. Control químico *in vitro* de los patógenos relacionados con el síndrome de roña en aguacate en diferentes zonas de Michoacán, México. Disponible en: http://www.avocadosource.com/Journals/Memorias_VCLA/2017/Memorias_VCLA_2017_PG_190.pdf
- McGrath, M.T. 2004. ¿Qué son los fungicidas? Trans. Santamaria, L., Ureta J.C. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2004-0825-01
- Mead G., Hudson W., Hinton M. 1993 Microbiological survey of five poultry processing plants in the UK. Br Poult Sci.; 34:497-503.
- Morales G. J. L. 2017. Estado actual de las enfermedades del fruto del aguacate en México: roña y antracnosis. p 118-121. Disponible en: Nuestro mexico.com, <http://www.nuestro-mexico.com/Michoacan-de-Ocampo/Ziracuaretiro/Areas-de-menos-de-500-habitantes/El-Copal/> consultada el 13 de Diciembre del 2021
- Morales G. J. L. 2022. Esclarecimiento del agente causal del anillamiento del pedúnculo y roña del aguacate. Memorias del 15° Congreso Nacional del sistema producto aguacate. Uruapan Michoacan Mexico. http://www.conapavirtual.com/MODULArevista_conapa/modulos/web/www2.
- National Pesticide Information Center (NPIC). 2022. ¿Qué pasa con los pesticidas liberados en el medio ambiente? Disponible en: <http://npic.orst.edu/index.es.html>
- Nosanchuk, J. D., & Casadevall, A. (2006). Impact of melanin on microbial virulence and clinical resistance to antimicrobial compounds. Antimicrobial agents and chemotherapy, 50, 3519-3528.
- Palmateer A. J. 2006. Florida Plant Disease Management Guide: Avocado (*Persea americana*). Pp 233'.

- Pandey D, Tripathi N, Tripathi R, Dixit S. 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 1982; 89: 344-349. Available from: <https://www.jstor.org/stable/43214961>
- Peñuelas R. O., Arellano G. M., Vargas A. I. C., Lares V. F., Cantú S. E. U., Hernández R. S.E, Gutiérrez C. M. A., Mungarro I. C. 2015. Bioactividad *in vitro* de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) sobre la inhibición de hongos poscosecha: *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum* y *Rhizopus oryzae*. Polibotánica no.40. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682015000200012
- Perera G. S. D., Hernández H. J. M., Siverio R. F. 2010. Evaluación de la eficacia *in vitro* de productos naturales y químicos en el control de especies fúngicas que afectan al cultivo del plátano en canarias. Disponible en: https://www.agrocabildo.org/publica/publicaciones/frut_363_platanera.pdf
- Pérez G. A., Fernández O. D., De Vicente A., Torés J.A, López R. F.J. 2005. Resistencia a inhibidores de la biosíntesis de ergosterol y a estrobilurinas en oídio de cucurbitáceas. Disponible en <https://www.phytoma.com/la-revista/phytohemeroteca/173-noviembre-2005/resistencia-a-inhibidores-de-la-biosntesis-de-ergosterol-y-a-estrobilurinas-en-odio-de-cucurbitceas>
- Plantwise 2020, ©CAB International. Published under a CC-BY-SA 4.0 licence. www.plantwise.org.
- Plonka, P. M., & Grabacka, M. (2006). Melanin synthesis in microorganisms biotechnological and medical aspects. Acta biochimica Polonica, 53, 429-443.
- Pons H. J. L., Guerrero A. B. Z., González C. M. M., González P. E., Villalobos R. S., Muñoz S. C. I., 2020. Variabilidad fenotípica de aislados de *Phytophthora capsici* en Guanajuato. Rev. Mex. Cienc. Agríc vol.11 no.8 Texcoco. Disponible en: <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i8.2618>
- Revista Mexicana del comercio exterior (2020); disponible en <https://www.estrategiaaduanera.mx/mexico-lidera-exportacion-de-aguacate-a-nivel-mundial/>

- Rivas, V. P. 1998. Obtención de monoconidiales y cuantificación de esporas de *Colletotrichum gloesporioides*, Penz; *Sphaceloma perseae*, Jenkin, causantes de la antracnosis y roña del aguacate *Persea americana*, Mill, var. Hass en el estado de Michoacán.
- Rodríguez C. J. 2017. Inocuidad en Aguacate, Unidad de Servicios Analíticos y Metrológicos, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.
- ROTAM. 2016. Ficha técnica Azoxystrobin. Consultado 07 dic 2017. Disponible en: https://www.rotam.com/andina/UserFiles/ufyhto/image/products/fungicida/FT_Quattro_250_SC.pdf
- Salazar E., Hernández R., Tapia A., Luis Gómez A. 2012. Identificación molecular del hongo *Colletotrichum* spp., aislado de banano (*musa* spp) de altura en la zona de Turrialba y determinación de su sensibilidad a fungicidas poscosecha. Agronomía Costarricense. pag. 53-68. Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/ac/v36n1/a04v36n1.pdf>
- Salazar G. S. *et al.* 2018. Fenología del aguacate ‘Méndez’ en el sur de Jalisco, México.
- Sánchez L., Guzmán C. Á., Suarez P. C., Vélez Z. S. 2021. Efecto *in vitro* de fungicidas para el control de *Colletotrichum* SPP., en frutales Manabí Ecuador José Carreño-ToalaEcuaplantas compañía limitada.
DOI: <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol14iss35.2021pp37-42p>
- Santos, R. F. *et al.* 2018. Aetiology of anthracnose on grapevine shoots in Brazil. Plant Pathology, 67, 692–706. <https://doi.org/10.1111/ppa.12756>.
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) (2022). <https://www.gob.mx/siap> consultada en septiembre de 202.
- Smart N. A. 2003. Fungicides. in Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition),
- Soriano V. E., Longinos M. G., Fernandez nR. P., Velasquez Q. E., Ciprian C. A., Salazar G. F. 2004. Virulence of the nine serovar reference strains of *Haemophilus paragallinarum*. Avian Dis; 48:886-889.
- Stack M. E., Mazzola E. P., Page, S. W., Pohland A.E., Highet R.S., Tempesta M. S. y Corely D. G. 1986. Metabolitos mutagénicos de perilenoquinona de *Alternaria alternata* : altertoxinas I, II y III . *J.Nat. Pinchar*. **49** , 866 - 871 .

- Stierle A. C. y Cardellina, J. H. 1989. Fitotoxinas de *Alternaria alternata* , un patógeno de mala hierba manchada . *J.Nat. Pinchar.* **52** , 42 – 47 .
- Syngenta, 2021. <https://www.syngenta.com.mx/> consultada en septiembre de 2021.
- Tabuchi H., Tajimi A. e Ichihara A. 1994. Metabolitos fitotóxicos aislados de *Scolecotrichum graminis* Fuckel . *Biosci. Biotecnología. Bioquímica* **58** , 1956 - 1959 .
- TECAGR (Técnico agrícola), 2013. Tipos de cobres agrícolas. Disponible en: <https://www.tecnicoagricola.es/tipos-de-cobres-agricolas/#:~:text=Lo%20mejor%20es%20el%20OXICLORURO,la%20germinacion%20de%20la%20espora>
- Tekade A., Koche M., Kothikar R., & Surpam A. (2017). Efficacy of fungicides and bioagents against *Curvularia lunata* causing blight of coleus under laboratory conditions. *Journal of Medicinal Plants*, 5(2), 189-191.
- Urán, M. E., & Cano, L. E. (2008). Melanina : implicaciones en la patogénesis de algunas enfermedades y su capacidad de evadir la respuesta inmune del hospedero. *Asociación Colombiana de Infectología*, 12, 357-377.
- Urrea, J. C. F. & Cardona C. J. E. 2020. Manejo integrado de las principales plagas y enfermedades en aguacate Hass (*Persea americana*) en el departamento de Caldas. Programa de Agronomía Manizales.
- Vargas A. I. C., Araujo B. S., Martínez T. M. A., 1997. "Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento y producción de aflatoxinas de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*". *Revista Mexicana de Fitopatología*, **15**(2): 91-96
- Vargas A., I., Contreras V.A., Hernández M., J., Martínez T., A., 2006. “Arilselenofosfatos con acción antifúngica selectiva contra *Phytophthora omnivora*”, *Revista de fitotecnia Mexicana. Sociedad Mexicana de Fitogenética*, A.C. Chapingo, México. 28(002):171-174. ISSN 0187-7380.
- Vidales, F. J. A. 1996. The Sphaceloma perseae in avocado *Persea americana* in
- Wakamatsu K., y Ito, S. (2002). Advanced chemical methods in melanin determination. *Pigment Cell Research*, 15, 174-183.

- Weiss U., Merlini L. y Nasini, G. (1987) Perilenoquinonas naturales . En: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* (Herz, W. , Grisebach, H. , Kirby, GW and Tamm, C. , eds), pp. 2 – 71 . Nueva York: Springer-Verlag.
- Wong F., Midland S., De la Cerda K. 2007. Occurrence and distribution of QoI-resistant isolates of *Colletotrichum cereale* from annual bluegrass in California. *Plant Disease*. 91:1531-1546. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-12-1536>
- Wu H., Lao X. F., Wang Q. W. y Lu R. R. 1989. The shiraiachromes: nuevos pigmentos de perilenoquinona fúngica de *Shiraia bambusicola* . *J.Nat. Pinchar*. 5, 948-951.
- Yoshihara, T. , Shimanuki, T. , Araki, T. y Sakamura, S. (1975) Phleichrome, un nuevo compuesto fitotóxico producido por *Cladosporium phlei* agrícola Biol. química **39** , 1683 – 1684. Yucatán State.

VII APÉNDICE

Cuadro 9. Variabilidad de colores en aislados de *E. perseae* durante cinco meses de desarrollo.

Aislado	Área uno									
	Un mes		Dos meses		Tres meses		Cuatro meses		Cinco meses	
	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV
Cc21	Rosa muy Claro	20:10:100 30:40:100	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Rojo claro	10:70:90	Naranja fuerte	35:100:80
	Rosa claro	40:70:100	Rosa muy claro	20:10:100	Naranja claro	30:70:100	Rojo fuerte	10:100:60	Naranja muy fuerte	30:100:80
	Naranja muy claro	25:05:60	Amarillo claro	55:40:100	Naranja muy claro	40:70:100	Rosa muy fuerte	5:50:90	Café rojizo	25:100:80
	claro	25:10:50	Café muy claro	30:50:90	Naranja fuerte	35:100:80	Rosa fuerte	15:40:90	Café rojizo muy fuerte	20:80:70
	Gris Claro	50:90:100	Naranja fuerte	35:100:80	Naranja muy fuerte	30:100:80	Naranja claro	30:70:100	Café rojizo claro	15:60:70
	Gris medio		Gris medio	25:10:50	Amarillo claro	55:40:100	Café rojizo claro	15:60:70	Café claro	10:30:80
	Amarillo fuerte		Amarillo fuerte	50:90:100	Amarillo fuerte	50:90:100	Amarillo medio	50:60:100	Rosa muy fuerte	15:100:30
							Café claro	10:30:80	Rojo muy fuerte	10:90:60
Cc24							Gris claro	25:5:60	Amarillo fuerte	50:90:100
									Café medio	15:40:70
	Rosa muy Claro	20:10:100 30:40:100	Rosa muy claro	20:10:100	Beige	45:20:100	Rojo claro	10:70:90	Naranja fuerte	35:100:80
	Rosa claro	55:40:100	Beige	45:20:100	Naranja muy claro	40:70:100	Rojo fuerte	10:100:60	Naranja muy fuerte	30:100:80
	Amarillo claro	50:90:100	Amarillo medio	50:60:100	Naranja fuerte	35:100:80	Rosa muy fuerte	5:50:90	Café rojizo	25:100:80
	Amarillo fuerte	40:70:100	Naranja fuerte	35:100:80	Rojo claro	10:70:90	Rosa fuerte	15:40:90	Café rojizo muy fuerte	20:80:70
	Naranja muy claro	45:05:30	Naranja muy fuerte	30:100:80	Rojo fuerte	10:100:60	Naranja claro	30:70:100	Café rojizo claro	15:60:70
	claro		fuerte	50:90:100	Naranja medio	20:70:90	Café rojizo claro	15:60:70	Café claro	10:30:80
Cc30	Gris fuerte		Amarillo fuerte	45:5:30	Amarillo medio	50:60:100	Amarillo medio	50:60:100	Rosa muy fuerte	15:100:30
			Gris fuerte		Amarillo fuerte	50:90:100	Café claro	10:30:80	Rojo muy fuerte	10:90:60
							Gris claro	25:5:60	Amarillo fuerte	50:90:100
							Café rojizo	25:100:80	Café medio	15:40:70
							Naranja fuerte	35:100:80	Amarillo claro	55:40:100
									Amarillo verdoso claro	50:70:80
	Rosa muy Claro	20:10:100 45:5:30	Amarillo verdoso claro	50:70:80	Beige	45:20:100	Rojo claro	10:70:90	Naranja muy fuerte	30:100:80
	Gris fuerte	25:5:60	Amarillo Claro	55:40:100	Naranja medio	20:70:90	Rojo fuerte	10:100:60	Rosa muy fuerte	15:100:30
Cc35	Gris claro	40:60:100	Naranja muy fuerte	30:100:80	Naranja muy fuerte	30:100:80	Café claro	10:30:80	Negro	10:100:10
	Rosa claro	50:90:100	Rosa muy claro	20:10:100	Naranja claro	30:70:100	Amarillo claro	55:40:100	Verde fuerte	50:90:50
	Amarillo fuerte	40:70:100	Beige	45:20:100	Amarillo fuerte	50:90:100	Amarillo fuerte	50:90:100	Gris fuerte	45:5:30
	Naranja muy claro		Café muy claro	30:50:90	Amarillo verdoso claro	50:70:80	Amarillo verdoso claro	50:70:80	Amarillo fuerte	50:90:100
	claro		Amarillo medio	50:60:100	Gris claro	25:5:60	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja claro	30:70:100
			Amarillo fuerte	50:90:100	Rosa muy fuerte	5:50:90	Gris medio	50: 10:50	Naranja muy claro	40:70:100
			Gris claro	25:5:60			Gris claro	25:5:60		
			Gris fuerte	45:5:30						
Cc35	Rosa muy claro	20:10:100	Rosa muy claro	20:10:100	Rojo claro	10:70:90	Rojo claro	10:70:90	Beige	45:20:100

	Rosa claro	40:60:100	Beige	45:20:100	Naranja medio	20:70:90	Rojo fuerte	10:100:60	Naranja muy claro	40:70:100
	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja muy claro	40:70:100	Café claro	10:30:80	Amarillo verdoso medio	45:100:80	Naranja claro	30:70:100
	Amarillo fuerte	25:5:60	Naranja claro	20:70:90	Café rojizo	25:100:80	Verde medio	35:100:80	Amarillo fuerte	50:90:100
	Gris claro		Naranja medio	50:90:100	Amarillo fuerte	50:90:100	Naranja fuerte	30:100:80	Verde fuerte	50:90:50
			Amarillo fuerte	45:100:80	Gris claro	25:5:60	Naranja muy fuerte	10:30:80	Negro	10:100:10
			Amarillo verdoso medio				Café claro	5:50:90	Naranja muy fuerte	30:100:80
							Rosa muy fuerte	15:60:70		
							Café rojizo claro	25:100:80		
							Café rojizo			
Cc44	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Naranja claro	30:70:100	Rojo muy fuerte	10:90:60
	Amarillo claro	55:40:100	Amarillo claro	55:40:100	Amarillo fuerte	50:90:100	Naranja medio	20:70:90	Rojo fuerte	10:100:60
	Amarillo fuerte	50:90:100	Amarillo medio	50:60:100	Naranja muy claro	40:70:100	Rosa muy fuerte	5:50:90	Rosa muy fuerte	15:100:30
	Gris medio	25:10:50	Café muy claro	30:50:90	Café muy claro	30:50:90	Café claro	10:30:80	Verde fuerte	50:90:50
	Gris claro	25:5:60	Amarillo fuerte	50:90:100	Naranja claro	30:70:100	Amarillo verdoso claro	50:70:80	Verde medio	50:80:60
	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja muy claro	40:70:100	Amarillo medio	50:60:100	Amarillo verdoso medio	45:100:80	Amarillo verdoso claro	50:70:80
			Amarillo verdoso medio	45:100:80	Naranja fuerte	35:100:80	Gris fuerte	30:100:80	Amarillo verdoso medio	45:100:80
			Gris fuerte	45:5:30	Gris medio	25:10:50	Naranja muy fuerte	25:5:60	Verde claro	55:90:70
					Amarillo verdoso medio	45:100:80	Gris claro		Verde fuerte	50:90:100
									Amarillo fuerte	35:100:80
									Naranja fuerte	40:90:60
									Café verdoso	
Cc50	Gris Fuerte	45:5:30	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Rojo claro	10:70:90	Rosa muy fuerte	15:100:30
	Rosa muy claro	20:10:100	Amarillo Claro	55:40:100	Amarillo claro	55:40:100	Rojo fuerte	10:100:60	Rojo muy fuerte	10:90:60
	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja muy claro	40:70:100	Rosa muy fuerte	5:50:90	Café rojizo muy fuerte	20:80:70
	Amarillo claro	55:40:100	claro	50:90:100	Naranja claro	30:70:100	Café muy claro	30:50:90	Naranja muy fuerte	30:100:80
	Amarillo medio	50:60:100	Amarillo fuerte	50:60:100	Rosa fuerte	15:40:90	Rosa medio	20:30:100	Amarillo fuerte	50:90:100
			Amarillo medio	25:5:60	Amarillo fuerte	50:90:100	Café claro	10:30:80	Amarillo verdoso medio	45:100:80
			Gris claro	25:10:50	Amarillo verdoso medio	45:100:80	Gris claro	25:5:60	Verde medio	50:80:60
			Gris medio	30:50:90	Gris fuerte	45:5:30	Amarillo verdoso medio	45:100:80	Verde fuerte	30:50:90
			Café muy claro	45:100:80	Negro	10:100:10	medio	30:100:80	Café muy claro	35:100:80
			Amarillo verdoso medio				Naranja muy fuerte	40:70:100	Naranja fuerte	
							Naranja muy claro	50:90:100		
							Amarillo fuerte	20:80:70		
							Café rojizo muy fuerte	25:10:50		
							Gris medio			

Área dos

Aislado	Un mes		Dos meses		Tres meses		Cuatro meses		Cinco meses	
	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV
Zu8	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Rojo fuerte	10:100:60
	Naranja claro	30:70:100	Naranja claro	30:70:100	Naranja muy claro	10:100:10	Rojo claro	10:70:90	Rojo muy fuerte	10:90:60

	Negro	10:100:10	Negro	10:100:10	Gris medio	25: 10:50	Rojo fuerte	10:	Naranja muy fuerte	30:100: 80
	Gris medio	25:10:50	Gris medio	25:10:50	Café muy claro	30: 50:90	Rojo muy fuerte	100:60	Café rojizo muy fuerte	15:100:30
	Gris claro	25:05:60	Amarillo claro	55:40:100			Gris fuerte	10: 90:60	Negro	10:100:10
								45: 5:30	Verde medio	50: 80:60
									Naranja medio	20:70:90
Zu19	Beige	45:20:100	Amarillo	50:70:80	Amarillo fuerte	50: 90:100	Rojo claro	10:70:90	Negro	10:100:10
	Gris fuerte	45:05:30	verdoso claro	50:80:60	Café medio	15:40:70	Amarillo verdoso	50: 70: 80	Amarillo fuerte	50: 90:100
	Café verdoso claro	40:60:70	Verde medio	25:10:50	Naranja fuerte	35: 100: 80	claro	45:	Verde fuerte	50:
	Amarillo medio	50: 60:100	Gris medio		Amarillo verdoso	45: 100:80	Amarillo verdoso	100:80		90:5050:70:80
	Naranja muy claro	40:70:100			medio	30: 50:90	medio	25: 10:50		
					Café muy claro		Gris medio			
Zu22	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Rojo claro	10:70:90	Rojo muy fuerte	10: 90:60
	Gris fuerte	45:05:30	Rojo claro	10:70:90	Rojo claro	10:70:90	Rosa muy fuerte	5: 50:90	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30
	Naranja claro	30:70:100	Rojo fuerte	10: 100:60	Rosa muy fuerte	05: 50:90	Gris medio	25: 10:50	Negro	10:100:10
	Gris claro	25:05:60	Gris claro	25: 5: 60	Café medio	15:40:70	Café claro	10:30:80	Gris fuerte	45: 5:30
			Gris fuerte	45: 5:30	Gris claro	25: 5: 60	Gris claro	25: 5: 60	Café verdoso claro	50: 70: 80
			Naranja claro	30:70:100	Gris medio	25: 10:50	Gris fuerte	45: 5:30		
					Gris fuerte	45: 5:30				
					Café claro	10:30:80				
Zu25	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Rojo claro	10:70:90	Naranja claro	30:70:100	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30
	Negro	10:100:10	Naranja claro	30:70:100	Rosa claro	30: 40:100	Naranja medio	20:70:90	Rojo muy fuerte	10: 90:60
	Gris fuerte	45:05:30	Naranja medio	20:70:90	Gris medio	25: 10:50	Rojo claro	10:70:90	Negro	10:100:10
	Amarillo medio	50: 60:100	Amarillo	45: 100:80	Gris claro	25: 5: 60	Gris medio	25: 10:50	Gris fuerte	45: 5:30
	Verde medio	50:80:60	verdoso medio	25: 10:50	Amarillo claro	50: 70: 80	Amarillo verdoso	45:	Verde fuerte	50: 90:50
			Gris medio	55: 40: 100			medio	100:80		
			Amarillo claro				Amarillo claro	55: 40:		
							Negro	100		
								10:100:10		
Zu29	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Rojo claro	10:70:90	Rojo claro	10:70:90	Naranja fuerte	35: 100: 80
	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja muy	40:70:100	Gris claro	25: 5: 60	Rosa muy fuerte	5: 50:90	Naranja muy fuerte	30:100: 80
	Negro	10:100:10	claro	20:70:90	Amarillo verdoso	45: 100:80	Naranja medio	20:70:90	Rojo muy fuerte	10: 90:60
	Gris fuerte	45:05:30	Naranja medio	25: 10:50	medio	10:100:10	Gris claro	25: 5: 60	Café rojizo muy fuerte	15:100:30
	Amarillo claro	55:40:100	Gris medio	45: 100:80	Negro Gris medio	25:10:50	Amarillo verdoso	45:	Negro	10:100:10
			Amarillo	45:05:30	Amarillo verdoso	45:100:80	medio	100:80	Gris fuerte	45: 5:30
			verdoso medio	50: 70: 80	medio		Negro	10:100:10	Café verdoso claro	40: 60:70
			Gris fuerte							
			Amarillo claro							
Zu50	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Rosa claro	30: 40:100	Naranja muy claro	30:70:100	Naranja muy fuerte	30:100: 80
	Negro	10:100:10	Naranja muy	40:70:100	Rojo claro	10:70:90	Rojo claro	10:70:90	Café rojizo muy fuerte	15:100:30
	Gris fuerte	45:05:30	claro	35: 100: 80	Gris claro	25: 5: 60	Gris fuerte	45: 5:30	Negro	10:100:10
			Naranja fuerte	30:100: 80	Café claro	10:30:80	Café claro	10:30:80	Café verdoso claro	40: 60:70
			Naranja muy	05: 50:90	Gris fuerte	45: 5:30	Negro	10:100:10	Gris fuerte	45: 5:30
			fuerte	10:30:80	Negro	10:100:10				
				45:05:30						

	Rosa muy fuerte	10:100:10
	Café claro	
	Gris fuerte	
	Negro	

Área tres										
Aislado	Un mes		Dos meses		Tres meses		Cuatro meses		Cinco meses	
	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV
Za11	Café verdoso claro	50: 70: 80	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Naranja fuerte	35: 100: 80	Naranja muy fuerte	30:100: 80
	Verde medio	50: 80:60	Naranja muy claro	30:70:100	Amarillo fuerte	50: 90:100	Naranja muy fuerte	30:100: 80	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30
	Amarillo fuerte	50: 90:100		40: 90:60	Café verdoso	40: 90:60	Café verdoso claro	40: 60:70	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
	Amarillo claro	55: 40: 100	Café verdosos	50: 90:100	Naranja muy claro	40:70:100	Gris medio	25: 10:50	Verde fuerte	50: 90:50
Za12			Amarillo fuerte	25: 5: 60	Naranja fuerte	35: 100: 80	Amarillo fuerte	50: 90:100	Amarillo fuerte	50: 90:100
			Gris claro				Café muy claro	30: 50:90	Verde claro	55: 90:70
	Amarillo verdoso medio	45: 100:80	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Naranja fuerte	35: 100: 80	Naranja muy fuerte	30:100: 80
		30: 50:90	Naranja muy claro	40:70:100	Amarillo fuerte	50: 90:100	Naranja muy fuerte	30:100: 80	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30
Za14	Café muy claro	45: 5:30	claro	40: 90:60	Café verdoso	40: 90:60	Café verdoso claro	40: 60:70	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
	Gris fuerte	50: 90:100	Café verdosos	50: 90:100	Naranja muy claro	40:70:100	Gris medio	25: 10:50	Verde fuerte	50: 90:50
	Amarillo fuerte	55: 40: 100	Amarillo fuerte	25: 5: 60	Naranja fuerte	35: 100: 80	Amarillo fuerte	50: 90:100	Amarillo fuerte	50: 90:100
	Amarillo claro	30:100: 80	Gris claro				Café muy claro	30: 50:90	Verde claro	55: 90:70
Za15	Naranja muy fuerte									
	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Naranja fuerte	35: 100: 80	Naranja muy fuerte	30:100: 80
	Café verdoso claro	50: 70: 80	Naranja muy claro	40:70:100	Amarillo fuerte	50: 90:100	Naranja muy fuerte	30:100: 80	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30
	Amarillo fuerte	50: 90:100	claro	40: 90:60	Café verdoso	40: 90:60	Café verdoso claro	40: 60:70	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
Za17	Amarillo claro	55: 40: 100	Café verdosos	50: 90:100	Naranja muy claro	40:70:100	Gris medio	25: 10:50	Verde fuerte	50: 90:50
			Amarillo fuerte	25: 5: 60	Naranja fuerte	35: 100: 80	Amarillo fuerte	50: 90:100	Amarillo fuerte	50: 90:100
			Gris claro				Café muy claro	30: 50:90	Verde claro	55: 90:70
Za19	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Naranja fuerte	35: 100: 80	Naranja muy fuerte	30:100: 80
	Café muy claro	30: 50:90	Naranja muy claro	40:70:100	Amarillo fuerte	50: 90:100	Naranja muy fuerte	30:100: 80	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30
	Naranja fuerte	35: 100: 80	claro	40: 90:60	Café verdoso	40: 90:60	Café verdoso claro	40: 60:70	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
	Amarillo fuerte	50: 90:100	Café verdosos	50: 90:100	Naranja muy claro	40:70:100	Gris medio	25: 10:50	Verde fuerte	50: 90:50
Za19	Gris fuerte	45: 5:30	Amarillo fuerte	25: 5: 60	Naranja fuerte	35: 100: 80	Amarillo fuerte	50: 90:100	Amarillo fuerte	50: 90:100
			Gris claro				Café muy claro	30: 50:90	Verde claro	55: 90:70

Naranja muy claro	40:70:100	Café verdosos	50: 90:100	Naranja muy claro	40:70:100	Gris medio	25: 10:50	Verde fuerte	50: 90:50
		Amarillo fuerte	25: 5: 60	Naranja fuerte	35: 100: 80	Amarillo fuerte	50: 90:100	Amarillo fuerte	50: 90:100
		Gris claro				Café muy claro	30: 50:90	Verde claro	55: 90:70

Área cuatro

Aislado	Un mes		Dos meses		Tres meses		Cuatro meses		Cinco meses	
	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV
Ar11	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja muy fuerte	35: 100: 80	Naranja muy fuerte	30:100: 80
	Naranja muy claro	30:70:100	Naranja muy	40:70:100	Naranja claro	30:70:100	Rojo fuerte	10: 100:60	Naranja medio	20:70:90
	Naranja claro	30:70:100	claro	45: 100:80	Naranja muy fuerte	30:100: 80	Naranja claro	30:70:100	Rojo claro	10:70:90
	Rosa claro	30: 40:100	Amarillo	50: 60: 100	Amarillo claro	55: 40: 100	Café muy claro	30: 50:90	Rosa muy fuerte	5: 50:90
	Naranja medio	20:70:90	verdoso medio				Café rojizo claro	15: 60:70	Beige	45: 20:100
			Amarillo medio				Amarillo medio	50: 60: 100	Café rojizo	25: 100:80
							Naranja fuerte	35: 100: 80		
Ar22	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Naranja muy claro	40:70:100	Rojo fuerte	15: 40:90	Rojo muy fuerte	10: 90:60
	Naranja muy claro	30:70:100	Naranja muy	40:70:100	Naranja claro	30:70:100	Rojo claro	30: 40:100	Café rojizo	25: 100:80
	Rosa claro	30: 40:100	claro	45: 100:80	Naranja muy fuerte	30:100: 80	Rojo muy fuerte	10: 90:60	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30
	Café verdoso claro	40: 60:70	Amarillo	55:40:100	Amarillo claro	55: 40: 100	Café rojizo claro	15: 60:70	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
			verdoso medio		Verde claro	55: 90:70	Café rojizo	25: 100:80		
			Amarillo claro				Café muy claro	30: 50:90		
							Café medio	15:40:70		
Ar30	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Naranja muy claro	40:70:100	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30
	Naranja claro	30:70:100	Naranja muy	40:70:100	Naranja claro	30:70:100	Rojo fuerte	10: 100:60	Naranja fuerte	35: 100: 80
	Negro	10:100:10	claro	30:70:100	Naranja muy fuerte	30:100: 80	Rojo muy fuerte	10: 90:60	Gris fuerte	45: 5:30
	Rosa claro	30: 40:100	Naranja claro	45: 100:80	Amarillo claro	55: 40: 100	Naranja muy fuerte	30:100: 80	Negro	10:100:10
	Café claro	10:30:80	Amarillo	55: 40: 100	Verde claro	55: 90:70	Gris medio	25: 10:50	Amarillo fuerte	50: 90:00
			verdoso medio	15:40:70	Gris fuerte	45: 5:30	Negro	10:100:10		
			Amarillo claro				Café verdoso	40: 90:60		
			Gris medio							
Ar35	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Naranja claro	30:70:100	Rojo fuerte	10: 100:60	Rojo muy fuerte	10: 90:60
	Naranja claro	30:70:100	Naranja muy	40:70:100	Rojo claro	10:70:90	Rojo claro	10:70:90	Café rojizo	25: 100:80
	Rosa claro	30: 40:100	claro	30:70:100	Naranja medio	20:70:90	Rojo muy fuerte	10: 90:60	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30
	Rosa muy fuerte	05:50:90	Naranja claro	45: 100:80	Amarillo medio	50: 60: 100	Café rojizo claro	15: 60:70	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
	Amarillo medio	50: 60: 100	Amarillo	50: 60: 100			Café rojizo	25: 100:80	Café verdoso	40: 90:60
			verdoso medio				Café muy claro	30: 50:90		
			Amarillo medio				Café medio	15:40:70		
Ar37	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Naranja claro	30:70:100	Rojo fuerte	10: 100:60	Rojo muy fuerte	5: 50:90
	Naranja claro	30:70:100	Naranja muy	40:70:100	Rojo claro	10:70:90	Rojo claro	10:70:90	Café rojizo	25: 100:80
	Rosa claro	30: 40:100	claro	30:70:100	Naranja muy claro	40:70:100	Rojo muy fuerte	10: 90:60	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30
	Rosa muy fuerte	05:50:90	Naranja claro	45: 100:80	Amarillo medio	50: 60: 100	Café rojizo claro	15: 60:70	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
	Amarillo medio	50: 60: 100	Amarillo	30: 50: 90	Amarillo verdoso	50: 70: 80	Café rojizo	25: 100:80	Café verdoso	40: 90:60
			verdoso medio		claro		Café muy claro	30: 50:90	Café verdoso claro	40: 60:70
			Café muy claro				Café medio	15:40:70		

Ar58	Beige	45:20:100	Beige	45:20:100	Naranja muy claro	40:70:100	Rojo fuerte	10: 100:60	Rojo muy fuerte	10: 90:60
	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja muy	40:70:100	Naranja claro	30:70:100	Rojo claro	10:70:90	Café rojizo	25: 100:80
	Naranja claro	30:70:100	claro	30:70:100	Naranja fuerte	35: 100: 80	Rojo muy fuerte	10: 90:60	Café rojizo muy fuerte	15: 100:30
	Rosa claro	30: 40:100	Naranja claro	45: 100:80	Café rojizo fuerte	20: 80:70	Café rojizo claro	15: 60:70	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
	Naranja medio	20:70:90	Amarillo	30: 50: 90	Gris fuerte	45: 5:30	Café rojizo	25: 100:80	Café verdoso	40: 90:60
			verdoso medio		Café verdoso claro	40: 60:70	Café muy claro	30: 50:90	Café verdoso claro	40: 60:70
			Café muy claro				Café medio	15:40:70		
Área cinco										
Aislado	Un mes		Dos meses		Tres meses		Cuatro meses		Cinco meses	
	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV	Color	Clave HSV
Ca33	Beige	45:20:100	Naranja muy	40:70:100	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja fuerte	35: 100: 80	Café rojizo fuerte	20: 80:70
	Naranja claro	30:70:100	claro	30:70:100	Naranja claro	30:70:100	Rojo claro	10:70:90	Café rojizo	25: 100:80
	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja claro	50: 60: 100	Amarillo claro	55: 40: 100	Rojo fuerte	10: 100:60	Naranja muy fuerte	30:100: 80
	Amarillo fuerte	50: 90:100	Amarillo medio	45: 100:80	Café muy claro	30: 50:90	Rojo muy fuerte	10: 90:60	Naranja fuerte	35: 100: 80
	Amarillo claro	55: 40: 100	Amarillo	10:70:90	Café rojizo claro	15: 60:70	Café rojizo	25: 100:80	Café verdoso	40: 90:60
	Rosa medio	20: 30:100	verdoso medio	30: 50:90			Amarillo claro	55: 40: 100	Amarillo claro	55: 40: 100
	Naranja medio	20:70:90	Café claro	30:100: 80			Naranja medio	20:70:90		
			Café muy claro							
			Naranja muy							
			fuerte							
Ca34	Beige	45:20:100	Naranja muy	40:70:100	Naranja muy claro	40:70:100	Rojo claro	10:70:90	Rojo muy fuerte	10: 90:60
	Naranja muy claro	40:70:100	claro	30:70:100	Naranja claro	30:70:100	Naranja muy fuerte	30:100: 80	Café rojizo	25: 100:80
	Naranja claro	30:70:100	Naranja claro	50: 60: 100	Amarillo claro	55: 40: 100	Café rojizo fuerte	20: 80:70	Naranja fuerte	35: 100: 80
	Gris claro	25: 5: 60	Amarillo medio	45: 100:80	Café muy claro	30: 50:90	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja muy fuerte	30:100: 80
	Café verdoso	40: 90:60	Amarillo	10:70:90	Café rojizo claro	15: 60:70	Naranja claro	30:70:100	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
			verdoso medio	30: 50:90	Verde medio	50: 80:60	Amarillo claro	55: 40: 100		
			Café claro	30:100: 80	Café claro	10:30:80	Café verdoso	40: 90:60		
			Café muy claro	50: 80:60						
			Naranja muy							
			fuerte							
			Verde medio							
Ca46	Beige	45:20:100	Naranja muy	40:70:100	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja fuerte	35: 100: 80	Café rojizo muy fuerte	20: 80:70
	Naranja muy claro	40:70:100	claro	30:70:100	Naranja claro	30:70:100	Rojo claro	10:70:90	Café verdoso claro	40: 60:70
	Naranja claro	30:70:100	Naranja claro	50: 60: 100	Amarillo claro	55: 40: 100	Rojo fuerte	10: 100:60	Naranja fuerte	35: 100: 80
	Amarillo claro	55: 40: 100	Amarillo medio	45: 100:80	Café muy claro	30: 50:90	Rojo muy fuerte	10: 90:60	Naranja muy fuerte	30:100: 80
	Café verdoso claro	40: 60:70	Amarillo	10:30:80	Café rojizo claro	15: 60:70	Café rojizo	25: 100:80	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
			verdoso medio	30: 50:90	Verde medio	50: 80:60	Amarillo claro	55: 40: 100	Verde fuerte	50: 90:50
			Café claro	30:100: 80	Café claro	10:30:80	Naranja medio	20:70:90		
			Café muy claro	50: 80:60						
			Naranja muy							
			fuerte							
			Verde medio							
Ca49	Beige	45:20:100	Naranja muy	40:70:100	Naranja medio	20:70:90	Rojo muy fuerte	10: 90:60	Café rojizo muy fuerte	20: 80:70
	Naranja muy claro	40:70:100	claro	30:70:100	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja muy fuerte	30:100: 80	Naranja fuerte	30:100: 80
	Naranja claro	30:70:100	Naranja claro	50: 60: 100	Naranja claro	30:70:100	Café rojizo fuerte	20: 80:70	Naranja muy claro	40:70:100
	Amarillo claro	55: 40: 100	Amarillo medio	45: 100:80	Amarillo medio	50: 60: 100	Naranja claro	30:70:100	Amarillo medio	50: 60: 100

	Naranja medio	20:70:90	Amarillo	10:30:80	Gris fuerte	45: 5:30	Naranja muy claro	40:70:100	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
	Café claro	10:30:80	verdoso medio	30: 50:90	Rosa fuerte	15: 40:90	Verde fuerte	50: 90:50	Verde fuerte	50: 90:50
			Café claro	30:100: 80			Rosa fuerte	15: 40:90		
			Café muy claro	50: 80:60						
			Naranja muy fuerte							
			Verde medio							
Ca59	Beige	45:20:100	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja medio	20:70:90	Café rojizo	25: 100:80	Café rojizo muy fuerte	20: 80:70
	Naranja muy claro	40:70:100	claro	30:70:100	Naranja muy claro	40:70:100	Rojo muy fuerte	10: 90:60	Naranja fuerte	30:100: 80
	Naranja claro	30:70:100	Naranja claro	50: 60: 100	Naranja claro	30:70:100	Café verdoso claro	40: 60:70	Amarillo medio	50: 60: 100
	Gris claro	25: 5: 60	Amarillo medio	45: 100:80	Amarillo medio	50: 60: 100	Café rojizo	25: 100:80	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
	Café verdoso	40: 90:60	Amarillo	10:30:80	Gris fuerte	45: 5:30	beige	45: 20:100	Café muy claro	30: 50:90
			verdoso medio	30: 50:90	Rosa fuerte	15: 40:90			Rojo muy fuerte	10: 90:60
			Café claro	30:100: 80						
			Café muy claro	50: 80:60						
			Naranja muy fuerte							
			Verde medio							
Ca60	Beige	45:20:100	Naranja muy claro	40:70:100	Naranja medio	20:70:90	Café rojizo	25: 100:80	Café rojizo muy fuerte	20: 80:70
	Naranja muy claro	40:70:100	claro	30:70:100	Naranja muy claro	40:70:100	Rojo claro	10:70:90	Naranja fuerte	30:100: 80
	Naranja claro	30:70:100	Naranja claro	50: 60: 100	Naranja claro	30:70:100	Rojo muy fuerte	10: 90:60	Naranja muy claro	40:70:100
	Gris claro	25: 5: 60	Amarillo medio	45: 100:80	Amarillo medio	50: 60: 100	Naranja claro	30:70:100	Amarillo medio	50: 60: 100
	Café verdoso	40: 90:60	Amarillo	10:30:80	Gris fuerte	45: 5:30	Gris fuerte	45: 5:30	Amarillo verdoso claro	50: 70: 80
			verdoso medio	30: 50:90	Rosa fuerte	15: 40:90	Amarillo claro	55: 40: 100	Verde fuerte	50: 90:50
			Café claro	30:100: 80						
			Café muy claro	50: 80:60						
			Naranja muy fuerte							
			Verde medio							

Análisis de Varianza

Cuadro 10. Caracterización morfológica

		R cuadrado	Prob > F
Tasa de crecimiento	Áreas agroecológicas	0.11	0.0013*
	Meses	0.13	0.0002*
Número de colores	Áreas agroecológicas	0.44	0.0001*
	Meses	0.15	0.0001*
Producción de conidios	Un mes	0.72	0.069*
	Dos meses	0.56	0.0619
Producción de elsinocromos		0.54	0.0021*

Cuadro 11. Virulencia en los diferentes cultivares

	R cuadrado	Prob > F
Presencia de síntomas (días)	0.87	0.0001
Número de manchas	0.50	0.0001
Tamaño de manchas	0.17	0.0196**

Cuadro 12. Virulencia en cada uno de los aislados de cada área agroecología

		R cuadrado	Prob > F
Flor de maría	Presencia de síntomas (días)	0.68	0.0142**
	Número de manchas	0.69	0.0129**
	Tamaño de manchas	0.51	0.0950
Méendez	Presencia de síntomas (días)	0.96	0.0001*
	Número de manchas	0.93	0.0001*
	Tamaño de manchas	0.55	0.0692

Resultado de análisis de varianza de % de inhibición de micelio en los aislados de *E. perseae* de cada área agroecológica con productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico.

Cuadro 13. Pruebas de sensibilidad

		R cuadrado	Prob > F
<i>Larrea tridentata</i>	7 días	0.56	0.0001*
	15 días	0.76	0.0001*
	30 días	0.80	0.0001*
Oxicloruro de Cobre	7 días	0.42	0.0220*
	15 días	0.56	0.0017*
	30 días	0.50	0.0015*
Sulfato de Cobre	7 días	0.45	0.0134*
	15 días	0.57	0.0006*
	30 días	0.61	0.0015*
Gluconato de cobre	7 días	0.46	0.0126**
	15 días	0.38	0.0430**
	30 días	0.33	0.079

R cuadrado más cerca de uno indican confiabilidad en los datos.

Resultado de análisis de varianza de % de inhibición de micelio en los aislados de *E. perseae* de cada área agroecológica con productos químicos.

		R cuadrado	Prob > F
Azoxystrobin	30 días	--	--
	60 días	--	--
	90 días	0.99	0.0001*
Azoxystrobin+propiconazol	30 días	--	--
	60 días	--	--
	90 días	--	--
Fludioxonil+Cyprodinil	30 días	--	--
	60 días	0.35	0.0591*
	90 días	0.80	0.0001*
Pyraclostrobin	30 días	--	--
	60 días	0.52	0.0036*
	90 días	0.82	0.0001*
Tiabendazol	30 días	--	--
	60 días	--	--
	90 días	--	--

R cuadrado más cerca de uno indican confiabilidad en los datos.

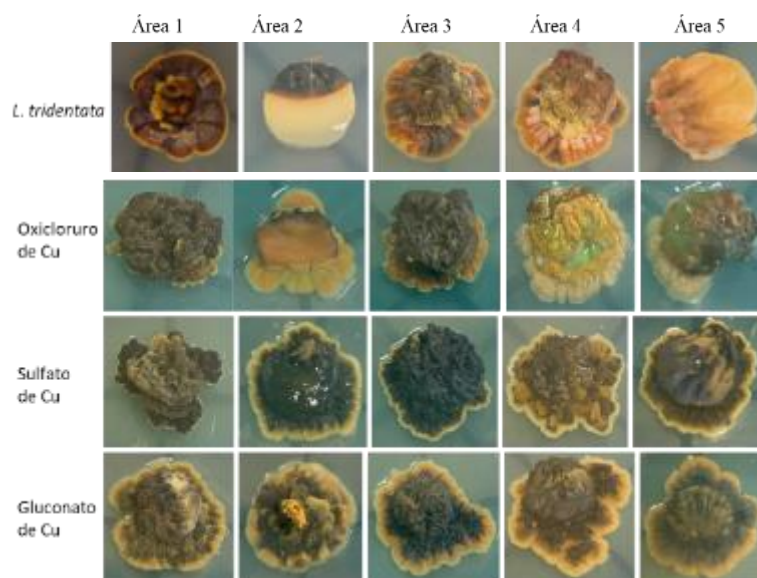


Figura 36. Aspectos de los aislados sometidos a cada tratamiento con productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico.

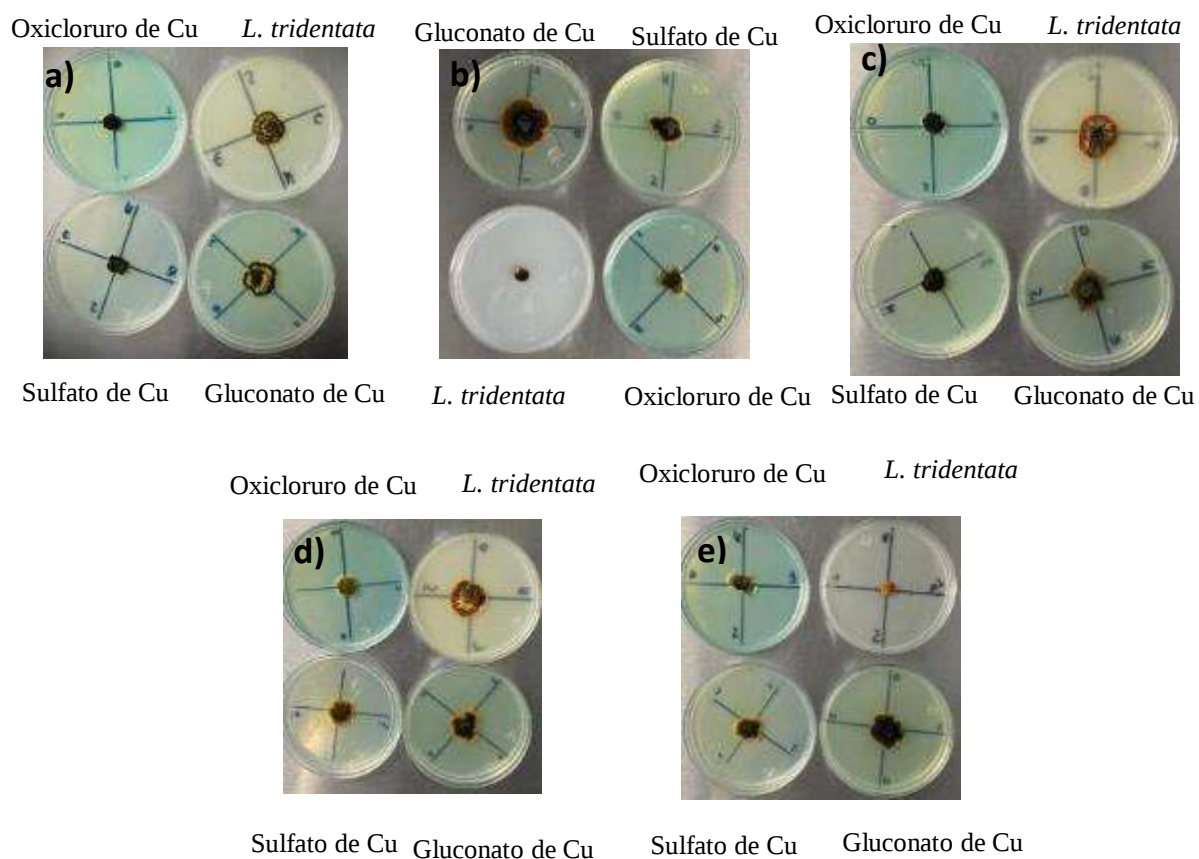


Figura 37. Aislados de cada área agroecológica sometidos a las pruebas de control con productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico, a) área uno, b) área dos, c) área 3, d) área cuatro, e) área cinco

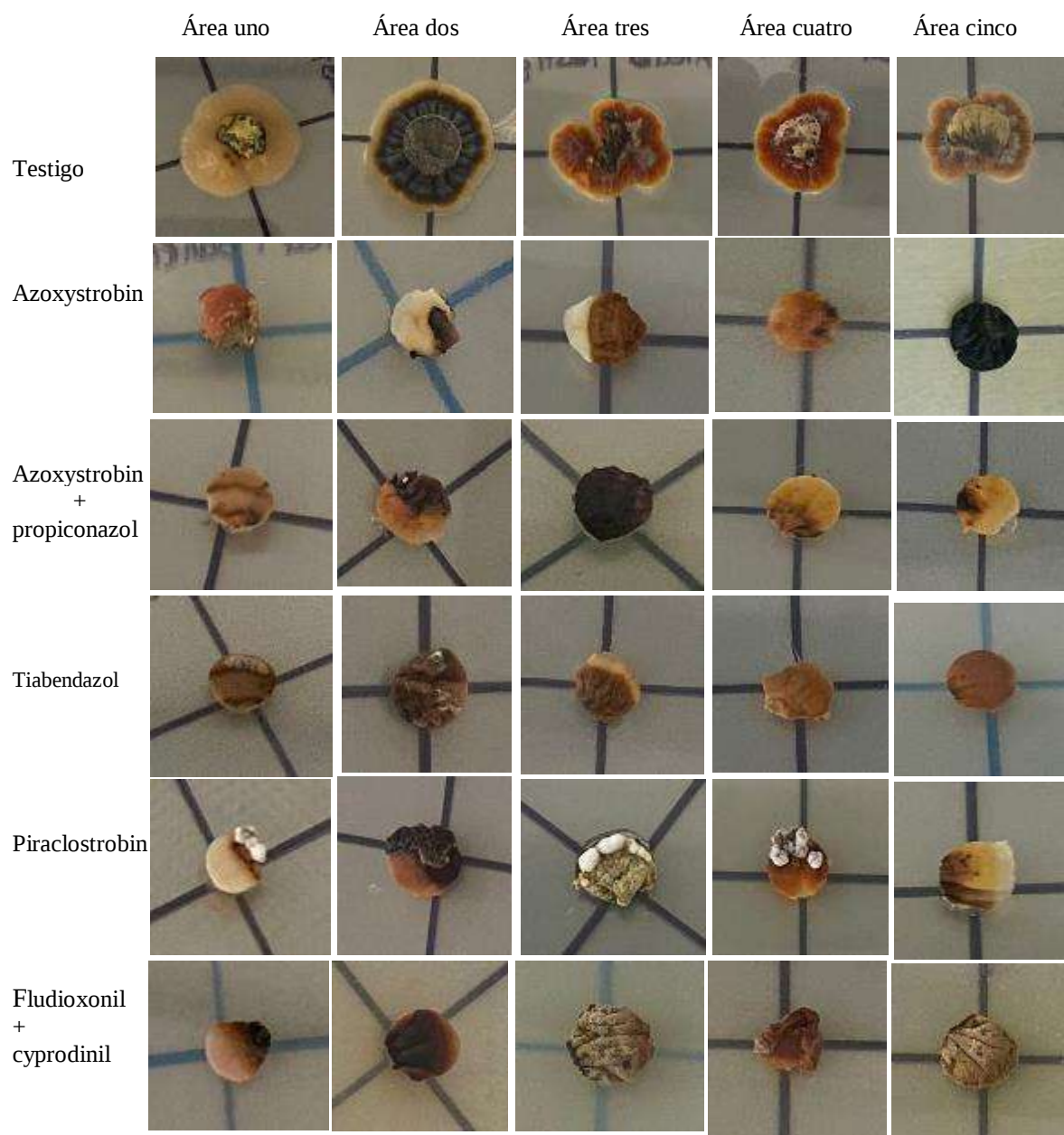


Figura 38. Aspecto de los aislados en el primer mes de ser sometidos a los distintos tratamientos con productos químicos.

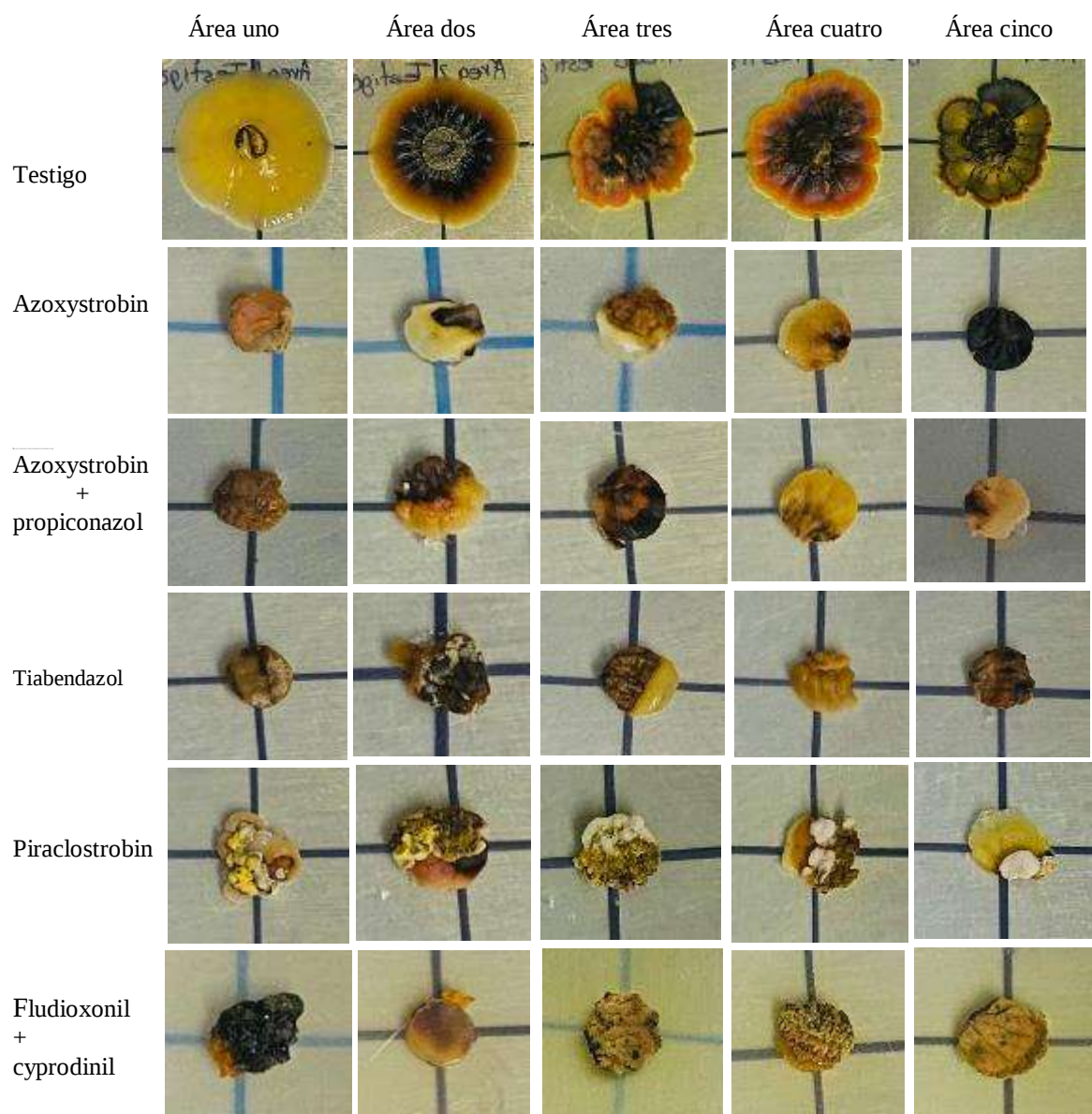


Figura 39. Aspecto de los aislados en el segundo mes de ser sometidos a los distintos tratamientos con productos químicos.

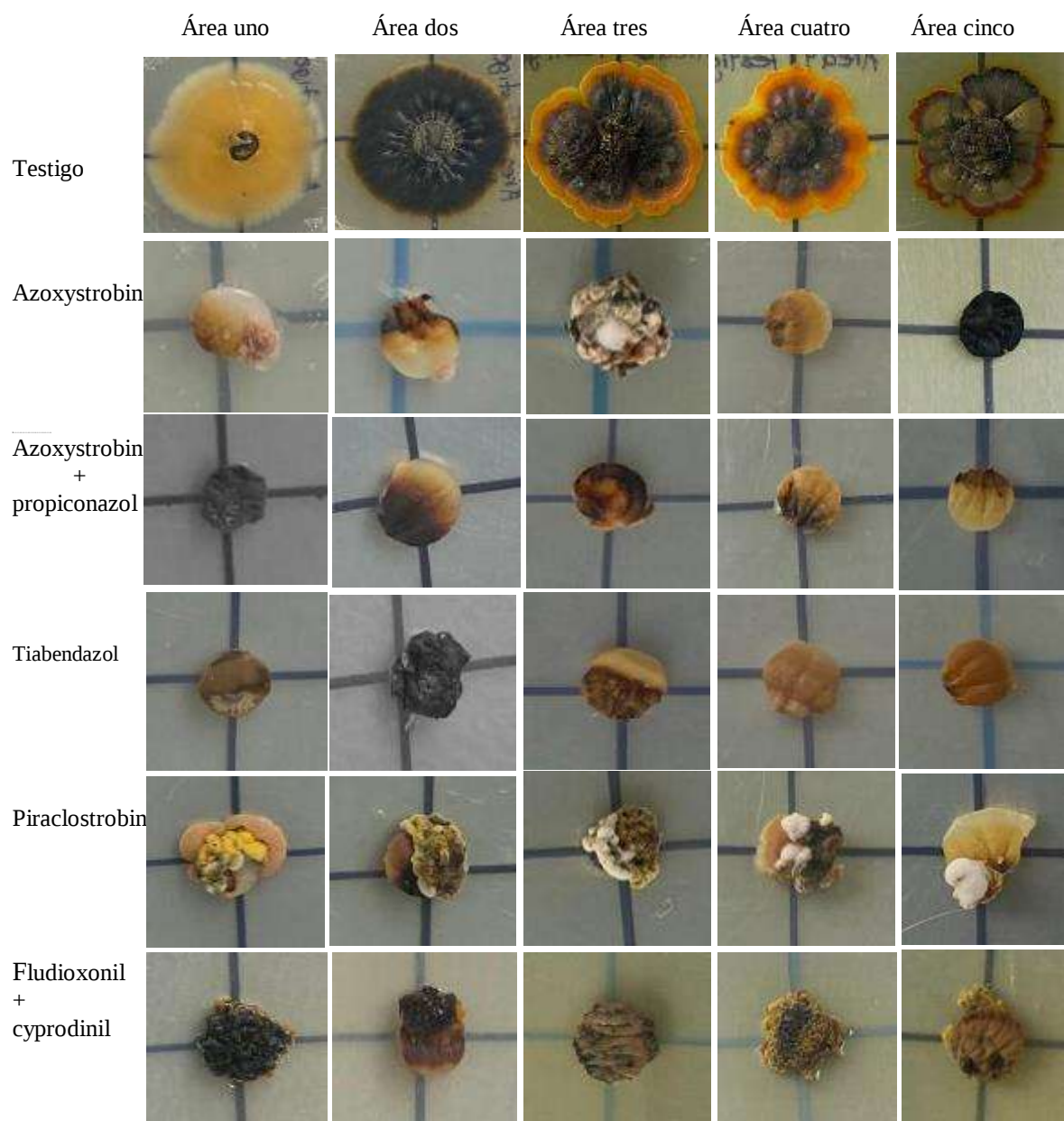


Figura 40. Aspecto de los aislados en el tercer mes de ser sometidos a los distintos tratamientos con productos químicos.

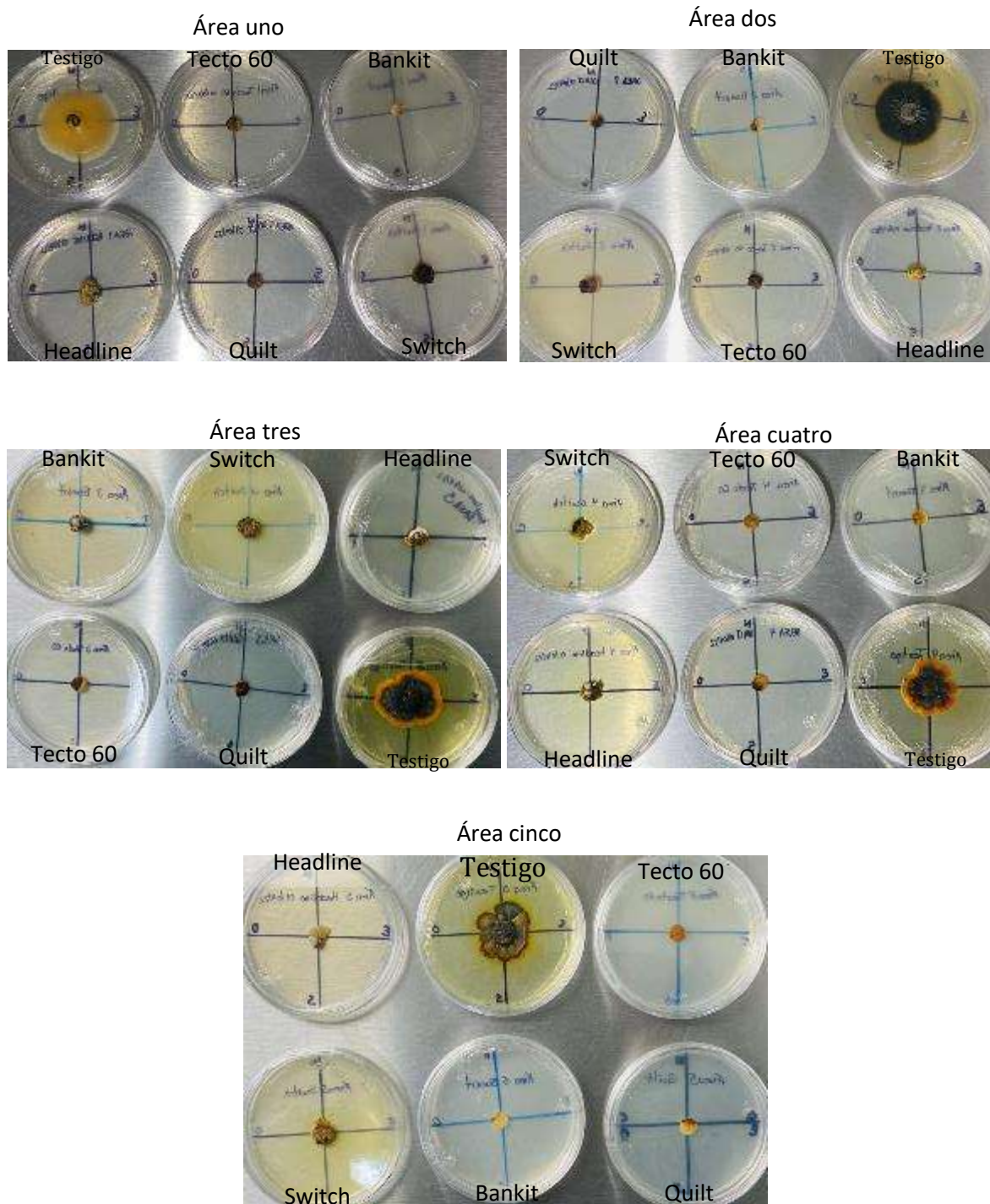


Figura 41. Aislados de cada área agroecológica a los tres meses de las pruebas de control *in vitro* con productos químicos.