



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**

FACULTAD DE AGROBIOLOGÍA



“PRESIDENTE JUÁREZ”

PROGRAMA INSTITUCIONAL
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ÁREA TEMÁTICA: INTERACCIÓN PLANTA-MICROORGANISMO- INSECTO

**Evaluación de resistencia a fungicidas en aislados de *Elsinoe
perseeae* = *Sphaceloma perseeae* Jenkins procedentes de la zona
aguacatera de Michoacán**

Tesis que para obtener el grado de Maestro en Ciencias Biológicas

Presenta:

Salvador Rodríguez Hernández

Director:

Dr. José Luciano Morales García

Co-Director:

Dr. Samuel Pineda Guillermo

Uruapan, Michoacán, agosto de 2024.



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
**Ciencias
 Biológicas**

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: "Evaluación de resistencia a fungicidas en aislados de *Botrytis persicae* = *Sphaceloma persicae* Jenkins procedentes de la zona aguacatera de Michoacán" presentado por el BIOL. Salvador Rodríguez Hernández con Número de Matrícula 1598803J, consideramos que reúne los requisitos suficientes para ser publicado y defendido en Examen de Grado de Maestro en Ciencias.

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

ATENTAMENTE

Morelia, Michoacán, a 20 de mayo de 2024.

J. L. Morales García

Dr. José Luciano Morales García
 Director de Tesis

S. García Morales

Dra. Soledad García Morales
 Presidenta

ATÉ SINDICAL

S. Pineda Guillermo

Dr. Samuel Pineda Guillermo
 Co director

M. E. Pedraza Santos

Dra. Martha Elena Pedraza Santos
 Vocal I

A. Chuyaz Bórcones

Dra. Ana Itzqui Chuyaz Bórcones
 Vocal 2

Agradecimientos

Queridos papás,

Manuel Rodríguez García y Elvia Hernández Rodríguez, quiero tomar un momento para expresarles mi más sincero agradecimiento. Su amor, apoyo y dedicación han sido fundamentales en mi vida. Gracias por estar siempre a mi lado, por enseñarme valores importantes y por creer en mí incluso en los momentos más difíciles. Cada sacrificio que han hecho no ha pasado desapercibido, y estoy profundamente agradecido por todo lo que han hecho para que yo pueda alcanzar mis sueños.

Los quiero mucho y siempre llevaré su amor en mi corazón.

Querida familia,

Mi más profundo y sincero agradecimiento a cada uno de ustedes. Su amor, apoyo y comprensión han sido un pilar fundamental en mi vida. Gracias por estar siempre ahí, en los buenos y malos momentos.

Aprecio cada risa compartida, cada consejo y cada momento que hemos vivido juntos. Ustedes son mi inspiración y mi fuerza, y no hay palabras suficientes para expresar lo agradecido que estoy por tenerlos en mi vida.

Los quiero muchísimo y espero que sigamos creando recuerdos hermosos juntos.

A mi comité tutorial

Director de tesis Dr. José Luciano Morales García y Co-director Dr. Samuel Pineda Guillermo. Mi más sincero agradecimiento por su invaluable apoyo y orientación durante el desarrollo de mi tesis. Su dedicación y conocimientos han sido fundamentales para alcanzar este logro.

A la Dra. Martha Elena Pedraza Santos, quiero agradecerle sinceramente por tu apoyo y orientación en el diseño y análisis experimental. Sus conocimientos han sido fundamentales para el éxito de mi proyecto.

Dra. Soledad García Morales y Dra. Ana Tztzqui Bárcenas, Quiero agradecerles de corazón por su apoyo y motivación en cada presentación. Sus palabras me han inspirado a mejorar mi investigación y seguir adelante.

Mi mejor amiga

Judith Cárdenas Peña, Gracias por ser mi mejor amiga durante estos 24 años. Tu amistad y apoyo han sido un regalo invaluable y siempre estaré agradecido por todos los momentos compartidos.

Mis mejores amigos

Antonio Ponce García y Pedro Antonio Castañeda Medina, quiero agradecerles por su apoyo incondicional y por estar siempre a mi lado. Su amistad significa mucho para mí y no podría pedir mejores compañeros en esta aventura de la vida. ¡Gracias por ser tan increíbles!

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	iii
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	1
I. INTRODUCCIÓN.....	2
HIPÓTESIS.....	4
OBJETIVOS.....	4
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos.....	4
II. ANTECEDENTES.....	5
2.1. Importancia del cultivo de aguacate en Michoacán.....	5
2.2. Enfermedades que afectan el fruto del aguacate.....	5
2.3. <i>Elsinoe perseae</i> (roña o mancha púrpura del aguacate).....	6
2.4 Taxonomía del agente causal de la roña o mancha púrpura del aguacate.....	7
2.5. Identificación microscópica.....	7
2.6. Resistencia de hongos a fungicidas.....	8
2.6.1. CE ₅₀	10
2.7. Control de la enfermedad.....	11
2.8. Fungicidas.....	12
2.8.1. Clasificación de los fungicidas.....	12
2.8.2. Fungicidas y modo de acción.....	12
2.8.3. Sitios de acción de los fungicidas.....	13
2.8.3.1. Tecto60 [®] Syngenta (Tiabendazol).....	15
2.8.3.2. Headline [®] BASF (Pyraclostrobin).....	15
2.8.3.3. Quilt [®] Syngenta (Azoxistrobin + propiconazol).....	16
2.8.3.4. Bankit [®] Syngenta (Azoxistrobin).....	16
2.8.3.5. Switch [®] 62.5WG Syngenta (Cyprodinil + fludioxonil).....	17
III. Materiales y Métodos.....	17
3.1. Procedencia y cultivo de aislamientos.....	17

3.2. Selección de aislamientos de <i>E. perseae</i>.....	19
3.3. Pruebas de resistencia.....	20
3.4. Diseño experimental.....	24
3.5. PIM.....	25
3.6. CE₅₀.....	25
3.7. Evaluación de la resistencia	26
IV. Resultados.....	27
4.1. Determinación del PIM	27
4.2. Determinación de la CE₅₀.....	34
V. Discusión	36
VI. Conclusiones	40
VII. Literatura citada	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Sintomatología causada por <i>Elsinoe perseae</i> en frutos de aguacate, variedad Hass, A) pequeñas lesiones negras dispersas provocadas por <i>E. perseae</i> , B) lesión avanzada con un patrón circular de 3 a 10 mm de diámetro, C) lesión con apariencia elevada y tonalidad púrpura, D) unión de las manchas y aparición de fisuras en el pericarpio del fruto con aspecto corchoso dando apariencia de roña.....	6
2. Visualización microscópica de acérvulos de <i>S. perseae</i> , en su fase asexual (anamorfo), y micelio de <i>E. perseae</i> , en su fase sexual (telomorfo), A) y B) acérvulos de <i>S. perseae</i> en un corte histológico en el síntoma obtenido del fruto de aguacate, C) micelio toruloso septado de <i>E. perseae</i>	7
3. Producción de elsinocromos A en aislamientos de <i>E. perseae</i> in vitro en medio de cultivo PDA. A) Aislamiento de un mes de desarrollo donde se observa la diferencia de color en el medio de cultivo PDA por la ausencia de elsinocromos A. B) Aislamiento con tres meses de desarrollo en el cual se observa la pigmentación amarilla, característica de los elsinocromos A.....	8
4. Ilustración gráfica de los fungicidas con modo de acción multisitio en comparación con los fungicidas con modo de acción específicos. Esquema generado por S. Rodríguez-Hernández en el programa 123RF IA (https://es.123rf.com/).....	13
5. Ubicación de las áreas de procedencia de los aislamientos de <i>E. perseae</i> obtenidos de frutos de aguacate (variedad Hass) colectados en la franja aguacatera en el estado de Michoacán.....	19
6. Preparación de medio de cultivo PDA. A) Pesado del medio de cultivo PDA deshidratado, B) Vaciado del medio de cultivo PDA deshidratado en agua destilada, C) Calentamiento y agitación de la mezcla del medio de cultivo PDA deshidratado + agua destilada D) Esterilización de medio de cultivo PDA con ayuda de una autoclave, E) Vaciado de medio de medio de cultivo PDA a cajas Petri.....	20
7. Selección, repetición y siembra de cada aislamiento de <i>E. perseae</i> de las diferentes áreas. A) Fragmentación de micelio con medio de cultivo PDA, B) Colocación de discos de PDA con micelio en medio de cultivo PDA, C) Sellado de caja Petri, D) Marcado de caja Petri.....	20
8. Fungicidas utilizados en la determinación de resistencia de <i>E. perseae</i> . A, Azoxistrobin + Propiconazol; B, Cyprodinil + Fludioxonil; C, Pyraclostrobin; D, Azoxistrobin; E, Tiabendazol).....	21

9. Obtención de las dosis para la preparación del medio de cultivo PDA + el fungicida. A) Dosis del fungicida obtenida con micropipeta y balanza granataria digital, B) Vaciado del fungicida con micropipeta en un matraz, C) Mezclado del medio de cultivo PDA con el fungicida, homogenización de la mezcla y vertido en las cajas Petri, D) Visualización de los tratamientos por zona.....	23
10. Siembra de fragmentos de micelio en medio de cultivo PDA + fungicida. A) Fragmentación de micelio de <i>E. perseae</i>, B) Extracción de disco de agar con micelio, C) Colocación de discos de agar con micelio del hongo en medio de cultivo PDA + fungicida D) Disco de agar con micelio de <i>E. perseae</i>, E) Caja de Petri con medio de cultivo PDA + fungicida y con un disco de micelio de <i>E. perseae</i> en el centro.....	24
11. Regresión lineal del porcentaje de inhibición de micelio en la zona de Zirahuen sometido al pyraclostrobin.....	26
12. Porcentaje de inhibición de micelio de <i>E. perseae</i> por efecto de la aplicación de conco fungicidas a dosis alta, media, baja. A) Área Agroecológica 1 (Taretan, Patuán y Ziracuaretiro, Michoacán); B) Área Agroecológica 2 (Pareo, Mesa de Cazares y Jicalan); C) Área Agroecológica 3 (Zacandaro, Toreo, La Basilia); D) Área Agroecológica 4 (Ario de Rosales, Tingambato y Tancítaro); E) Área Agroecológica 5 (Zirahuén, Lagunillas, Salvador Escalante).....	32
13. Porcentaje de inhibición de aislamientos de <i>E. perseae</i> en el Área agroecológica 2 en las zonas de jicalan, pareo y mesa de cazares.....	32
14. Porcentaje de inhibición de micelio de <i>E. perseae</i> en las zonas pertenecientes al Área agroecológica 3 (la Basilia, Toreo el Alto, Zacandaro).....	33
15. Aspecto visual de la inhibición del micelio de <i>E. perseae</i> causada por los cinco fungicidas ensayados después de tres meses.....	33
16. Apariencia en el crecimiento de los aislamientos de <i>E. perseae</i> en medio de cultivo PDA que contenía; (A) pyraclostrobin; se observa un crecimiento con aspecto boronado; (B) cyprodinil + fludioxonil, se observa un crecimiento con apariencia grumosa y (C) crecimiento en medio de cultivo PDA sin tratar (testigo).....	36

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Escala internacional de sensibilidad con base a la CE ₅₀ (Edginton et al., 1970).....	11
2. Área de colecta y código de los aislamientos de <i>E. perseae</i> obtenidos de frutos de aguacate (variedad Hass) que presentaron síntomas de la enfermedad conocida como roña o mancha púrpura del aguacate.....	18
3. Fungicidas utilizados en la determinación de resistencia de <i>E. perseae</i>	22
4. Diseño experimental usado por cada zona.....	24
5. Porcentaje de inhibición del micelio (PIM) en aislamientos de <i>Elsinoe perseae</i> provenientes de frutos de aguacate (<i>Persea americana</i> Mill.) variedad Hass colectados en el Área Agroecológica 1 conformada por las zonas de Taretan, Patuán y Ziracuaretiro, Michoacán.....	27
6. Porcentaje de inhibición del micelio (PIM) en aislamientos de <i>Elsinoe perseae</i> provenientes de frutos de aguacate (<i>Persea americana</i> Mill.) variedad Hass colectados en el Área Agroecológica 2 conformada por las zonas de Pareo, Mesa de Cazares y Jicalan, Michoacán.....	28
7. Porcentaje de inhibición del micelio (PIM) en aislamientos de <i>Elsinoe perseae</i> provenientes de frutos de aguacate (<i>Persea americana</i> Mill.) variedad Hass colectados en el Área Agroecológica 3 conformada por las zonas de Zacandaro, Toreo, La Basilia Michoacán.....	28
8. Porcentaje de inhibición del micelio (PIM) en aislamientos de <i>Elsinoe perseae</i> provenientes de frutos de aguacate (<i>Persea americana</i> Mill.) variedad Hass colectados en el Área Agroecológica 4 conformada por las zonas de Ario de Rosales, Tingambato y Tancítaro, Michoacán.....	29
9. Porcentaje de inhibición del micelio (PIM) en aislamientos de <i>Elsinoe perseae</i> provenientes de frutos de aguacate (<i>Persea americana</i> Mill.) variedad Hass colectados en el Área Agroecológica 5 conformada por las zonas de Zirahuén, Lagunillas, Salvador Escalante, Michoacán.....	30
10. Análisis de varianza (cuadrados medios y significancia) del efecto de las concentraciones de los diferentes funguicidas sobre el porcentaje de inhibición a los tres meses en los diferentes aislamientos de <i>E. perseae</i>	30
11. Concentración efectiva media (CE ₅₀) de pyraclostrobin y cyprodinil + fludioxonil en aislamientos de <i>E. perseae</i> provenientes de las distintas áreas de la franja aguacatera de Michoacán y su relación con la escala de sensibilidad propuesta por Edginton et al. (1970).....	34

RESUMEN

La mancha púrpura o roña del aguacate (*Elsinoe perseae* = *Sphaceloma perseae* Jenkins) es una de las principales enfermedades del fruto en desarrollo del aguacate (*Persea americana* Mill.), uno de los principales cultivos de México. En este estudio se determinó el porcentaje de inhibición del micelio (PIM), así como la concentración efectiva media (CE_{50}) de cinco fungicidas (azoxystrobin + propiconazol, tiabendazol, azoxystrobin, cyprodinil + fludioxonil y pyraclostrobin), con diferente modo de acción, sobre 15 aislamientos de este hongo procedentes del mismo número de áreas productoras de aguacate del estado de Michoacán. Se utilizaron tres dosis de cada fungicida: la máxima dosis recomendada en campo (MDRC) por el fabricante, la mitad y un cuarto de la MDRC. Las dosis seleccionadas se incorporaron al medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA). Las tres dosis ensayadas de azoxystrobin + propiconazol, tiabendazol y azoxystrobin causaron 100% de PIM sobre los 15 aislamientos de *E. perseae*; mientras que, en pyraclostrobin y cyprodinil + fludioxonil este parámetro estuvo entre 82% y 94%. Los valores de la CE_{50} para pyraclostrobin estuvieron en un rango de 0.0005 hasta 0.99 ppm y para cyprodinil + fludioxonil de 0.00002 y 0.006 ppm en todos los aislamientos evaluados. De acuerdo con la escala de sensibilidad de los valores de la CE_{50} , *E. perseae* no ha adquirido resistencia a cyprodinil + fludioxonil y pyraclostrobin debido a que los valores de este parámetro evaluado fueron menores a 50 ppm de ambos compuestos.

Palabras clave: Mancha púrpura o roña del aguacate, porcentaje de inhibición del micelio, concentración efectiva media, desarrollo de resistencia, *Persea americana*.

ABSTRACT

Avocado purple blotch or scab *Elsinoe perseae* = *Sphaceloma perseae* Jenkins, is one of the main diseases of the developing fruit of avocado (*Persea americana* Mill.), a major crop in México. In this study, the mycelial inhibition percentage (MIP) as well as the mean effective concentration (EC_{50}) of five fungicides (azoxystrobin + propiconazole, thiabendazole, azoxystrobin, cyprodinil + fludioxonil

and pyraclostrobin), with different mode of action on 15 isolates of this fungus from the same number of avocado producing areas in the state of Michoacán, were determined. Three doses of each fungicide were used: the maximum dose recommended in the field (MDRC) by the manufacturer, half the MDRC and a quarter of the MDRC, which were incorporated into the potato dextrose agar culture medium. The three tested doses of azoxystrobin + propiconazole, thiabendazole and azoxystrobin caused 100% MIC on the 15 isolates of *E. perseae*, while pyraclostrobin and cyprodinil + fludioxonil caused between 82% and 94% MIC. The EC₅₀ values for pyraclostrobin ranged from 0.0005 to 0.99 ppm and for cyprodinil + fludioxonil from 0.00002 to 0.006 ppm in all the tested isolates of this fungus. According to the sensitivity scale of the EC₅₀, *E. perseae* has not acquired resistance to cyprodinil + fludioxonil and pyraclostrobin because the values of this parameter evaluated were less than 50 ppm of both compounds.

Key words: avocado purple blotch or scab, mycelium inhibition percentage, mean effective concentration, resistance development, *Persea americana*.

I. INTRODUCCIÓN

En México, en 2023, la superficie plantada del cultivo de aguacate (*Persea americana* Mill.) fue de 257,571 ha. La entidad que destina la mayor superficie a este cultivo es Michoacán con 179,914 ha, que representan el 69.9% del total nacional (SIAP, 2023). Este estado es el principal productor con 1,932,168 t, aportando el 76.8% de la producción total nacional (SIAP, 2022).

El fruto fresco de aguacate ocupa el segundo lugar dentro de la lista de los productos agroalimentarios más exportados, México es el principal proveedor de esta fruta en el mercado internacional con una producción de 2,442,944 t (SIAP, 2022). La demanda de este fruto se ha incrementado en 26 países que incluyen integrantes del Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLCAN), el Acuerdo de Asociación Transpacífica (TPP), así como China, la Unión Europea y otros con los que México no tiene acuerdo de libre comercio, que en conjunto consumen aproximadamente 1.7 millones de toneladas (SAGARPA, 2017).

Uno de los problemas que afecta la producción del cultivo de aguacate es la enfermedad conocida como la roña o mancha púrpura del aguacate *Elsinoe perseae* = *Sphaceloma perseae* Jenkins, la cual causa daños a los frutos, pedúnculos, hojas y ramas (Morales, 2015). En el fruto, las lesiones tienen una apariencia “elevada” de color púrpura o marrón a casi negro de 3 a 10 mm de diámetro, con frecuencia presentan un patrón circular con un margen irregular; las lesiones aparecen principalmente dispersas y cuando se unen forman una lesión corchosa con fisuras marrones que rompen la epidermis y producen una densa cubierta afelpada (Suárez, 2019). Según Dewdney y Timmer (2012), las esporas de *Elsinoe* sp. pueden infectar hojas jóvenes y frutos en la etapa de desarrollo conocida como “cerillo”.

La humedad relativa de 80% y temperatura superior a 26 °C favorecen el desarrollo del hongo *E. perseae*, siendo desde el cuajado del fruto y hasta alcanzar la mitad de su tamaño normal, el periodo cuando es más susceptible; esto se debe a que al culminar el proceso de maduración, el epicarpio se endurece y la probabilidad de infección es menor (Sinavimo, 2021).

La pérdida de eficacia de los fungicidas químicos para el control de las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, debido a la aparición de biotipos resistentes, no tuvo lugar sino a partir de la comercialización de los compuestos con modo de acción específico, tales como las dicarboximidias, pirimidinas, triazoles y benzimidazoles. Después de seis años en el mercado, los fungicidas pertenecientes al grupo de los benzimidazoles registraron los primeros casos de pérdida de efectividad debido a su modo de acción y al incremento en la frecuencia de su uso (Garrán *et al.*, 2007). Este fenómeno de la resistencia ha reducido el número de ingredientes activos disponibles para el control de los hongos fitopatógenos, dificultando de sobremanera el manejo agronómico de las enfermedades (Marcelo y Francisco, 2017).

La resistencia a los fungicidas es una forma de selección que describe la capacidad de un hongo para sobrevivir y reproducirse en presencia de estos compuestos en campo. Este fenómeno se produce cuando la prevalencia de aislamientos resistentes a fungicidas alcanza un umbral crítico en el que ya no se observa el control de la enfermedad; los factores principales que determinan la resistencia a los fungicidas en un organismo son: la biología del patógeno, el (los) mecanismo(s) de acción del fungicida y la tasa y frecuencia de aplicación, entre otros (Beckerman, 2013). Por ello, en el presente trabajo se determinó la resistencia en diferentes aislamientos de *E. perseae* procedentes de zonas productoras de aguacate del estado de Michoacán con diferentes densidades del cultivo y con diferentes fungicidas utilizados para el control de hongos fitopatógenos.

HIPÓTESIS

Los aislamientos de *E. perseae* provenientes de distintas áreas productoras del estado de Michoacán han desarrollado resistencia a los fungicidas utilizados para su control.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la resistencia de diferentes aislamientos de *E. perseae* provenientes de distintas áreas agroecológicas del estado de Michoacán.

Objetivos específicos

- Determinar el porcentaje de inhibición del micelio (PIM) de diferentes aislamientos de *E. perseae* tratados con fungicidas de diferente modo de acción.
- Determinar la concentración efectiva media (CE₅₀) de cinco fungicidas de diferente modo de acción en aislamientos de *E. perseae*.

II. ANTECEDENTES

2.1. Importancia del cultivo de aguacate en Michoacán

Michoacán es el principal estado productor de aguacate en México, aportando 74% de la producción nacional (2.4 millones de ton), seguido por los estados de Jalisco y el Estado de México con 12 y 4%, respectivamente (Cruz *et al.*, 2022). Estimaciones recientes sobre las exportaciones de productos agrícolas colocan al aguacate en el segundo lugar; en primer lugar está la cerveza (DRIPc, 2022). El aguacate que se produce en Michoacán es conocido y valorado en todo el mundo, principalmente en los Estados Unidos, país al que exportan cada año más de 1.2 millones de t. En Michoacán existen más de 30 mil productores certificados, los cuales, se calcula que se agrupan en 46, 516 huertos, la mayoría de productores de pequeña escala son propietarios de una a cinco hectáreas (SENASICA 2021). La apertura comercial de fruto fresco de aguacate de México con Estados Unidos inició el 5 de febrero de 1997; desde entonces el número de productores de este cultivo ha crecido exponencialmente: de los 61 productores y cinco exportadores, ubicados en los municipios de Uruapan, Tancítaro, Salvador Escalante y Peribán, quienes integraron la Asociación de Productores y Empacadores Exportadores de Aguacate de Michoacán (APEEAM), actualmente existen 10 mil productores, localizados en 29 municipios; 33 asociaciones agrícolas, 296 empacadoras y seis agroindustrias productoras de pasta y guacamole congelado y aceite no refinado (CEDRSSA, 2017). Además, el sistema de producción de aguacate, genera empleos directos e indirectos en Michoacán, los cuales se han incrementado 106 % en la última década, pues la plantación de aguacate genera 310 mil empleos directos y 78 mil indirectos en México y se estima que por cada mil toneladas cosechadas se generan 160 empleos (SADER, 2020).

2.2. Enfermedades que afectan el fruto del aguacate

La producción de aguacate es afectada por factores bióticos y abióticos que prevalecen en las zonas del cultivo (Tamez *et al.*, 2001). La antracnosis, ocasionada por *Colletotrichum* spp., es una de las principales enfermedades de este cultivo que afecta la calidad del fruto, lo que disminuye su producción (Trinidad *et al.*, 2017). Otra enfermedad que afecta la producción de aguacate es la roña o mancha

púrpura del aguacate (Morales, 2015; Morales-García et al., 2023) causada por *E. perseae* que, de igual forma, afecta la calidad del fruto (Hernández *et al.*, 1999) y limita su exportación.

2.3. *Elsinoe perseae* (roña o mancha púrpura del aguacate)

La roña o mancha púrpura del aguacate, causada por *E. perseae*, se reportó por primera vez en un vivero de Florida en 1918 (Stevens, 1918). *Elsinoe perseae* tiene una forma asexual, la cual es representada por *Sphaceloma perseae* (Horst, 2013). El nombre común de esta enfermedad se debe a que los síntomas se presentan como manchas pequeñas de color púrpura en frutos, los cuales se agrandan y pasan a ser manchas más oscuras, se unen y dan un aspecto de roña (Figura 1). En la mayoría de los casos, los daños no invaden la pulpa del fruto al momento de la madurez (Morales, 2015). Los géneros *Elsinoe* (*Myriangiales*, *Ascomycota*) son organismos que afectan plantas, estos parásitos especializados provocan enfermedades en muchas plantas incluidos cultivos de importancia económica como el aguacate, provocando síntomas fácilmente reconocibles por tejido necrótico similares a corchos (Fan *et al.*, 2017; Morales-García et al., 2023).

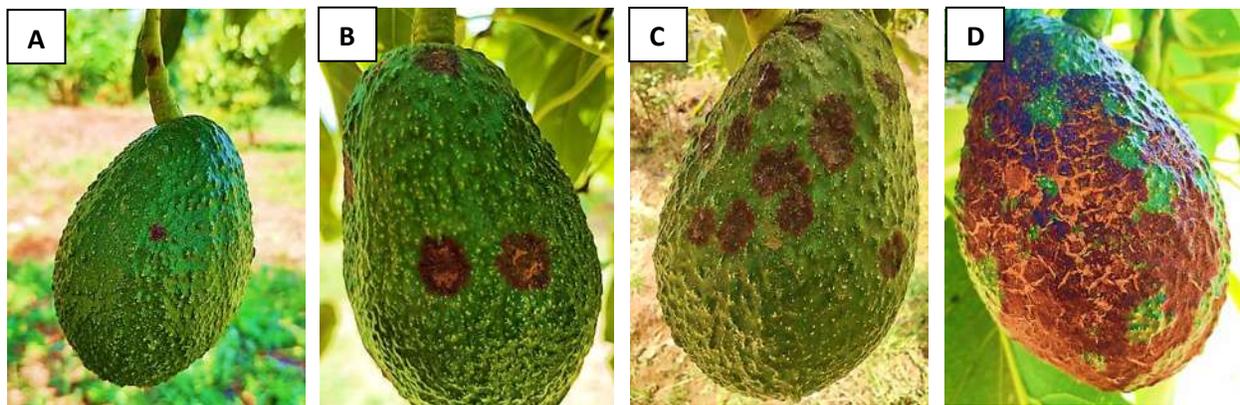


Figura 1. Sintomatología causada por *Elsinoe perseae* en frutos de aguacate, variedad Hass, A) pequeñas lesiones negras dispersas provocadas por *E. perseae*, B) lesión avanzada con un patrón circular de 3 a 10 mm de diámetro, C) lesión con apariencia elevada y tonalidad púrpura, D) unión de las manchas y aparición de fisuras en el pericarpio del fruto con aspecto corchoso dando apariencia de roña.

La presencia de la enfermedad roña o mancha púrpura del aguacate es la razón por la cual este cultivo está regulado y la movilización de su fruta está sujeta a un estricto control, con base a la norma oficial mexicana NOM-066-FITO-1995, ya que esta enfermedad demerita la calidad de la fruta y limita su comercialización y exportación (Rodríguez *et al.*, 2017). Otras de las características de esta

enfermedad es que existe una notable preferencia al atacar con mayor incidencia y severidad a la variedad Méndez (Morales, 2015).

2.4. Taxonomía del agente causal de la roña o mancha púrpura del aguacate

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

2.5. Identificación microscópica

Las especies que pertenecen a la clase Dothideomycetes son una gama muy diversa de hongos que se caracterizan por presentar ascos con dos capas de pared (ascas bitunicadas) y con frecuencia dehiscencia fisitunicada, algunos son saprofitos con muchos estados sexuales, a cada familia de esta clase y orden se le proporciona una descripción y nota, incluyendo estados sexuales y asexuales (Hyde *et al.*, 2013).

Sphaceloma perseae la fase asexual presenta acérvulos en forma de cojín o disco, cerosos; conidióforos simples, los cuales están estrechamente agrupados o compactados, y surgen de una base similar a un estroma, a veces parecido a un esporodoquio; conidios hialinos, unicelulares, ovoides u oblongos (Barnett HL & Hunter BB, 2006). En su reproducción asexual, este hongo presenta micelio toruloso septado (López, 2021; Morales-García *et al.*, 2023) (Figura 2).

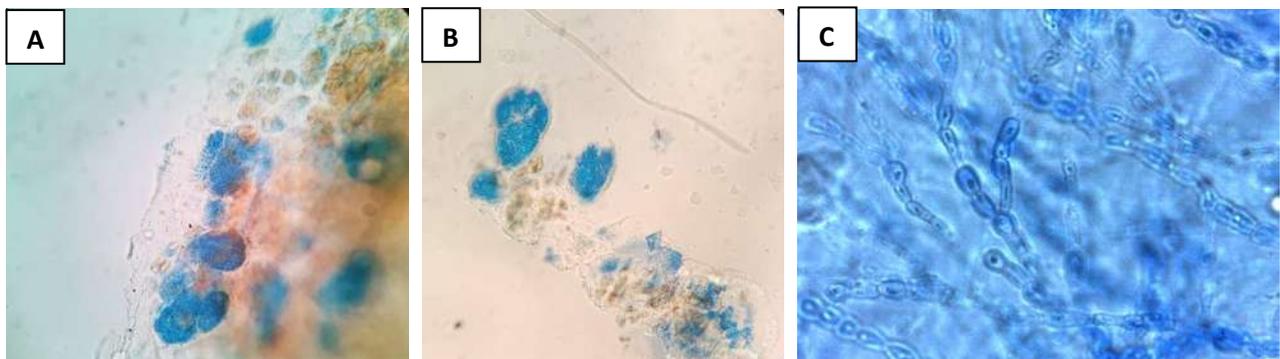


Figura 2. Visualización microscópica de acérvulos de *S. perseae*, en su fase asexual (anamorfo), y micelio de *E. perseae*, en su fase sexual (telomorfo), A) y B) acérvulos de *S. perseae* en un corte histológico en el síntoma obtenido del fruto de aguacate, C) micelio toruloso septado de *E. perseae*.

Generalmente, los aislamientos de *E. perseae* son de color amarillo pajizo a naranja, pero puede cambiar su coloración y forma cuando son transferidos a cajas Petri en varias ocasiones (López, 2021). *Elsinoe perseae* produce las fitotoxinas conocidas como elsinocromos A (Figura 3), nombre propuesto por Betancourt y Jenkins en el año 1934, que fueron obtenidas de colonias de este hongo con más de dos meses de desarrollo (Everett *et al.*, 2011).

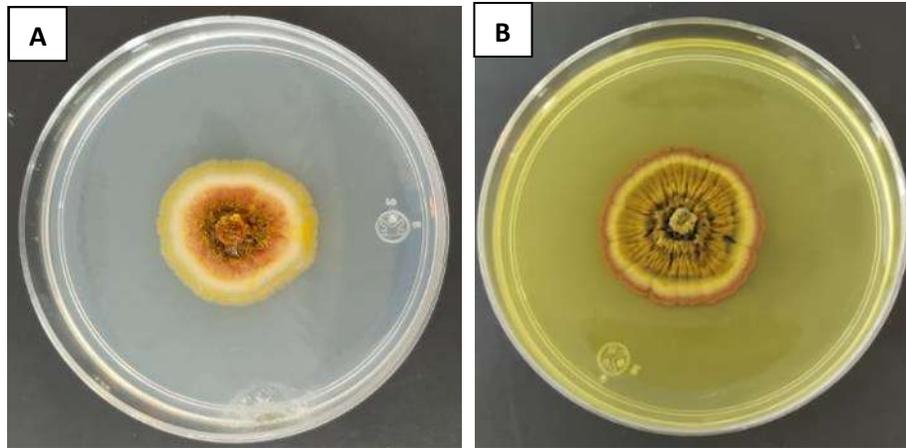


Figura 3. Producción de elsinocromos A en aislamientos de *E. perseae* *in vitro* en medio de cultivo PDA. A) Aislamiento de un mes de desarrollo donde se observa la diferencia de color en el medio de cultivo PDA por la ausencia de elsinocromos A. B) Aislamiento con tres meses de desarrollo en el cual se observa la pigmentación amarilla, característica de los elsinocromos A.

2.6. Resistencia de hongos a fungicidas

Desde hace aproximadamente 35 años, la industria agrícola enfrenta problemas derivados del desarrollo de resistencia en hongos fitopatógenos, frente a los fungicidas utilizados para su control (Brent *et al.*, 2007). La resistencia a fungicidas, se refiere a una insensibilidad adquirida y heredable de un hongo a un agente antifúngico (o fungicida) específico (Comité de acción de resistencia a los fungicidas; FRAC España, 2009). La resistencia a fungicidas tiene un costo financiero para productores y fabricantes de fungicidas. Asimismo, el surgimiento de la resistencia reduce el número de ingredientes activos con diferente modo de acción disponibles en la lucha contra los hongos fitopatógenos, dificultando sobremanera el manejo agronómico de las enfermedades, esta resistencia depende del impacto de las propiedades de cada ingrediente activo y de la estructura genética de las poblaciones de patógenos, como así de las prácticas de manejo agronómico seleccionadas para cada patosistema (Carmona y Sautua, 2017). El uso frecuente de ingredientes activos disminuye la vida útil

o efectiva de un fungicida, la cual se define como el periodo de tiempo que va desde el inicio de su uso en un cultivo, cuando se encuentra disponible en el mercado, hasta que se determina su ineffectividad sobre la enfermedad que se pretende controlar (Hobbelen *et al.*, 2013).

Diversos estudios se han centrado en resolver el fenómeno de la resistencia y gran parte de la información se ha obtenido de aislamientos resistentes generados en laboratorio y no de aislamientos provenientes de campo. Actualmente se conoce la mayoría de los mecanismos de resistencia a grupos químicos con modo de acción específicos como son los benzimidazoles, carboximidazoles y anilino pirimidinas. Entre estos mecanismos de resistencia se encuentra la alteración del sitio de destino, el cual desarrolla una vía metabólica alternativa que pase por alto el objetivo, la descomposición metabólica del fungicida; exclusión o expulsión del fungicida a través de proteínas dependientes de ATP-asa, el mecanismo más común parece ser una alteración del objetivo biológico (Brent *et al.*, 2007). Debido a la alta presión de selección ejercida por el uso continuo de dichas moléculas (Jaramillo, 2003). Esto podría explicar por qué muchos de los productos más antiguos no han encontrado problemas de resistencia ya que estos afectan varios objetivos y, para adquirir resistencia, el hongo tendría que modificar diversos sitios simultáneamente para impedir la acción del fungicida (Brent *et al.*, 2007).

En consecuencia, existe la preocupación de que *E. perseae* desarrolle resistencia a los fungicidas utilizados para su control, como se ha observado en otros patógenos; ejemplo *Botrytis cinerea* Pers presentó resistencia a tiabendazol, ya que, pertenece al grupo de los benzimidazoles y ambos actúan inhibiendo la mitosis y bloqueando la síntesis de ácidos nucleicos (Davised, 1988). En pruebas *in vitro* de cinco sepas obtenidas de regiones florícolas del estado de Guerrero se determinó que *B. cinérea* fue altamente resistente a benomilo y tiabendazol (Ponce, 2002). Otro caso es el de *Phytophthora infestans* Mont debido al uso continuo de un solo fungicida con modo de acción específico (Damicone, 2004). Por su parte, Pérez *et al.* (2005) realizó una adaptación de método de disco de hoja, empleando discos de cotiledones de calabacín (*Cucurbita pepo* L.) tratados con la concentración de fungicida a ensayar, para posteriormente ser inoculados con la cepa *Podosphaera fusca*, el agente causal de oídio de las cucurbitáceas. Estos autores obtuvieron una resistencia de tipo cualitativo debido a que aparecieron cepas sensibles y muy resistentes con clara diferencia entre ellas, lo que se traducía en factores de resistencia muy elevados, esto frente a tres estrobilurinas: azoxistrobin, kresoxim-metil y trifloxistrobin. De igual forma, se encontraron aislamientos de *Mycosphaerella fijiensis* en plátano resistentes a propiconazol en el estado de Tabasco (Martínez *et al.*, 2012).

En los fungicidas inhibidores de la coenzima Q, principalmente los compuestos pertenecientes al grupo de las estrobilurinas, el periodo de adquisición de resistencia es de 2-4 años, o como en el caso de las polioxinas que es de 4-5 años en los otros fungicidas, tales como los benzimidazoles, dicarboximidias, inhibidores de la biosíntesis de esteroides y fenilamidas, dicho período es muy variable, entre 2 y 20 años (Montesino, 2005).

Por lo tanto, el establecimiento temprano de líneas base de resistencia es necesario para una implementación exitosa de las estrategias de gestión de la resistencia a los fungicidas antes de que la ineficacia de control en campo se generalice. Además, dicha información también ayudaría a mantener el uso eficaz de los fungicidas actualmente etiquetados y como resultado, un control sostenible de la roña o mancha púrpura del aguacate.

2.6.1. Concentración efectiva media (CE₅₀)

La CE₅₀ es el valor que se espera que cualquier sustancia produzca un efecto en el 50% de los organismos bajo experimentación de una población dada, bajo un conjunto de condiciones definidas (Repetto, 1995).

El nivel de resistencia puede medirse en el laboratorio exponiendo una población de aislamientos obtenida en el campo a cualquier fungicida y midiendo su respuesta a diferentes dosis del compuesto. Las respuestas de toxicidad se miden generalmente por la inhibición del crecimiento del hongo, la germinación de esporas o de la infección en la planta, frecuentemente, dichas respuestas se presentan como la concentración efectiva que inhibe el crecimiento, la germinación o la infección del patógeno en un 50%, valor que se denomina como CE₅₀ y se calcula tanto para cada individuo muestreado como para la población en estudio (Damicone, 2004).

Se menciona que los aislamientos pueden presentar una sensibilidad o resistencia mayor o menor dependiendo el área de la cual provengan, tomando en cuenta la densidad del cultivo, así como el uso excesivo de los compuestos químicos utilizados para el control de la enfermedad o patógeno (Leiva, 2022).

Otra manera de identificar la resistencia a fungicidas es a través del uso de técnicas basadas en PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), las cuales son más sensibles y generalmente requieren

menor tiempo. Estas técnicas se fundamentan en el análisis de las secuencias de los genes que sufren algún cambio, los cuales codifican para los transcritos o proteínas afectadas por el fungicida y pretenden identificar las mutaciones puntuales que conducen a los cambios en la secuencia de aminoácidos que confieren el fenotipo resistente (Sierotzki *et al.*, 2000).

Se puede saber si un aislamiento de alguna especie de hongo es resistente a un fungicida comparando los resultados del porcentaje de inhibición con la escala de sensibilidad con base a la CE₅₀ utilizada en fungicidas. Esta escala fue desarrollada por Edginton *et al.* (1970), quienes al utilizar una escala de probabilidad frente al logaritmo de la concentración del fungicida y el porcentaje de inhibición, determinaron la CE₅₀ como se muestra en el Cuadro 1 (FRAC, 2022).

Cuadro 1. Escala internacional de sensibilidad con base a la CE₅₀ (Edginton *et al.*, 1970).

Clasificación de riesgo con relaciona de colores a la escala de Edginton <i>et al.</i> , 1970).	Valor de la CE ₅₀	Efecto
	<1	Alta fungitoxicidad
	1-10	Moderada fungitoxicidad
	10-50	Baja fungitoxicidad
	>50	Sin fungitoxicidad (resistencia)

2.7. Control de la enfermedad

El manejo de la roña o mancha púrpura del aguacate, causada por *E. perseae*, se basa en realizar podas sanitarias que faciliten la circulación del aire y la penetración de luz, eliminar órganos de la planta afectados, monitorear y controlar oportunamente la población de trips, aplicar combinaciones de medidas culturales así como fungicidas específicos para el control del hongo (Ica, 2012). Se utilizan los fungicidas pertenecientes a los grupos de los benzimidazoles, estrobilurinas e inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (IBE) (Gepp *et al.*, 2015). Dentro de este último grupo de fungicidas, se encuentra el compuesto propiconazol, el cual es un triazol sistémico, de aplicación foliar y acción

preventiva y curativa, los mejores resultados se obtienen si este producto es aplicado cuando la enfermedad está en sus primeras etapas de desarrollo (ADAMA, 2021).

Dentro del grupo de los benzimidazoles se encuentran los fungicidas benomilo, carbendazim tiabendazol, los cuales inhiben la síntesis de la tubulina el sitio de acción, es un aminoácido de la β -tubulina, mientras que las estrobilurinas son uno de los grupos más recientes de fungicidas, las cuales actúan inhibiendo la respiración celular del hongo, en este grupo se encuentra el azoxistrobin, trifloxystrobin, picoxystrobin y pyraclostrobin (Gepp *et al.*, 2015).

2.8. Fungicidas

Un fungicida es un tipo particular de plaguicida que controla enfermedades fúngicas, inhibiendo o eliminando al hongo que causa la enfermedad, los hongos a menudo producen un impacto económico significativo en el rendimiento y calidad, lo que indica que en el manejo de enfermedades es un componente esencial en la producción de la mayoría de los cultivos (McGrath, 2004).

2.8.1. Clasificación de los fungicidas

Los fungicidas se pueden clasificar por su naturaleza química, momento de aplicación, tipo de movimiento, sitio de aplicación, modo y mecanismo de acción (Leiva, 2022).

2.8.2. Fungicidas y modo de acción

El modo de acción, es la forma cómo el producto llega al sitio y cuál su movimiento dentro de los tejidos de la planta para afectar los procesos biológicos vitales en el ciclo de vida del fitopatógeno. De acuerdo a la interacción de la planta con el compuesto los fungicidas pueden pertenecer a dos grupos: por contacto y sistémicos (FRAC Argentina, 2019).

Los fungicidas de contacto son aquellos que no entran a los tejidos de las plantas, evitan la germinación y penetración de los hongos y tienen que ser aplicados antes de que ocurra la infección; algunos de ellos son ditiocarbomatos, nitrilos, hidrocarburos aromáticos, fenilpiroles y

cyanomidazoles, los compuestos sistémicos son absorbidos por la planta mediante los estomas de las hojas, raíces y tallos; se dividen en traslaminares, los cuales se mueven en distancias cortas dentro de la hoja, no pueden moverse de una hoja a otra y no pueden ser absorbidos por las raíces, otros fungicidas son de acción acropétalo, los cuales pueden penetrar a las plantas a través de raíces, brotes y hojas y se mueven a través del xilema (Leiva, 2022).

2.8.3. Sitios de acción de los fungicidas

Los fungicidas se dividen principalmente por su modo de acción: multisitio y específico. En el primer grupo se encuentran los compuestos que en sus moléculas contienen cobre, azufre y clorotanoloides, los cuales afectan varias estructuras o funciones de la célula al mismo tiempo. En el segundo grupo se encuentran los benzimidazoles, estrubilurinas, triazoles, anilino pirimidinas y fenilpiroles, entre otros, y afectan solo una estructura o función de la célula por separado (Figura 4) (Leiva, 2022).



Figura 4. Ilustración gráfica de los fungicidas con modo de acción multisitio en comparación con los fungicidas con modo de acción específicos. Esquema generado por S. Rodríguez-Hernández en el programa 123RF IA (<https://es.123rf.com/>).

Los fungicidas se han usado desde hace alrededor de 200 años para proteger a las plantas de las enfermedades provocadas por hongos. La protección se efectuaba al inicio principalmente a las

semillas de cereales y los viñedos; sin embargo, el número de cultivos y enfermedades tratadas, la cantidad de productos químicos disponibles, el área y frecuencia de uso se incrementó después de la segunda guerra mundial (Brent *et al.*, 2007).

Las moléculas vinclozolina e iprodiona (clasificados como dicarboxiimidias), se usan para el control de varios hongos fitopatógenos, especialmente para *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. y *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl. Las dicarboxiimidias ejercen su función al colapsar las hifas, de tal forma que son más eficientes sobre el crecimiento micelial que sobre la germinación de las esporas, los fungicidas del tipo de las estrobilurinas (azoxystrobina, trifloxiestrobina y metil-kresoxima), actualmente de gran demanda en el tratamiento de enfermedades fúngicas, inhiben la respiración mitocondrial al unirse al sitio Qo (el sitio externo de oxidación de la quinona) del complejo bc1 (complejo III mitocondrial) al bloquear la transferencia de electrones, disminuyendo la síntesis de ATP (Beltran *et al.*, 2006).

Con los benzimidazoles se inhiben la síntesis de la β -tubulina, el sitio de acción es un aminoácido de la β -tubulina. Esta sustancia existe en todas las células eucariotas, aunque se desconoce por qué los Oomycetes y plantas son insensibles a los benzimidazoles (Gepp *et al.*, 2015).

Los benzimidazoles se utilizaron desde inicios de la década del setenta en el control de sigatoka negra. En este grupo se incluyen el benomilo, thiabendazol, carbendazim (metil benzimidazol carbamato o MBC) y metil tiofanato, entre otros. Este último no es un benzimidazol hasta que ocurre su metabolización en la célula del hongo (Delp, 1995).

Los benzimidazoles presentan una excelente actividad sistémica y terapéutica, y tiene efecto sobre la formación de fructificaciones en las manchas. Todos, en dilución acuosa, forman por diferentes vías el compuesto MBC o carbendazim (agente fungitóxico), que bloquea la formación de microtúbulos, al unirse selectivamente con las β -tubulinas fúngicas (no así en mamíferos), e impiden el acoplamiento de los dímeros de α y β -tubulinas, y por tanto la mitosis celular (Davidse, 1981).

Los triazoles tienen la capacidad de inhibir la síntesis de ergosterol en las células de los hongos al bloquear el citocromo P450, esterol C14 de la metilaza (Sisler *et al.*, 1984; Köller y Scheinflug, 1987; Sisler, 1996).

Las anilino pirimidinas (AP) son un grupo de fungicidas que inhiben la biosíntesis de la metionina (Corredor, 2007). Estos compuestos, que incluyen a cyprodinil, pyrimethanil y mepanipyrim, actúan contra una amplia gama de hongos. El grupo de trabajo de anilino pirimidinas del

FRAC se ha centrado principalmente en el manejo de la resistencia en *Botrytis cinerea* y *Venturia inaequalis* en cultivos de manzana, que son patógenos de alto riesgo de resistencia y también importantes objetivos de enfermedades para esta clase de fungicidas, se han identificado cepas resistentes de ambos patógenos, detectada en viñedos y manzanos. Estos son resistentes a todos los fungicidas de anilino pirimidina, pero no a otras clases de fungicidas. Se han quedado a baja frecuencia, y las anilino pirimidinas siguen siendo eficientes después de doce años de uso comercial. Las pautas de uso han sido publicadas por FRAC e implementadas a lo largo de este período. Estos difieren según la enfermedad del cultivo, pero el enfoque general es restringir el número de tratamientos de anilino pirimidina a aplicar por cultivo y temporada (FRAC, 2022).

Otro grupo son los fungicidas fenilpiroles (PP) con acción sobre la proteína MAP kinaasa que intervienen en las señales de transducción osmótica de las células del hongo (FRAC, 2019).

2.8.3.1. Tecto60[®] Syngenta (Tiabendazol)

Perteneciente a los benzimidazoles (benomil, carbendazim, metil tiofanato, tiabendazol, fuberidazol) inhiben la síntesis de la tubulina, el sitio de acción es un aminoácido de la β -tubulina (Gepp *et al.*, 2015). Son fungicidas específicos que interfieren con la división celular, estos compuestos tienen movilidad sistémica y tienen actividad sobre muchos patógenos, excepto mohos acuáticos por ejemplo *Pythium* y *Phytophthora*, hongos de pigmentación oscura como *Alternaria* (Damicone, 2014).

2.8.3.2. Headline[®] BASF (Piraclostrobin)

En los grupos más recientes de fungicidas se encuentran (kresoxim-metil, azoxistrobin, trifloxystrobin, picoxystrobin y piraclostrobina) pertenecientes a las estrobilurinas, los cuales se relacionan a un metabolito secundario del hongo *Strobilurus tenacellus*. Actúan inhibiendo la respiración en un punto determinado (complejo del citocromo bc1), siendo por su sitio de acción clasificados como inhibidores QoI (inhibidores externos de quinona). Comparten este sitio de acción con algunos otros ingredientes activos de diferente grupo químico de reciente desarrollo para el control de Oomycetes (ejemplo, fenamidone y famoxadone), por lo cual es posible que presenten resistencia cruzada con ellos (Gepp *et al.*, 2015). Los fungicidas son de amplio espectro con actividad contra todos

los principales tipos de patógenos fúngicos las estrobilurinas son fungicidas que penetran las hojas de las plantas y se mueven de un lado de la hoja a la otra. Esta movilidad translaminar los hace resistentes a la lluvia, pero carecen de un verdadero movimiento sistémico en la planta en comparación con algunos otros grupos de fungicidas las estrobilurinas actúan sobre una amplia gama de procesos fúngicos que incluyen la germinación de esporas, el crecimiento fúngico y la reproducción (esporulación). Estos fungicidas han sido registrados en numerosos cultivos por su amplio espectro de actividad y excelentes perfiles de seguridad humana y ambiental. Sin embargo, al igual que los benzimidazoles, la resistencia se desarrolló poco después de su introducción en los fines de la década de 1990 (Damicone, 2014).

2.8.3.3. Quilt® Syngenta (Azoxistrobin + propiconazol)

Es un fungicida sistémico que combina la acción del azoxistrobin y el propiconazol que pertenecen al grupo químico de las estrobilurinas y de los triazoles, respectivamente. Debe aplicarse en aspersión foliar para controlar la roya en los cultivos de trigo, cebada, maíz, algodón y frijol, además de que controla otras enfermedades foliares en los cultivos de frambuesa, zarzamora, fresa, arándano, grosella, nogal, arroz y maíz (SYNGENTA, 2017). Los triazoles inhiben el citocromo P-450-3-A de la célula fúngica, a través de la inactivación de la enzima C-14- α -dimetilasa, con lo cual se interrumpe la síntesis del ergosterol en la membrana celular. Debido a la falta de ergosterol se comienzan a acumular esteroides tóxicos intermedios, aumenta la permeabilidad de la membrana y se interrumpe el crecimiento del hongo (Gregorio 2005).

2.8.3.4. Bankit® Syngenta (Azoxistrobin)

Es un fungicida que, al ser aplicado en las hojas, es absorbido presentando movimiento translaminar y un ligero movimiento a través de las nervaduras de la hoja vía xilema. Contiene Azoxistrobin perteneciente al grupo químico de las estrobilurinas presenta actividad fungicida resultado de la inhibición de la respiración mitocondrial en el hongo (SYNGENTA, 2017).

2.8.3.5. Switch®62.5WG Syngenta (Cyprodinil + fludioxonil)

Es una mezcla de dos ingredientes activos: cyprodinil y fludioxonil. El primero compuesto pertenece al grupo químico anilino pirimidinas y el segundo a los fenilpirroles. Cyprodinil es el ingrediente activo que actúa en forma sistémica y que tiene propiedades lipofílicas, lo que facilita su absorción dentro de la cutícula y las capas de cera de las hojas. Esto favorece su distribución y penetración en el tejido de la planta el fludioxonil tiene actividad de contacto sobre la superficie de la hoja y los frutos (SYNGENTA, 2017).

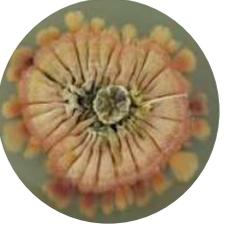
Las anilino pirimidinas interrumpen el crecimiento del micelio mediante la inhibición de la cistationina- β -liasa, una etapa esencial en la biosíntesis de la metionina de esta manera se interrumpe el crecimiento del micelio en la planta, mientras que los fenilpirroles actúa inhibiendo una proteína quinasa mitógeno activada (MAP) involucrada en la ruta de transducción de la señal osmoregulatoria (síntesis del glicerol) (ADAMA, 2021).

III. Materiales y Métodos

3.1. Procedencia y cultivo de aislamientos

Se utilizaron 15 aislamientos de *E. perseae* pertenecientes a la colección de hongos fitopatógenos de la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Estos aislamientos se obtuvieron de frutos de aguacate (variedad Hass) colectados en 15 áreas agroecológicas de la franja aguacatera en el estado de Michoacán (Cuadro 2; Figura 5). Estas áreas se ubican desde los 1,200 a 2,300 msnm y presentan las condiciones climáticas adecuadas para el desarrollo del cultivo del aguacate (Anguiano *et al.*, 2006) y donde el control de la enfermedad conocida como mancha púrpura del aguacate se realiza con diversas aplicaciones de fungicidas de diferente modo de acción. A los aislamientos utilizados en este estudio se le proporcionó un código de identificación de acuerdo al área de procedencia (ejemplo, Taretan [TAR]; Cuadro 2).

Cuadro 2. Área de colecta y código de los aislamientos de *E. perseae* obtenidos de frutos de aguacate (variedad Hass) que presentaron síntomas de la enfermedad conocida como roña o mancha púrpura del aguacate.

Área agroecológicas (msnm) (Código del aislamiento)				
1,000-1,400	1,400-1,650	1,700-1,850	1,900-2,080	2,090-2,400
<p>Taretan (TAR) 101°9'18'33"O, 19°33'38"N, 1,130 msnm</p> 	<p>Pareo (PAR) 19°42'86" N, 101°88'27" O, 1,520 msnm</p> 	<p>Zacándaro (ZAC) 19°35'94"N, 102°18'58"O, 1700 msnm</p> 	<p>Ario de Rosales (A de R) 19°20'72" N, 101°70'80" O, 1900 msnm</p> 	<p>Zirahuén (ZIH) 19°54'167 N, 101°73'19" O, 2090 msnm</p> 
<p>Patuán (PAT) 19°39'16"N, 101°9'1'50"O, 1,260 msnm</p> 	<p>Mesa de Cázares (M de C) 19°37'75" N, 101°85'39" O, 1,560msnm</p> 	<p>Toreo el Alto (T el A) 19°46'00" N, 102°00'30" O, 1800 msnm</p> 	<p>Tingambato (TIN) 19°50'19" N, 101°85'25" O, 1980 msnm</p> 	<p>Lagunillas (LAG) 19°56'25"N, 101°41'58"O, 2100 msnm</p> 
<p>Ziracuaretiro (ZIRA) 19°43'57"N, 101°92'93"O, 1,380 msnm</p> 	<p>Jicalán (La Pinerita) (JIC) 19°38'33"N, 102°07'61"O, 1,600 msnm</p> 	<p>La Basilia (La B) 19°46'25" N, 102°06'50" O, 1860 msnm</p> 	<p>Tancítaro (TAN) 19°33'75"N, 102°36'30"O, 2080 msnm</p> 	<p>Salvador Escalante (SE) 19°40'64"N, 101°64'00"O, 2239 msnm</p> 

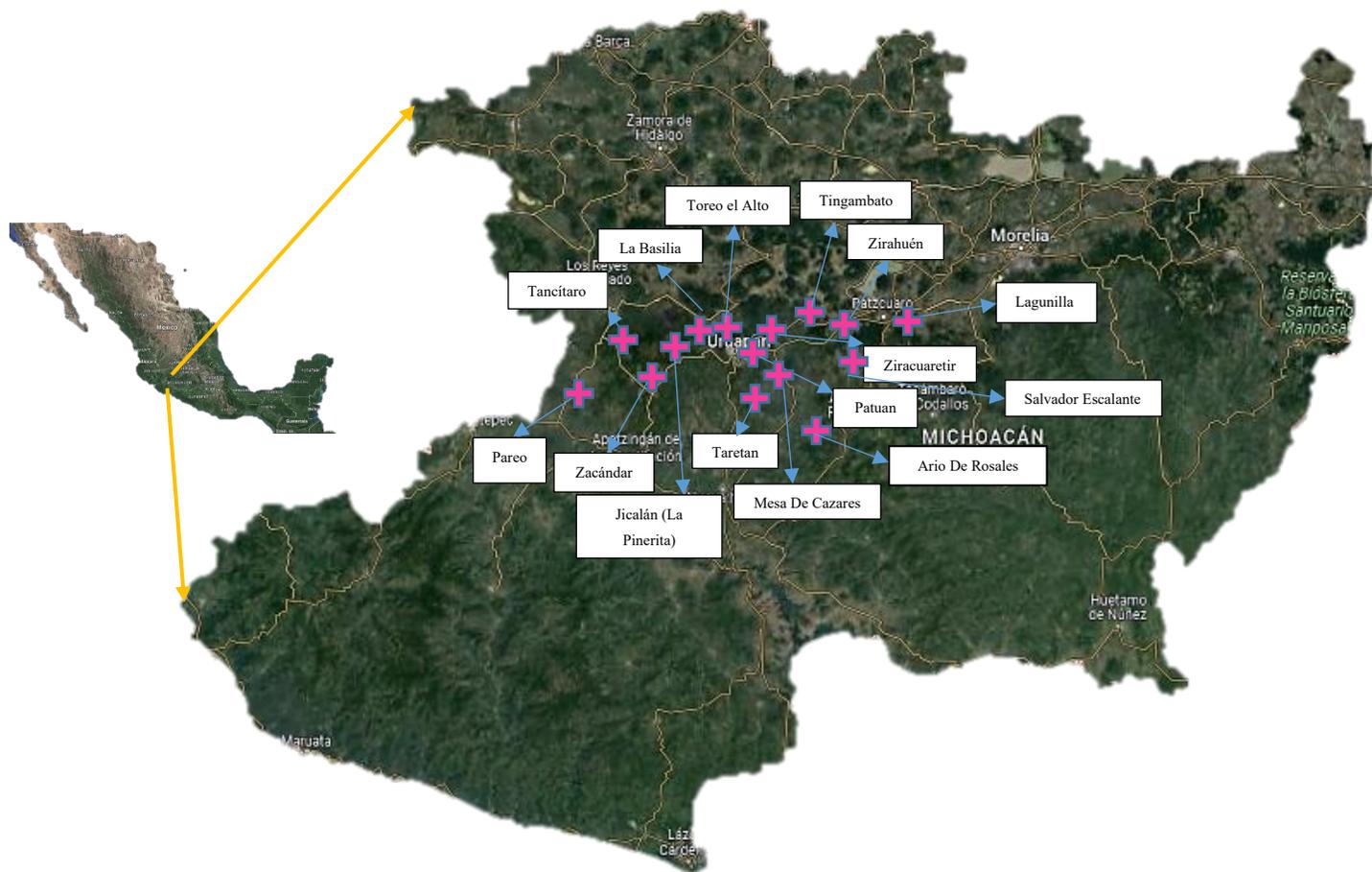


Figura 5. Ubicación de las áreas de procedencia de los aislamientos de *E. perseae* obtenidos de frutos de aguacate (variedad Hass) colectados en la franja aguacatera en el estado de Michoacán.

3.2. Selección de aislamientos de *E. perseae*

Para obtener material suficiente para realizar los ensayos de PIM y de CE₅₀, cada uno de los 15 aislamientos de *E. perseae* se reactivaron, por triplicado, en el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA; BD Bioxon®, con registro sanitario 0120R83). Para la preparación de este medio de cultivo, en 1 L de agua destilada se mezclaron 39 g de PDA, la cual se mantuvo en constante agitación a 26 °C hasta obtener una dilución homogénea. Posteriormente, el medio de cultivo PDA se esterilizó en una autoclave a 120 °C y 15 libras de presión durante 15 min. Para evitar el crecimiento de otros microorganismos, a este medio de cultivo se agregaron 10 mL de ácido tartárico cuando se encontraba

entre 45 y 50 °C. Posteriormente, se vertieron 20 mL de medio de cultivo PDA en cajas Petri de plástico (9 cm de diámetro x 1 cm de altura), las cuales se colocaron a 6 °C para su solidificación (Figura 6). Una vez solidificado el medio de cultivo, se colocaron, por separado, discos de agar con micelio de los aislamientos de *E. perseae* en el centro de las cajas Petri y se incubaron durante tres meses bajo condiciones de oscuridad a 28 °C y 80% de humedad relativa. Estos cultivos se observaron cada 24 horas con el objetivo de, en caso de existir, eliminar aquellas contaminadas por otros microorganismos distintos a *E. perseae* (Figura 7).

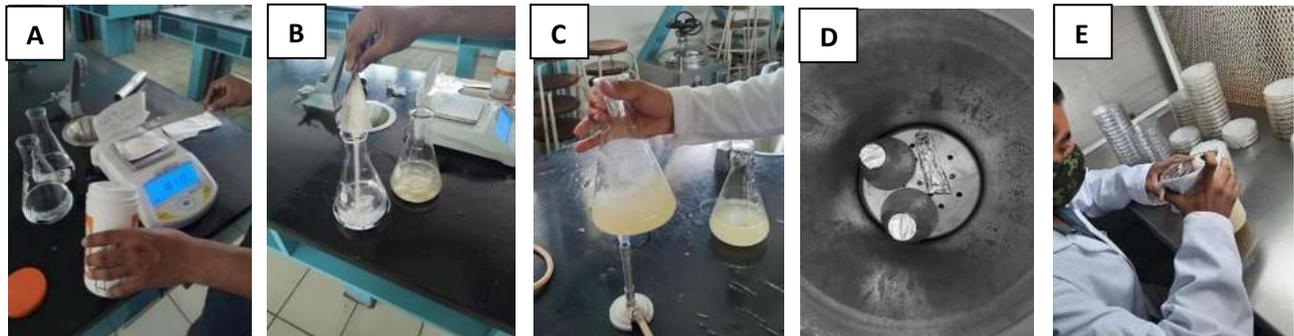


Figura 6. Preparación de medio de cultivo PDA. A) Pesado del medio de cultivo PDA deshidratado, B) Vaciado del medio de cultivo PDA deshidratado en agua destilada, C) Calentamiento y agitación de la mezcla del medio de cultivo PDA deshidratado + agua destilada D) Esterilización de medio de cultivo PDA con ayuda de una autoclave, E) Vaciado de medio de medio de cultivo PDA a cajas Petri.

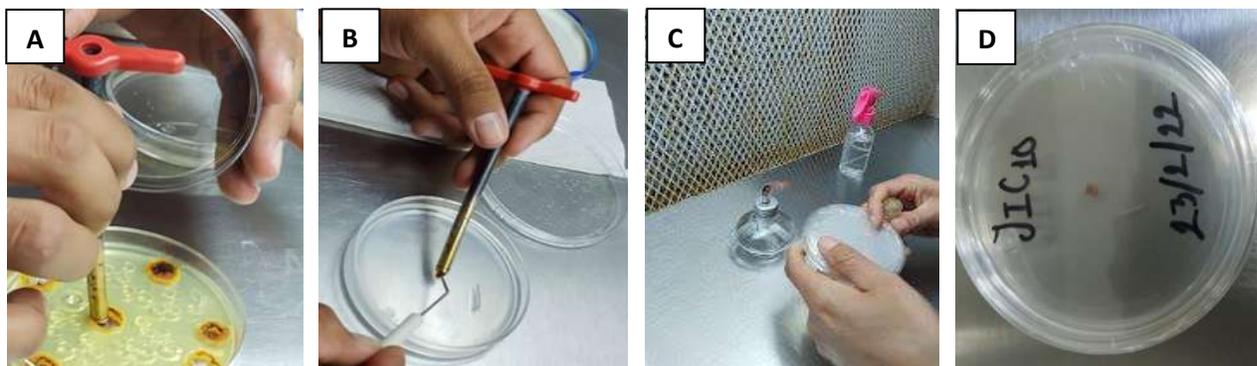


Figura 7. Selección, repetición y siembra de cada aislamiento de *E. perseae* de las diferentes áreas. A) Fragmentación de micelio con medio de cultivo PDA, B) Colocación de discos de PDA con micelio en medio de cultivo PDA, C) Sellado de caja Petri, D) Marcado de caja Petri.

3.3. Pruebas de resistencia

Las pruebas de resistencia se realizaron *in vitro* con los fungicidas tiabendazol, pyraclostrobin, azoxistrobin + propiconazol, azoxistrobin y cyprodinil + fludioxonil (Figura 8). Estos fungicidas

poseen diferente modo de acción (Comité de acción contra la resistencia) (FRAC, 2022). Se utilizaron tres dosis por cada compuesto: la máxima dosis recomendada en campo por el fabricante (MDRC), la mitad y un cuarto de la MDRC (Cuadro 3). Estos fungicidas son los que se utilizan en el cultivo de aguacate para el control de diferentes enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, incluyendo *E. perseae* para el mercado de exportación.

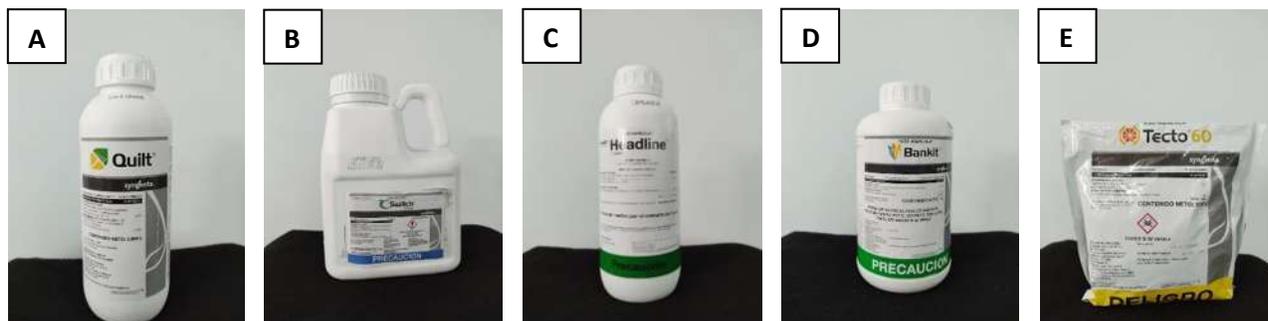


Figura 8. Fungicidas utilizados en la determinación de resistencia de *E. perseae*. A, Azoxistrobin + Propiconazol; B, Cyprodinil + Fludioxonil; C, Pyraclostrobin; D, Azoxistrobin; E, Tiabendazol).

Cuadro 3. Fungicidas utilizados en la determinación de resistencia de *E. perseae*.

Ingrediente activo (Formulación)	Nombre comercial (Casa comercial)	Modo de acción	Grupo químico	Dosis		
				1	2	3
Tiabendazol (^a PS)	Tecto60 [®] (Syngenta)	Inhibición de la mitosis y división celular	Benzimidazoles	0.6	0.3	0.15
Pyraclostrobin (^b CE)	Headline [®] (BASF)	Inhibición de la respiración mitocondrial.	Estrobirulinas	1	0.5	0.25
Azoxistrobin + propiconazol (^b CE)	Quilt [®] (Syngenta)	Inhibición de la respiración mitocondrial, Inhibición de la biosíntesis de ergosterol.	Estrobirulina+Tr azoles	0.6	0.3	0.15
Azoxistrobin (^c SC)	Banki [®] (Syngenta)	Inhibición de la respiración mitocondrial.	Estrobirulina	0.4	0.2	0.1
Cyprodinil + fludioxonil (^d WG)	Switch [®] (Syngenta)	Inhibición de la germinación de esporas y crecimiento inter e intracelular de micelio.	Anilinopirimidin as+ Fenilpiroles	1	0.5	0.25

Todas las dosis son en mL L⁻¹, excepto para tiabendazol y cyprodinil + fludioxonil, que son en g L⁻¹.

^aPS = Polvo soluble

^bCE = Concentrado emulsionable

^cSC = Suspensión concentrada

^dWG = Gránulo dispersable

Las concentraciones utilizadas de cada fungicida se disolvieron previamente en 50 mL de agua destilada y posteriormente se incorporaron al medio de cultivo PDA cuando se estaba a una temperatura aproximada de 45-50°C. Se utilizaron micropipetas autoclavables de un canal con las medidas de 100-1000 y 10-100 μL para obtener las dosis deseadas con las que se realizaron los bioensayos. Para el pesaje de los fungicidas granulados y polvos humectables se utilizó una balanza granataría digital. La mezcla del fungicida con el medio de cultivo PDA se homogenizó agitándola suavemente, de la cual se vertieron aproximadamente 20 mL en las cajas Petri (Figura 9).

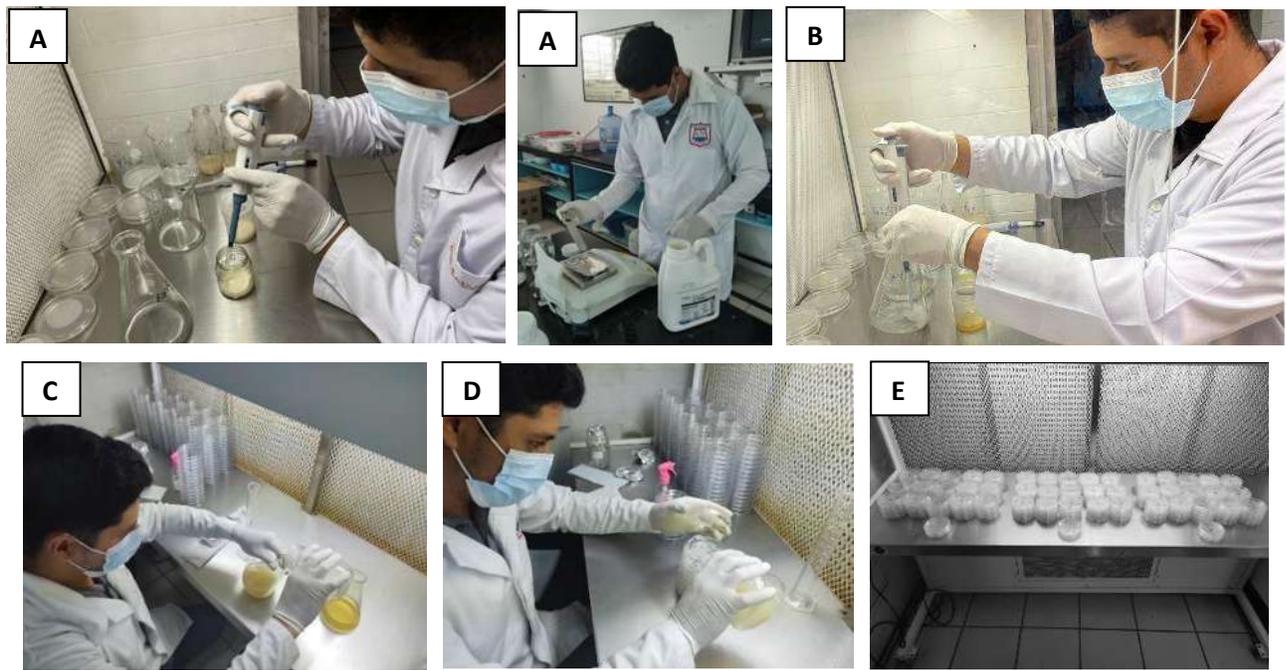


Figura 9. Obtención de las dosis para la preparación del medio de cultivo PDA + el fungicida. A) Dosis del fungicida obtenida con micropipeta y balanza granataria digital, B) Vaciado del fungicida con micropipeta en un matraz, C) Mezclado del medio de cultivo PDA con el fungicida, homogenización de la mezcla y vertido en las cajas Petri, D) Visualización de los tratamientos por zona.

Después de una hora de solidificación, enfriamiento y exposición a luz ultravioleta en el interior de una cámara de flujo laminar, en el centro de las cajas Petri que contenían el medio de cultivo PDA con cada uno de los fungicidas se colocaron discos de agar con micelio (5 mm de diámetro) del respectivo aislamiento de *E. perseae* a ensayar (Figura 10). Por cada zona se incluyó un testigo, en el cual el aislamiento respectivo se sembró en el medio de cultivo PDA sin fungicida.

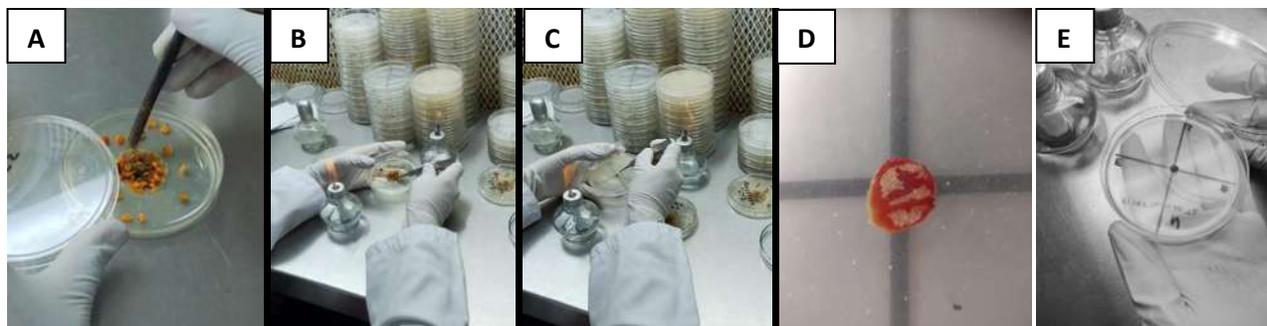


Figura 10. Siembra de fragmentos de micelio en medio de cultivo PDA + fungicida. A) Fragmentación de micelio de *E. perseae*, B) Extracción de disco de agar con micelio, C) Colocación de discos de agar con micelio del hongo en medio de cultivo PDA + fungicida D) Disco de agar con micelio de *E. perseae*, E) Caja de Petri con medio de cultivo PDA + fungicida y con un disco de micelio de *E. perseae* en el centro.

El ensayo se mantuvo en incubación y observación a 26° C y humedad relativa de 80 % durante un periodo de tres meses debido a que éste es el tiempo en que los aislamientos de *E. perseae* tienen su máximo desarrollo (Aguirre, 2003). Después de transferir el fragmento de medio de cultivo con micelio del hongo, cada 30 días se midió, con un vernier, el diámetro de la colonia de cada aislamiento de *E. perseae* evaluado.

3.4. Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con los fungicidas utilizados con los aislamientos de *E. perseae* provenientes de cada zona (Cuadro 6).

Cuadro 4. Diseño experimental usado por cada zona.

Fungicida	Zona			
	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3	Testigo
Tiabendazol				
Pyraclostrobin				
Azoxistrobin+p ropiconazol				
Azoxystrobin				
Cyprodinil+ fludioxonil				

3.5. Porcentaje de inhibición micelial (PIM)

Para determinar el PIM de los diferentes aislamientos de *E. perseae* provenientes de las diferentes áreas de estudio, se tomó como referencia los cuatro puntos cardinales en la caja Petri. Posteriormente, con un vernier se midió (en mm) el crecimiento del micelio de todos aislamientos ensayados. Con los datos del diámetro de crecimiento micelial se calculó el PIM con la siguiente fórmula (Pandey *et al.*, 1982):

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

Donde:

dt = diámetro de la colonia del testigo

dtt = diámetro de la colonia de los tratamientos

Los datos de PIM se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y las medias se separaron con la prueba de Tukey ($P < 0.05$) con el programa SAS (versión 9.4; SAS Institute, Cary, NC).

3.6. Concentración efectiva media (CE₅₀)

Con los datos del promedio del PIM de las diferentes dosis utilizadas se generó un gráfico de dispersión; en el eje de las X la concentración y en el eje de las Y el PIM. A este gráfico se agregó la línea de tendencia logarítmica, la cual se seleccionó con base al comportamiento de la línea del gráfico. Posteriormente, se generó la ecuación del grafico $X = CE_{50}$. La ecuación expresada en el gráfico es la siguiente: $y = a \ln(x) + b$, donde y es una constante del 50% de inhibición del micelio, a y b son constantes logarítmicas generadas por la ecuación. Al despejar la variable X, la ecuación de grafico sería la siguiente:

$$X = \text{Exp} \left(\frac{(y-b)}{a} \right).$$

Donde:

x = Concentración efectiva media (CE₅₀).

a = Expresión logarítmicas generadas por la ecuación.

b = Expresión logarítmicas generadas por la ecuación.

y = Constante del 50% de inhibición del micelio.

De esta manera se obtuvo CE_{50} de los diferentes PIM obtenidos en los aislamientos.

Los análisis se realizaron con el programa Excel (Microsoft Office versión 15.0.4569.1506).

Ejemplo en el despeje de la ecuación $X = \text{Exp}\left(\frac{(y-b)}{a}\right)$.

En el caso de la Figura # La ecuación expresada en el gráfico es la siguiente: $y = a \ln(x) + b$, Despejando X dejamos el valor de (y) que es la constante del 50% de inhibición del micelio, a y b son constantes logarítmicas generadas por la ecuación. Al despejar la variable X, la ecuación de grafico sería la siguiente: $\text{EXP}((50-38.159)/8.282)$ generando un valor de CE_{50} de 4.177 para el pyraclostrobin en el aislamiento obtenido en el área de Zirahúen (Figura 11).

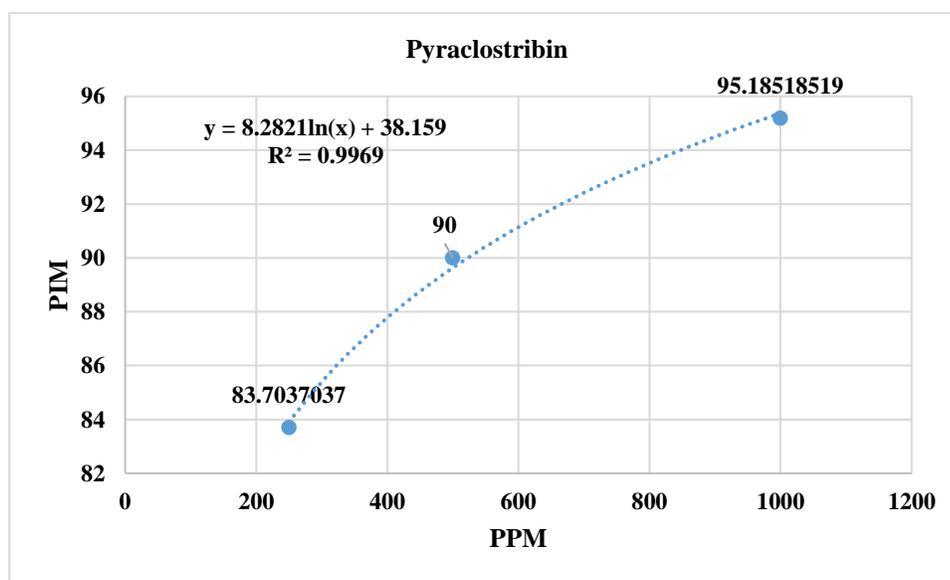


Figura 11. Regresión lineal del porcentaje de inhibición de micelio en la zona de Zirahúen sometido el pyraclostrobin.

3.7. Evaluación de la resistencia

Los resultados de la CE_{50} expresan la fungitoxicidad (sensibilidad) de los ingredientes activos evaluados sobre los aislamientos de *E. perseae*. Estos datos se compararon con la escala internacional de sensibilidad propuesta por Edgington et al. (1971) de acuerdo a los valores de la CE_{50} (Cuadro 1).

IV. Resultados

4.1. Determinación del PIM

El análisis de varianza de los datos examinados por tratamientos indicó que los cinco fungicidas ensayados inhibieron el crecimiento de los aislamientos del hongo *E. perseae* colectados en las cinco áreas agroecológicas estudiadas, en contraste con el tratamiento testigo.

En los aislamientos de las **Áreas Agroecológicas 1** (Taretan, Patuán y Ziracuaretiro), **2** (Pareo, Mesa de Cazares y Jicalan) y **3** (Zacandaro, Toreo, La Basilia), los tratamientos con tiabendazol, azoxistrobin + propiconazol y azoxistrobin inhibieron totalmente el crecimiento del micelio; este efecto inhibitorio fue estadísticamente similar en cualquiera de las tres dosis aplicadas. En cambio, los productos cyprodinil + fludioxonil y pyraclostrobin sólo fueron altamente efectivos (100% inhibición) cuando se aplicaron en dosis altas (g L^{-1} y mL L^{-1}) y media (0.5 g L^{-1} y $0,5 \text{ mL L}^{-1}$), ya que aplicados en dosis bajas se disminuyó el porcentaje de inhibición de los aislamientos en rangos de 74% a 95% (Cuadros 5, 6 y 7).

Cuadro 5. Porcentaje de inhibición del micelio (PIM) en aislamientos de *Elsinoe perseae* provenientes de frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad Hass colectados en el Área Agroecológica 1 conformada por las zonas de Taretan, Patuán y Ziracuaretiro, Michoacán.

Producto	Dosis	Porcentaje de inhibición de micelio (PIM)					
		Taretan		Patuan		Ziracuaretiro	
		0	g	0	g	0	g
Testigo							
Cyprodinil + fludioxonil	1	91.30	abcde	100	a	89.39	abcde
	0.5	78.62	f	83.07	ef	86.36	cdef
	0.25	79.34	f	80	f	84.24	def
Azoxistrobin + propiconazol	0.6	100	a	100	a	100	a
	0.3	100	a	100	a	100	a
	0.15	100	a	100	a	100	a
Pyraclostrobin	1	93.47	abcde	94.61	abc	91.81	abcd
	0.5	92.75	abcde	93.84	abcde	89.69	abcde
	0.25	87.31	cdef	88.46	bcdef	86.06	edfc
Tiabendazol	0.6	100	a	100	a	100	a
	0.3	100	a	100	a	100	a
	0.15	100	a	100	a	100	a
Azoxistrobin	0.4	100	a	100	a	100	a
	0.2	100	a	100	a	100	a
	0.1	100	a	100	ab	97.69	ab
Pr>F	<.0001						
R ²	0.978004						
Cv	4.583862						

Cuadro 6. Porcentaje de inhibición del micelio (PIM) en aislamientos de *Elsinoe perseae* provenientes de frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad Hass colectados en el Área Agroecológica 2 conformada por las zonas de Pareo, Mesa de Cazares y Jicalan, Michoacán.

Producto	Dosis	Porcentaje de inhibición de micelio (PIM)					
		Pareo		Mesa de Cazares		Jicalan	
Testigo		0	i	0	i	0	i
Cyprodinil + fludioxonil	1	91.29	abde	82.60	efgh	95.09	abc
	0.5	90.96	abcdef	90.57	abcdef	92.81	abcde
	0.25	80.96	gh	95.28	abc	81.69	fgh
Azoxistrobin + propiconazol	0.6	100	a	100	a	100	a
	0.3	100	a	100	a	100	a
	0.15	100	a	100	a	100	a
Pyraclostrobin	1	95.80	ab	93.06	abcd	93.79	abcd
	0.5	85.80	bcdef	90.28	dcdef	92.81	abcd
	0.25	74.19	h	89.33	dcdef	84.96	cdef
Tiabendazol	0.6	100	a	100	a	100	a
	0.3	100	a	100	a	100	a
	0.15	100	a	100	a	100	a
Azoxistrobin	0.4	100	a	100	a	100	a
	0.2	100	a	100	a	100	a
	0.1	100	a	100	a	100	a
Pr>F	<.0001						
R ²	0.981053						
CV	4.583862						

Cuadro 7. Porcentaje de inhibición del micelio (PIM) en aislamientos de *Elsinoe perseae* provenientes de frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad Hass colectados en el Área Agroecológica 3 conformada por las zonas de Zacandaro, Toreo, La Basilia Michoacán.

Producto	Dosis	Porcentaje de inhibición de micelio (PIM)					
		Zacandaro		Toreo		La Basilia	
Testigo		0	f	0	f	0	f
Cyprodinil + fludioxonil	1	90.41	bcd	95.38	ab	96.09	ab
	0.5	80.41	e	83.84	de	92.57	abc
	0.25	77.08	e	78.46	e	85.15	cde
Azoxistrobin + propiconazol	0.6	100	a	100	a	100	a
	0.3	100	a	100	a	100	a
	0.15	100	a	100	a	100	a
Pyraclostrobin	1	94.58	ab	89.61	bcd	94.53	ab
	0.5	90.41	bcd	95	ab	92.57	abc
	0.25	83.75	de	95	ab	83.59	de
Tiabendazol	0.6	100	a	100	a	100	a
	0.3	100	a	100	a	100	a
	0.15	100	a	100	a	100	a
Azoxistrobin	0.4	100	a	100	a	100	a
	0.2	100	a	100	a	100	a
	0.1	100	a	100	a	100	a
Pr>F	<.0001						
R ²	0.981053						
CV	3.803967						

En los aislamientos de las **Áreas agroecológica 4 (Zacandaro, Toreo, La Basilia) y 5 (Ario de Rosales, Tingambato y Tancítaro)** el tiabendazol inhibió el micelio en 100% en cualquiera de las dosis aplicadas, cyprodinil+fludioxonil solo inhibió el 100% del desarrollo del micelio de los aislamientos en Ario de Rosales y Tancitaro cuando se aplicó en dosis altas; en Tingambato el producto no fue efectivo. En Ario de Rosales el azoxistrobin+propiconazol fue eficaz en dosis altas y medias, efecto similar al pyraclostrobin, aunque este último producto si inhibió a cualquier dosis probada en Tingambato y Tancitaro. Por el contrario azoxistrobin solo aumento el porcentaje de inhibición a dosis altas y medias (Cuadro 8).

Cuadro 8. Porcentaje de inhibición del micelio (PIM) en aislamientos de *Elsinoe perseae* provenientes de frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad Hass colectados en el Área Agroecológica 4 conformada por las zonas de Ario de Rosales, Tingambato y Tancítaro, Michoacán.

Producto	Dosis	Porcentaje de inhibición de micelio (PIM)					
		Ario de Rosales		Tingambato		Tancitaro	
Testigo		0	j	0	j	0	j
Cyprodinil + fludioxonil	1	100	a	93.56	bcdefg	100	a
	0.5	93.70	abcdefg	80.95	i	96.15	abc
	0.25	89.62	defgh	82.92	i	93.07	bcdefg
Azoxistrobin + propiconazol	0.6	100	a	100	a	100	a
	0.3	98.14	ab	100	a	100	a
	0.15	92.59	cdefg	100	a	100	a
Pyraclostrobin	1	100	a	100	a	100	a
	0.5	100	a	94.34	abcdefg	95.38	abcd
	0.25	90.37	defgh	92.60	abcdefg	95.38	abcd
Tiabendazol	0.6	100	a	100	a	100	a
	0.3	100	a	100	a	100	a
	0.15	100	a	100	a	100	a
Azoxistrobin	0.4	100	a	100	a	100	a
	0.2	98.14	ab	100	a	96.92	ab
	0.1	88.14	fghi	89.13	defgh	85.38	efghi
Pr>F	<.0001						
R ²	0.987654						
CV	3.279351						

Los aislamientos de las zonas de Salvador Escalante y Zirahuén fueron tolerantes a dosis bajas de azoxistrobin+propiconazol y de azoxistrobin.

Cuadro 9. Porcentaje de inhibición del micelio (PIM) en aislamientos de *Elsinoe perseae* provenientes de frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad Hass colectados en el Área Agroecológica 5 conformada por las zonas de Zirahuén, Lagunillas, Salvador Escalante, Michoacán.

Producto	Dosis	Porcentaje de inhibición de micelio (PIM)					
		Zirahuén		Lagunillas		Salvador Escalante	
Testigo		0	g	0	j	0	g
Cyprodinil + fludioxonil	1	100	a	0	g	95.55	abc
	0.5	96.47	abc	100	a	100	a
	0.25	94.50	abcd	95.72	abc	95.18	abc
Azoxistrobin + propiconazol	0.6	100	a	100	a	100	a
	0.3	100	a	99.34	ab	97.03	abc
	0.15	98.03	abcd	90.78	abcdef	84.44	f
Pyraclostrobin	1	90.98	abcdef	100	a	100	a
	0.5	94.50	abcd	99.67	a	90	bcdef
	0.25	100	a	90.78	abcdef	100	a
Tiabendazol	0.6	100	a	100	a	100	a
	0.3	100	a	100	a	100	a
	0.15	100	a	100	a	100	a
Azoxistrobin	0.4	100	a	100	a	100	a
	0.2	100	a	99.34	ab	94.07	bcd
	0.1	83.52	f	85.52	ab	83.70	f
Pr>F	<.0001						
R ²	0.978703						
CV	4.328219						

El análisis de los datos considerando un arreglo de tratamientos factorial indicó que la inhibición del crecimiento del micelio de los aislamientos del hongo *E. perseae*, estuvo influenciado por la interacción de los tres factores en estudio (área agroecológica, producto fungicida y dosis aplicada), excepto en el **área agroecológica 1** conformada por **Taretan, Patuan y Ziracuaretiro**, donde la interacción entre factores no fue significativa (**Cuadro 10**).

Cuadro 10. Análisis de varianza (cuadrados medios y significancia) del efecto de las concentraciones de los diferentes fungicidas sobre el porcentaje de inhibición a los tres meses en los diferentes aislamientos de *E. perseae*.

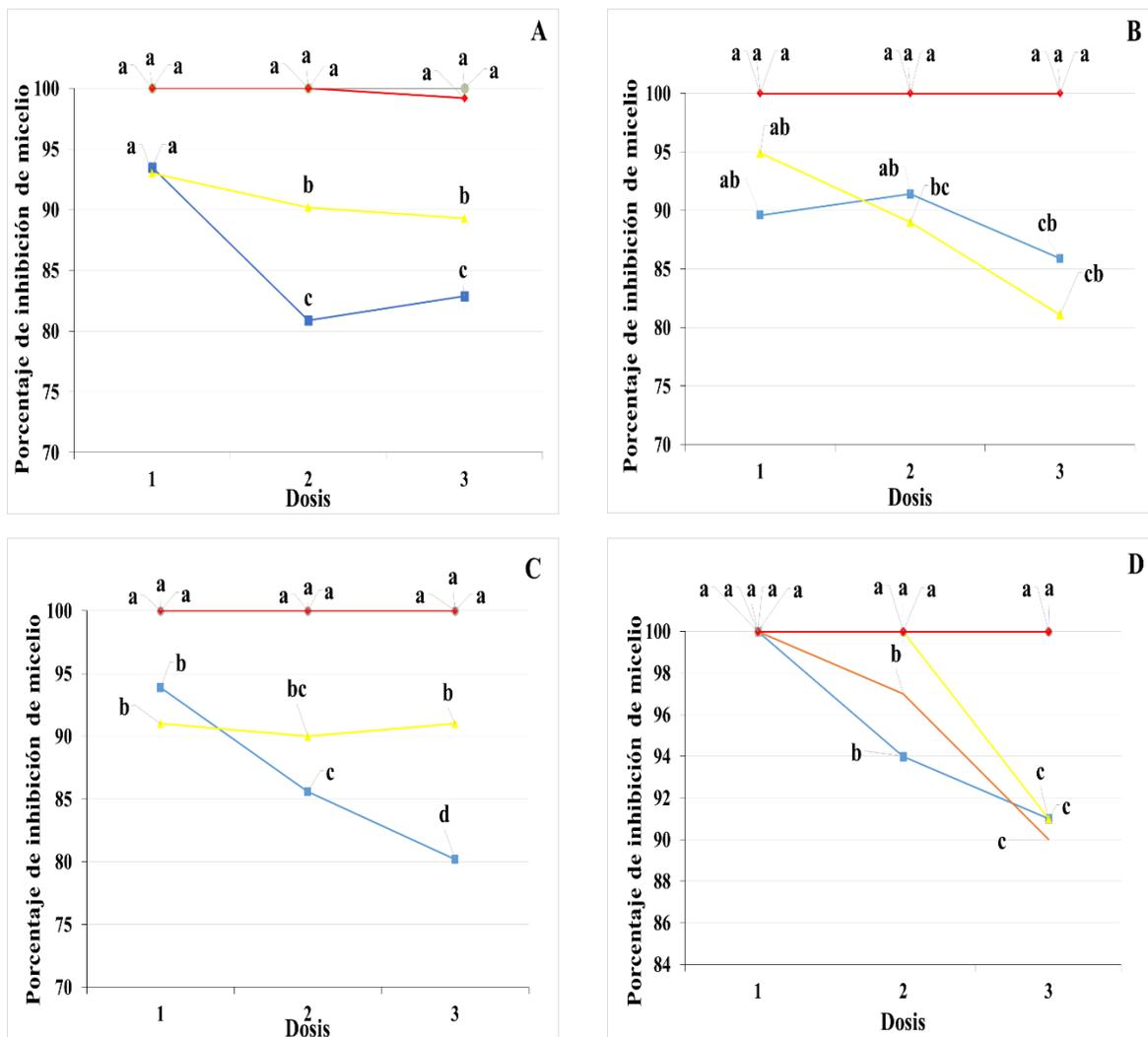
Fuente	G.L	Inhibición del crecimiento de micelio (%)				
		Área 1	Área 2	Área 3	Área 4	Área 5
ZONA (Z)	2	38.43 ^{NS}	91.08*	139.40*	161.01**	165.78**
PRODUCTO (P)	4	7796.84**	6890.91**	7202.95**	343.09**	424.12**
DOSIS (D)	2	465.85**	498.20**	287.12**	120.119*	64.62*
ZONA*PRODUCTO	8	217.15 ^{NS}	176.40 ^{NS}	543.16**	148.64 ^{NS}	141.97 ^{NS}
ZONA*DOSIS	4	111.21 ^{NS}	322.56*	218.65 ^{NS}	28.66 ^{NS}	24.12 ^{NS}
PRODUCTO*DOSIS	8	1032.99**	1165.37**	1149.50**	5620.27**	6744.08**
ZONA*PRODUCTO*DOSIS	16	452.19 ^{NS}	989.09**	621.05**	290.16*	295.01*

Fuente de variación y diferencias estadísticas significativas entre las diferentes interacciones Los resultados con asteriscos (**) indican diferencias estadísticas significativas y los resultados con (NS) no indican diferencia significativa.

Los factores producto y dosis de manera independiente y en interacción influyeron en el porcentaje de inhibición de micelio (PIM); la interacción área*producto solo fue significativa para el **Área agroecológica 3** (Zacandaro, Toreo, La Basilia Michoacán). La interacción zona*dosis solo modificó

el PIM en el **Área agroecológica 2** (Pareo, Mesa de Cazares y Jicalan, Michoacán.). El PIM estuvo influenciado por al área agroecológica en que fue colectado el aislamiento, excepto para la **Área 1** donde este factor no influyó en el PIM (Cuadro 10).

El análisis factorial confirmó lo encontrado por el análisis de datos por tratamientos, ya que los productos tiabendazol, azoxistrobin + propiconazol y azoxistrobin fueron altamente eficientes a cualquier dosis probada (PIM 100%) y estadísticamente superiores a los fungicidas cyprodinil+fludioxonil y pyraclostrobin, que en promedio inhibieron el desarrollo del micelio de los aislamientos de las cinco áreas agroecológicas estudiadas en 94.7 y 88.3 % solo a la dosis más altas (Figura 12).



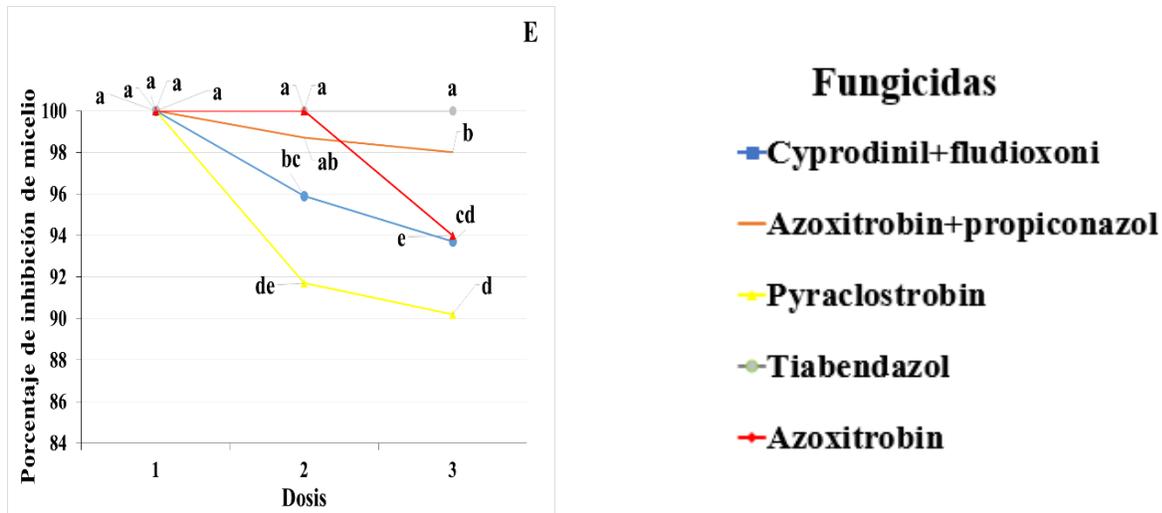


Figura 12. Porcentaje de inhibición de micelio de *E. perseae* por efecto de la aplicación de cinco fungicidas a dosis alta, media, baja. A) Área Agroecológica 1 (Taretan, Patuán y Ziracuaretiro, Michoacán); B) Área Agroecológica 2 (Pareo, Mesa de Cazares y Jicalan); C) Área Agroecológica 3 (Zacandaro, Toreo, La Basilia); D) Área Agroecológica 4 (Ario de Rosales, Tingambato y Tancítaro); E) Área Agroecológica 5 (Zirahuén, Lagunillas, Salvador Escalante).

En el Área agroecológica 2 los aislamientos de la localidad de la mesa de cazares fueron mas tolerantes a los fungicidas en todas las dosis en comparación con los aislamientos del Área agroecología 2 donde jicalan y pareo inhibieron el desarrollo del micelio con la dosis alta y media (Figura 13).

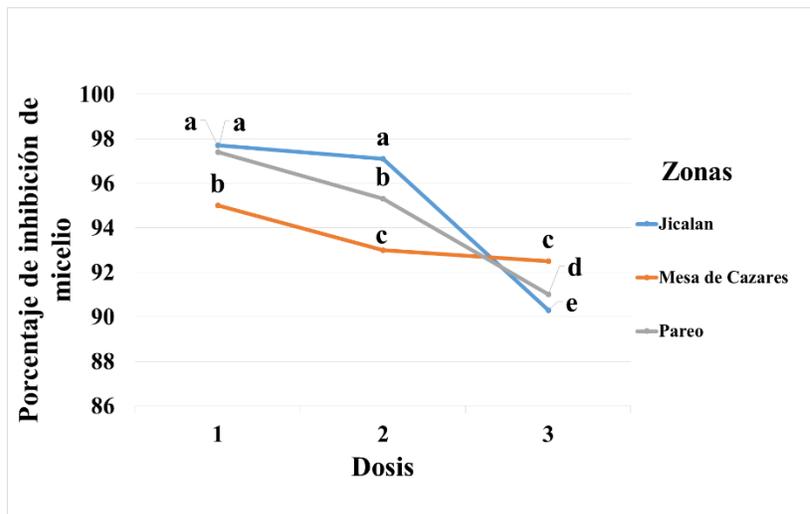


Figura 13. Porcentaje de inhibición de aislamientos de *E. perseae* en el Área agroecológica 2 en las zonas de jicalan, pareo y mesa de cazares.

Los aislamientos de las tres zonas del Área agroecológica 3 fueron tolerantes al cyprodinil+fludioxonil y al pyraclostrobin en todas las dosis aplicadas (Figura 14).

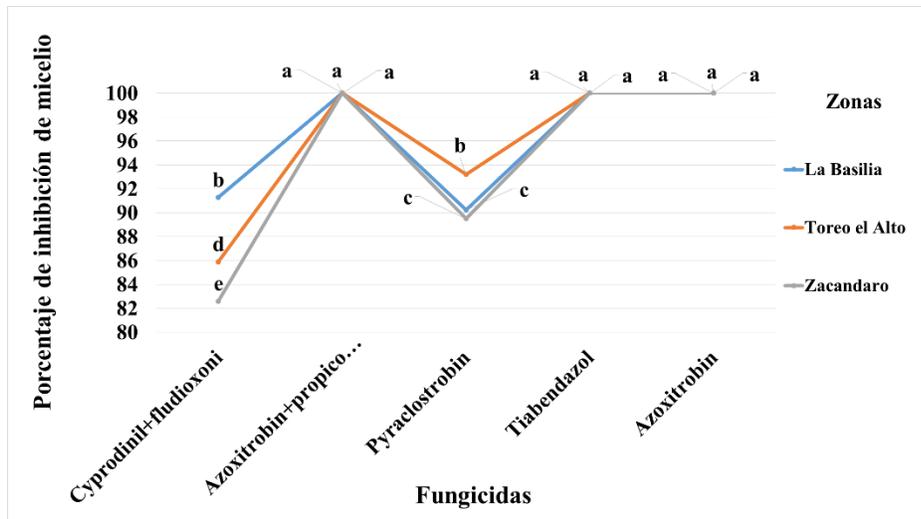


Figura 14. Porcentaje de inhibición de micelio de *E. perseae* en las zonas pertenecientes al Área agroecológica 3 (La Basilia, Tereo el Alto, Zacandaro).

En la Figura 15 se puede observar el grado de intensidad de la inhibición del micelio de los diferentes aislamientos de *E. perseae* causada por las tres dosis de cada uno de los cinco fungicidas ensayados.

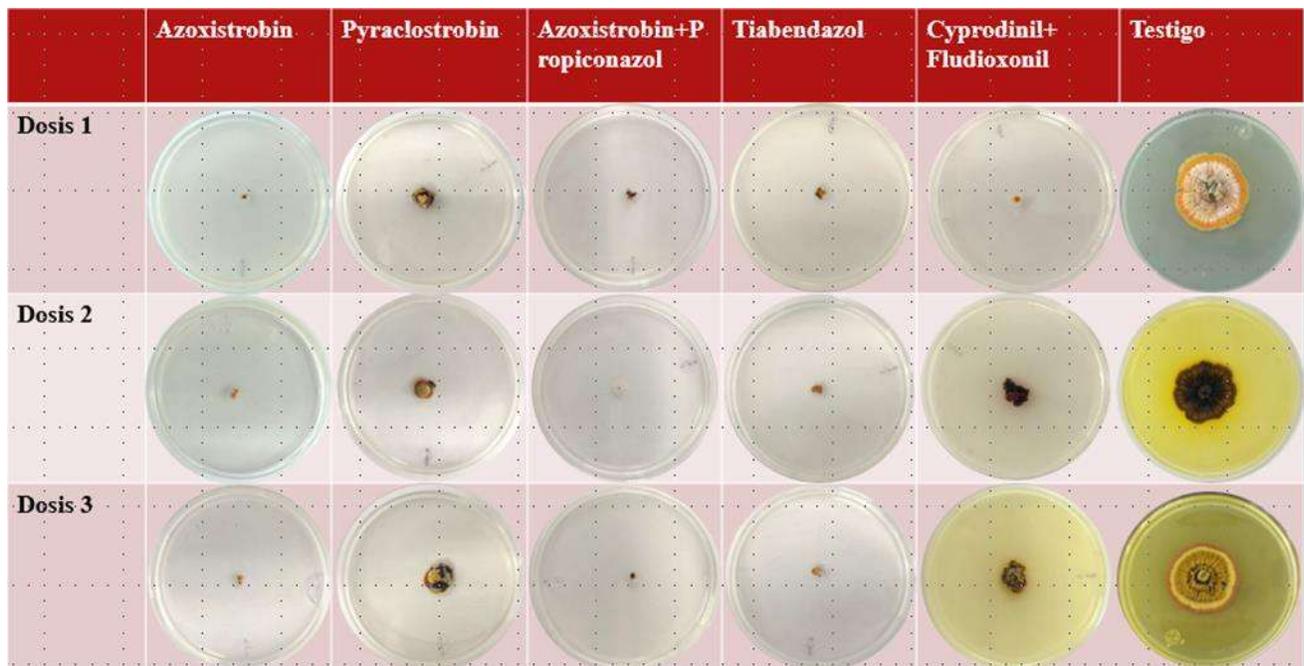


Figura 15. Aspecto visual de la inhibición del micelio de *E. perseae* causada por los cinco fungicidas ensayados después de tres meses.

4.2 Determinación de la concentración efectiva media (CE₅₀)

Solo se logró obtener la CE₅₀ de los ingredientes activos pyraclostrobin y cyprodinil + fludioxonil ya que al no presentarse un porcentaje de inhibición en los otros ingredientes activos utilizados no se logró obtener una CE₅₀. De acuerdo con los valores de CE₅₀, y según la escala de sensibilidad propuesta por Edginton *et al.* (1970), los fungicidas pyraclostrobin y cyprodinil + fludioxonil presentaron alta fungitoxicidad en las áreas de Taretan, Patuán, Ziracuaretiro, Jicalán, Toreo el Alto, Ario de Rosales y Lagunillas con un rango de valores de CE₅₀ de 0.0005 a 0.99 ppm, para el pyraclostrobin y de 0.00002 a 0.006 ppm, para el cyprodinil+ fludioxonil (Cuadro 11). Pyraclostrobin presentó una moderada fungitoxicidad en las áreas de Mesa de Cázares, Zacándaro, La Basilia, Tingambato, Tancítaro, Zirahuén y Salvador Escalante con valores de la CE₅₀ que van desde 1 a 3 ppm. Para el caso de cyprodinil + fludioxonil los valores de la CE₅₀ estuvieron comprendidos desde 2 a 10 ppm en las zonas de Taretan, Pareo, Jicalán, La Basilia, Tingambato, Zirahuén. También se obtuvo una baja fungitoxicidad para pyraclostrobin en el aislamiento *E. perseae* procedente de Pareo con una CE₅₀ de 11.72 ppm. Para cyprodinil + fludioxonil, los valores de la CE₅₀ fueron desde 16 hasta 26 ppm, presentando una baja fungitoxicidad en las áreas de Patuán, Zacándaro y Toreo el Alto.

Cuadro 11. Concentración efectiva media (CE₅₀) de pyraclostrobin y cyprodinil + fludioxonil en aislamientos de *E. perseae* provenientes de las distintas áreas de la franja aguacatera de Michoacán y su relación con la escala de sensibilidad propuesta por Edginton *et al.* (1970).

Zona	Ingrediente activo	CE ₅₀
Taretan	Pyraclostrobin	0.0034
	Cyprodinil + Fludioxonil	10.78
Patuán	Pyraclostrobin	0.03
	Cyprodinil Fludioxonil	22.80
Ziracuaretiro	Pyraclostrobin	0.039
	Cyprodinil + Fludioxonil	0.00002
Pareo	Pyraclostrobin	11.72
	Cyprodinil + Fludioxonil	3.14
Mesa de Cázares	Pyraclostrobin	3.29
	Cyprodinil + Fludioxonil	0.00002
Jicalán	Pyraclostrobin	0.99
	Cyprodinil + Fludioxonil	8.08
Zacándaro	Pyraclostrobin	3.15
	Cyprodinil + Fludioxonil	16.79

Toreo el Alto	Pyraclostrobin	0.0005
	Cyprodinil + Fludioxonil	26.41
La Basilia	Pyraclostrobin	1.23
	Cyprodinil + Fludioxonil	2.65
Ario de Rosales	Pyraclostrobin	0.092
	Cyprodinil + Fludioxonil	0.006
Tingambato	Pyraclostrobin	2.136
	Cyprodinil + Fludioxonil	3.222
Tancítaro	Pyraclostrobin	2.156
	Cyprodinil + Fludioxonil	0.0011
Zirahuén	Pyraclostrobin	3.421
	Cyprodinil + Fludioxonil	4.177
Lagunillas	Pyraclostrobin	0.050
	Cyprodinil + Fludioxonil	0.0011
Salvador Escalante	Pyraclostrobin	4.417
	Cyprodinil + Fludioxonil	0.0024

Los colores indican la clasificación de riesgo; color verde = alta fungitoxicidad, azul = moderada fungitoxicidad y amarillo = baja fungitoxicidad.

Es importante mencionar que en los diferentes aislamientos de *E. perseae* se presentó un crecimiento diferente entre los aislamientos, presentando en el caso de pyraclostrobin, un crecimiento elevado con apariencia boronuda (Figura 16 A). Esto, probablemente, debido a que este fungicida tiene un modo de acción que inhibe la respiración mitocondrial. En el cyprodinil + fludioxonil (Figura 16 B), que presenta un modo de acción en la germinación de esporas y el crecimiento inter e intracelular del micelio, presentó un crecimiento elevado pero con apariencia grumosa, ambos crecimientos totalmente diferentes a los testigos (Figura 16 C) utilizados en los bioensayos.

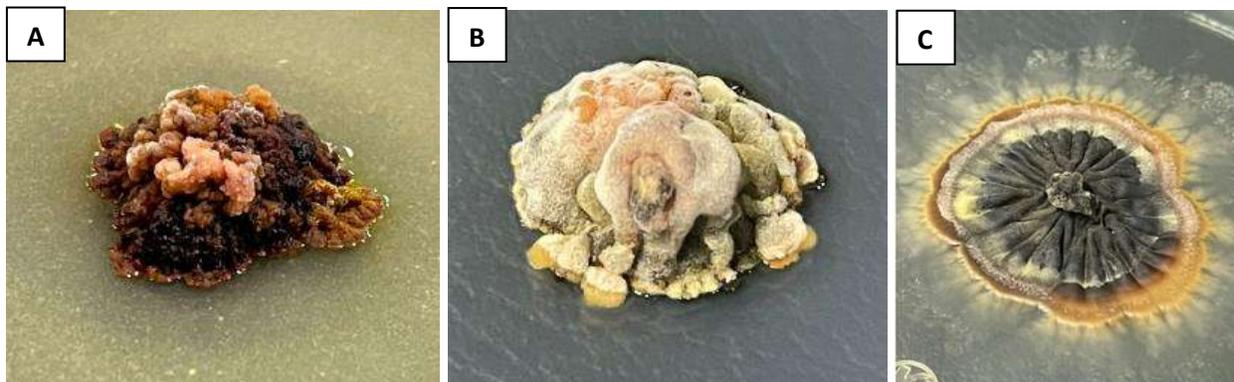


Figura 16. Apariencia en el crecimiento de los aislamientos de *E. perseae* en medio de cultivo PDA que contenía; (A) pyraclostrobin; se observa un crecimiento con aspecto boronado; (B) cyprodinil + fludioxonil, se observa un crecimiento con apariencia grumosa y (C) crecimiento en medio de cultivo PDA sin tratar (testigo).

V. Discusión

Existen diversos estudios donde se ha determinado el PIM como una herramienta para conocer si alguna especie de hongo fitopatógeno ha desarrollado resistencia a los fungicidas utilizados para su control, un ejemplo es la investigación realizada por Esquivel *et al* 2023, evaluando la sensibilidad *in vitro* en aislamientos de *E. perseae* utilizando el tiabendazol, azoxistrobin + propiconazol obteniendo los siguientes resultados en el porcentaje de inhibición de micelio tiabendazol y azoxystrobin + propiconazol 100% de inhibición en la dosis recomendada por el fabricante, dato que es igual al obtenido en esta investigación realizada en *E. perseae* además de la obtención de información en el PIM para una dosis media de 0.03 y baja de 0.15 mL L⁻¹ en estos mismos ingredientes activos en los cuales se obtuvo un PIM del 100 %. Al respecto, en pruebas *in vitro* con *Alternaria diathi* Stevens y Hall, agente causal de la necrosis en esquejes de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.), Alfonso (2008) reportó que los fungicidas carbendazim (grupo químico de los bencimidazoles), procloraz (grupo químico clorado), mancozeb (perteneciente a los ditiocarbomatos), presentaron diferencias entre los valores del PIM. En este caso, el mancozeb causó el mayor PIM (entre 90% y 100%), seguido por procloraz (entre 70% y 80%) y carbendazim (entre 20% al 30%). De igual forma, en pruebas *in vitro* para el control de *Colletotrichum gloeosporoides* Penz, agente causal de la antracnosis en papaya (*Carica papaya* L.), variedad maradol, los fungicidas procloraz y pyraclostrobin inhibieron entre 90 y 100% del micelio en la dosis de 500 ppm, mientras que con 50 y 250 ppm el PIM fue de entre 80 y 95% (López, 2010). En sus estudios, Pérez *et al.* (2005) reportaron que el hongo *Podosphaera fusca*

Fr. U. Braun & Shishkoff, el agente causal de oídio de las cucurbitáceas, presentó resistencia al fungicida azoxistrobin debido a que este compuesto solamente causó entre 10% y 17% de PIM. Los resultados de estos autores son muy distintos a los obtenidos en el presente estudio debido a que las tres dosis utilizadas de este fungicida causaron 100% de PIM en los diferentes aislamientos de *E. perseae*.

En su estudio, Quevedo (2012) reportó que los fungicidas azoxystrobin y trifloxystrobin, ambos del grupo de las estrobilurinas, causaron un PIM entre 79% y 100% sobre diversos aislamientos del hongo de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* H.C. Evans, Stalpers, Samson & Benny) del cacao (*Theobroma cacao* L.) cuando se trataron con 500 y 1000 g L⁻¹. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el presente estudio, donde el fungicida azoxystrobin, perteneciente al grupo de los estrobilurinas, fue uno de los ingredientes activos que causó un PIM de 100% en las pruebas *in vitro* con los diferentes aislamientos de *E. perseae*. En el hongo *M. roreri*, los fungicidas tebuconazol y propiconazol, inhibieron al 100% el desarrollo micelial y la germinación conidial *in vitro* en las dosis de 250, 500 y 1000 g L⁻¹. Mientras que, en el tiabendazol, perteneciente al grupo químico de los triazoles, fue totalmente diferente ya que se obtuvo un porcentaje de inhibición del 30 y 47% en las dosis de 250 y 500 g L⁻¹ y de 67 % en la dosis de 1000 g L⁻¹ (Quevedo, 2012). Al igual que lo obtenido en el presente trabajo con las tres dosis utilizadas de azoxistrobyn, azoxistrobyn + propyconazol, las cuales presentaron el 100% de PIM en todos los aislamientos de *E. perseae*. Pero totalmente diferente en el tiabendazol, ya que en los aislamientos de *E. perseae* se presentó un 100% de inhibición en todas las dosis; mientras que, en lo reportado por Quevedo (2012) fue el fungicida que presentó un menor porcentaje de inhibición en *M. roreri*.

Tiabendazol presentó un PIM de 100% en todas las dosis ensayadas en todos los aislamientos de *E. perseae*. De igual forma, este mismo fungicida, causó un PIM $\geq 97\%$ en los aislamientos de *Verticillium dahliae* Kleb y *Rhizoctonia solani* Frank, ambos agentes causales de la podredumbre en jitomate (*Lycopersicon esculentum* P), cuando se trataron con concentraciones de 5% y 10% (López, 2005). En contraste, en pruebas realizadas con *Fusarium oxysporum* Schelecht, agente causal del marchitamiento en orégano (*Origanum Vulgare* Scheele), el tebuconazole, a 0.80 ppm, compuesto que pertenece al grupo químico de los triazoles, y carbendazim, tiabendazol y tiofanato metil, a 1.60, 4 y 1.60 ppm, respectivamente, los tres pertenecientes al grupo químico de los bencimidazoles, causaron más de 98% del PIM. Además, en la dosis más alta, carbendazim (1.60 ppm), tiabendazol (4.00 ppm)

y tiofanato metil (1.60 ppm); en la dosis media, tebuconazole (0.40 ppm) y los bencimidazoles carbendazim (0.80 ppm), tiabendazol (2.00 ppm) y tiofanato metil (0.80 ppm) fueron los de mayor eficacia, mientras que en las dosis más bajas, fueron tebuconazole (1.00 ppm) y carbendazim (0.40 ppm) los que causaron más de 92% de PIM (Yossen, 2014). Este autor concluyó que a medida que disminuye la dosis aplicada, el PIM también disminuye, lo que también se pudo comprobar en el presente estudio en los aislamientos de *E. perseae* que fueron sometidos a las distintas dosis de pyraclostrobin y cyprodinil + fludioxonil.

En diferentes aislamientos de *Penicillium expansum* Link, agente causal del moho azul en fruta poscosecha de manzana (*Malus domestica* Borkh), se obtuvieron valores de la CE₅₀ desde 0.011 a 0.068 ppm para el fludioxonil y desde 0.019 a 2.054 ppm para el pirimetanil (Li y Xiao, 2008). En nuestro estudio, cyprodinil + fludioxonil presentó valores de la CE₅₀ menores a 1 ppm en seis aislamientos de *E. perseae* provenientes de las áreas de Ziracuaretiro, Mesa de Cázares, Ario de Rosales, Tancítaro, Lagunillas y Salvador Escalante; mientras que, en aquellos provenientes de Toreo el Alto, el valor de este parámetro fue mayor a 25 ppm. En este caso sin presentar riesgos de que los aislamientos de este hongo pudieran desarrollar resistencia. De igual forma, en la evaluación de resistencia en aislamientos de *Curvularia eragrostidis* P. Henn, los valores de la CE₅₀ para cobre + gluconato de cobre, mancozeb y tiabendazol fueron 0.025, 0.067 y 0.07 ppm, respectivamente (García, 2021). El producto químico que mostró la CE₅₀ más baja fue cobre + gluconato de cobre con 0.02494 ppm. Por otro lado, mancozeb y tiabendazol registraron menor efecto contra los aislamientos de este hongo ya que se obtuvo una CE₅₀ de 0.07 ppm. Los valores de la CE₅₀ de los ingredientes activos pyraclostrobin y cyprodinil + fludioxonil obtenidos en los aislamientos de *E. perseae* fueron muy similares entre sí con un rango que va de 0.00002 a 1 ppm y solo en los aislamientos de este hongo provenientes de las zonas de Patuán, Pareo, Zacándaro, Toreo el Alto fueron muy altas con rango de 10 a 26 ppm. Además, en los aislamientos de *C. eragrostidis*, García (2021) se obtuvo una CE₅₀ ya que se logró obtener un porcentaje de inhibición contrario a los aislamientos de *E. perseae* que incluso en la dosis más baja, tiabendazol presentaron un PIM de 100% y, como consecuencia, sin la posibilidad de obtener una CE₅₀.

Los ensayos realizados por Rodríguez (2020), sobre diferentes aislamientos de *Macrophomina phaseolina* Tassi en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), demostraron que este hongo fue muy sensible a los fungicidas utilizados para su control. En este caso, los valores de la CE₅₀ para metil-tiofanato estuvieron

comprendidos desde 0.044 hasta 0.493 $\mu\text{g mL L}^{-1}$. Es importante mencionar que el 86% de los aislamientos, de un total de 50, mostraron valores de CE_{50} de 0.101 hasta 0.400 $\mu\text{g mL L}^{-1}$. En el estudio de Rodríguez (2020) los promedios de CE_{50} de metil-tiofanato de los diferentes aislamientos de *M. phaseolina*, obtenidos de tejidos sintomáticos de frijol, variaron entre los lotes comerciales distribuidos en los municipios de Ahome y Guasave. De igual manera, en el tebuconazol los valores de las CE_{50} estuvieron por debajo de 1 $\mu\text{g mL L}^{-1}$, aunque en algunos aislamientos los valores de la CE_{50} fueron de 2 $\mu\text{g mL L}^{-1}$.

De acuerdo con la escala sensibilidad propuesta por Edginton *et al.* (1970), en el presente estudio no se encontró resistencia de los aislamientos de *E. perseae* a los ingredientes activos pyraclostrobyn y cyprodinil + fludioxonil, ya que los valores de la CE_{50} fueron menores a 50 ppm. En contraste, varios aislamientos de *Botrytis cinerea* Pers. colectados en la zona florícola de Villa Guerrero, en el estado de México, presentaron valores de la CE_{50} que van desde 0.025 hasta 128 ppm (Ponce, 2002). De igual forma, aislamientos de *Mycosphaerella fijensis* en plátano (*Musa paradisiaca* L.) presentaron moderada y baja fungitoxicidad hacia propiconazol debido a que los valores de la CE_{50} estuvieron comprendidos entre 10 y 13 ppm (Martínez *et al.*, 2012). Estos resultados son muy distintos a los obtenidos en *E. perseae*, ya que la mezcla de cyprodinil + propiconazol inhibió el 100% del crecimiento de los aislamientos en las tres dosis evaluadas.

VI. Conclusiones

Azoxystrobin + propiconazol, tiabendazol y azoxystrobin inhibieron 100% el crecimiento del micelio de todos los aislamientos de *E. perseae* en las tres dosis utilizadas, indicando que estos aislamientos son muy sensibles a estos ingredientes activos; mientras que, con los fungicidas cyprodinil + fludioxonil y pyraclostrobin también son sensibles, pero en menor porcentaje (85 y 82 %, respectivamente).

De acuerdo a la escala de sensibilidad propuesta por Edginton *et al.* (1970), *E. perseae* no ha adquirido resistencia a, cyprodinil + fludioxonil y pyraclostrobin debido a que los valores de la CE₅₀ fueron menores de 50 ppm. En el azoxystrobin + propiconazol, tiabendazol y azoxystrobin no se pudo obtener la concentración efectiva media ya que todos los aislamientos fueron altamente sensibles a la dosis alta, media y baja.

Es necesario diseñar una estrategia de manejo integrado para el control de *E. perseae* con diferentes fungicidas; aunque, no se encontró resistencia por parte de este hongo, se obtuvieron diferencias entre los valores de la CE₅₀ entre los aislamientos, demostrando que algunos han adquirido una insensibilidad más elevada a estos ingredientes activos. Dentro de estas estrategias se puede incluir la rotación del uso de los fungicidas con modo de acción multisitio.

VII. Literatura citada

- ADAMA, 2021. Ficha técnica de productos fitosanitarios. Ficha técnica de ingredientes activos
- ADAMA, 2021. <https://www.adama.com/mexico/es>
- Aguirre, C. F., Vera, B. A., Czepulis, C. J.A. 2003. Situación del Cultivo de Palto en el Noroeste Argentino. pp 2.
- 123RF IA. 2024. Disponible en: (<https://es.123rf.com/>).
- Anguiano, C. J., Alcántar, R. J, Toledo BR, Tapia VL, Ruíz CJ, Rodríguez CY. 2006. Caracterización edafoclimática del área productora de aguacate de Michoacán. INIFAP, Libro Técnico no. 4. pp 98-195.
- Alfonso, P. D. P., Sandoval, S. E. R., 2008. Evaluación in vitro de fungicidas para el control de hongos patógenos en esquejes de clavel durante la etapa de enraizamiento. Facultad de ciencias de Bogota, D. C. PP 69-80.
- Barnett, H. L y Hunter., B. B. 2006. Géneros ilustrados de hongos imperfectos. Cuarta edición, Sociedad Estadounidense de Fitopatología, St. Paul Mennesota.
- Bary de H. A. 1874. *Protomyces microsporus* und seine Verwandten: *Botanische Zeitung*: 81–92
- ADAMA México. BUMPER 25 EC. pp 1.
- Bary de H. A. 1874. *Protomyces microsporus* und seine Verwandten: *Botanische Zeitung*: 81-92.
- Beckerman, L. J. 2013. Detección de resistencia a fungicidas: vitrinas de manejo integrado de enfermedades de plantas de todo el mundo. Intechopen, DOI: 10.5772 / 55981. Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/44733>.
- Beltrán, G. M. J., Ogura, F. T., Manzano, S. G., Arias, C. C. 2006. Catalasas de hongos fitopatógenos: ¿Factores de virulencia y resistencia a los fungicidas?. *Revista Mexicana de fitopatología*, vol. 24, núm., 1, pp 50-58.

- Brent, K. J., Hollomon, D. W. 2007. Resistencia a fungicidas en patógenos de cultivos. ¿Cómo se puede gestionar? Publicado por el comité de acción de resistencia a fungicidas 2007. Monografía FRac No 1. ISBN: 90-72398-07-6. Pp. 6-42.
- Carmona, M., Sautua, F. 2017. La problemática de la resistencia de hongos a fungicidas. Causas y efectos en cultivos extensivos. Vol. 37. Núm. 1. Agronomía y ambiente, revista de la facultad de agronomía UBA.
- CEDRSSA. 2017. Reporte Caso de exportación: El aguacate. Palacio legislativo de San Lázaro Ciudad de México. Pp 16-17.
- Corredor, P. L-C., Caridad, C. M., Restrepo, S. 2007. Evaluacion de la susceptibilidad de hongos endófitos de rosa (*Rosa hibrida*) a fungicidas comerciales. Revista colombiana de biotecnología, vol 4, num 1. Universidad Nacional de Colombia Bogota, Colombia. Pp 59-70.
- Cruz – López, P. F., Caamal – Cavich, I., Pat – Fernandez, V. G., Reza, S. J. 2022. Competividad de las exportaciones del aguacate Hass de México en el mercado mundial. Revista Mexicana de Ciencias agrícolas. Disponible en: <https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/agricolas/article/view/2885>
- Cruz-López, D. F., Caamol-Cauicj, I., Pat- Fernández, V. G., Reza, S. J. 2022. Competividad de las exportaciones del aguacate Hass de México en el Mercado mundial. Revista Mexicana de ciencias agrícolas. Vol. 13 núm. 2.
- Damicone, J. 2004. Manejo de la resistencia a los fungicidas. Oklahoma: Servicio cooperativo de extensión de Oklahoma. Disponible en: <http://pods.dasnr.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Rendition-3508/F-7663web.pdf>
- Damicone, J. 2014. Manejo de la resistencia a fungicidas. Servicio de Extensión Cooperativa de Oklahoma. Universidad Estatal de Oklahoma. EPP-7663. pp 2-8.
- Davidse, C. L. 1981. Compuestos de benzimidazoles: Selectividad resistencia, resistencia a fungicidas e producción de cultivos.
- Davidse, C. L. 1988. Fungicidas benzimidazoles: mecanismo de acción y resistencia, pp 25-27. En: Resistencia a los fungicidas en América del Norte. Delp. J Ch. ed. Sociedad Americana de Fitopatología. San Pablo Minnesota, Estados Unidos.

- Delp, C. 1995. Benzimidazoles y fungicidas relacionados, fungicidas selectivos modernos, propiedades, aplicaciones, mecanismos de acción. Verlag. Jena, Alemania, Pp. 291-303.
- Dewdney, M. M., Timer, L. W. 2012. Guía de manejo de plagas de cítricos de florida: Citrus ScabSP-43, Universidad de Florida. IFAS, EDIS, Gainesville, EE.UU.
- DRIPc. 2022. Principales productos agroalimentarios que exporta México. Disponible en: <https://www.dripcapital.com/es-mx/recursos/blog/productos-agroalimentarios-que-exporta-méxico>
- Edginton, L. V., Khew , K. l., Barron, G. L. 1970. Aspecto fungitoxico de compuestos de bencimidazoles. Departamento de botánica. Vol 61. Universidad de Guelph Ontario Canada. Pp 41-44.
- Esquivel-Miguel E, Morales-García JL, Pedraza-Santos ME, Chávez-Bárceñas AT, García-Morales S y PinedaGuillermo S. 2023. Patogenicidad, virulencia y sensibilidad *in vitro* de aislados de *Elsinoe perseae* (= *Sphaceloma perseae*) a diferentes fungicidas. Revista Mexicana de Fitopatología 41(3): 460-478.
- Everett, K. R., Rees-George. J., Pushparajah, I. P. S., Manning, M. A. y Fullerton, R. A. 2011. Identificación molecular de *Sphaceloma perseae* (Costra del aguacate) y su ausencia en Nueva Zelanda.
- Fan, X. L., Barreto, R. W., Groenewald J. Z., Bezerra J. D. P., Pereira O. L., Cheewangkoon, R., Mostert, L., Tian, C. M., Cruz, P. W. 2017. Filogenia y taxonomía del hongo de la antracnosis de la costra y la mancha *Elsinoë* (*Myriangiales*, *Dothideomycetes*). Estudios en Micología, volumen 87, ISSN 0166-0616, Pp1-41.
- FRAC Argentina. 2019. Modos de acción.
- FRAC España. 2009. Clasificación de fungicidas y bactericidas según el modo de acción. pp 5.
- FRAC, 2019. Lista de riesgo de patógenos. www.frac.info/frac/index.htm. (Consultado: 6 de junio de 2023).
- FRAC. (2022). Lista de códigos. Agentes de control de hongos clasificados por patrón de resistencia cruzada y modo de acción (incluida la codificación de los grupos FRAC en las etiquetas de los productos) marzo de 2022. Disponible en: https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2022-final.pdf?sfvrsn=b6024e9a_2
- Garrán, S., Montangie, G. y Mika, R. 2007. Resistencia de los hongos a los fungicidas un tema central en la estrategia del control químico e integrado. Inta (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) Concordia, Entre Ríos. pp 33.

- García-Ordaz, Hugo Alberto, Chan-Cupul, Wilberth, Buenrostro-Nava, Marco Tulio, & Valadez-Ramírez, Pedro. (2021). Efectividad in vitro de fungicidas químicos contra *Curvularia eragrostidis* (Henn) J. A. Mey, agente causal de la mancha foliar en piña. *Scientia Agropecuaria*, 12(3), 429-434.
- Disponibñe en: <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.047>
- Gepp, V., Mondino, P. 2015. Fungicidas penetrantes y sistémicos. Departamento de Protección Vegetal Unidad de Fitopatología.
- Gregorio, V. B. S. 2005. Estructura y actividad de Los antifúngico. Instituto cubano de investigación de Derivados de la caña de azúcar. p 39.
- Hernández, G. H., Ramos, M. A., Valle De la Paz, R. A. y Ríos, G. M. (1999) Selección de trampas de color y fluctuación poblacional de trips del aguacate en Michoacán, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 5: pp 287-290.
- Hobbelen, P. H., Paveley, N. D., Oliver, R. P., van den Bosch, F. 2013. La utilidad de las mezclas y alternancia de fungicidas para retrasas la selección de resistencia en poblaciones de *Mycosphaerella graminícola* en trigo de invierno: un análisis de modelado. DOI: 10.1094.
- Horst, R. K. 2013. Spot antracnosis. En: *Manual de enfermedades de las plantas de westcott*. Springer, Dordrecht. pp. 385- 388.
- Hyde, K. D., Jones, E. B. G., Liu, J. K. *et al.* 2013. Familias de dothideomycetes. *Diversidad fúngica* 63, 1–313 (2013).
- Ica. 2012. Manejo fitosanitario del cultivo de aguacate has medidas para la temporada invernal. P 31.
- Jaramillo, S. 2003. *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 137 p.
- Jenkins, A. 1934. "Registros históricos de la sarna del aguacate en Florida y Cuba", Asociación del Aguacate de California.
- Leiva, M. S-G. 2022. Resistencia de hongos a fungicidas en el aguacate. Memoria del 15º congreso nacional del sistema producto aguacate. Uruapan, Michoacán, México.
- Li, H. X., Xiao, C. L. 2008. Sensibilidades de referencia al fludioxonil y pirimetanil en poblaciones de *Penicillium expansum* de manzanas en el estado de Washington, *Postharvest Biology and Technology*, Volumen 47, Número 2, ISSN 0925-5214.

- López, N. C. M. 2010. Tratamiento postcosecha en el control de la antracnosis y calidad de frutos de papaya “Maradol”. Colegio de posgraduados campus Montecillo. Pp 54-75.
- López, B. A., López, B. S.A., Vázquez, B. M. E., Rodríguez, H. S. A. 2005. Inhibición del Crecimiento Micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. Mediante Extractos Vegetales Acuosa. Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 23, núm. 2, Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Texcoco, México, PP183-190.
- 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.
- Marcelo, C., Franciaco, S. 2017. La problemática de la resistencia de hongos a fungicidas. Causas y efectos en el cultivo extensivo. Universidad de Buenos Aires, Facultad de agronomía. pp 1-4.
- Morales García JL, López-Cornejo CI, Pedraza-Santos ME, Chávez-Bárceñas AT, Esquivel-Miguel E, García-Morales S and Pineda-Guillermo S. 2023. Identificación morfomolecular del agente causal de la roña del aguacate en Michoacán. Revista Mexicana de Fitopatología 2023. 41(2): 182-202.
- Martínez, B. L., Teliz, O. D., Rodríguez, M. J-C., Mora, A. J-A., Nieto, A. D., Cortez, F. J-I., Mejía, S. D., Nava, D. C., Silva, A. D. 2012. Resistencia a fungicidas en poblaciones de *Mycosphaerella fijensis* del sureste mexicano. Agrociencia vol. 46 no.7 Texcoco.
- McGrath, M. T. 2004. ¿Qué son los fungicidas? El Instructor de Sanidad Vegetal. DOI: 10.1094/PHI-I-2004-0825-01.
- Montesino, E. 2005. La resistencia a fungicidas y bactericidas. Factores de riesgo asociados al mecanismo de acción y al potencial evolutivo del patógeno. Revista Phytoma. Número de Edición: 173.
- Morales, G. J. L. 2015. Enfermedades del aguacate. 3º Congreso del Aguacate Jalisco, 2015.
- Pandey, D. T. N., Tripathi, R. D. S. 1982. Propiedades fungitóxicas y fitotóxicas del aceite esencial de *Hyptis suaveolens*, *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten* y *Pflanzenschutz*, 1982; 89: 344-349. Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/43214961>
- Pérez, G. A., Fernández, O. D., López, R. F. J. 2005. Resistencia a inhibidores de la biosíntesis de ergosterol y a estrobilurinas en oídio de cucurbitáceas. Edición 173.

- Ponce, G. F., García, A. M. G., Lozoya, S. H., Herrera, S. T. 2002. Resistencia de *Botrytis cinerea* (Pers.) Fr., a dos fungicidas benzimidazoles utilizados en la floricultura. Revista Chapingo Serie Horticultura 8(1): pp 95-105.
- Quevedo, D. I. 2012. Evaluación de fungicidas sistémicos y de contacto en el control de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*). Colegio de postgraduados institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. PP 35-53
- Repetto, M., Sanz, P., Jurado, C., López, A. M., Menéndez M. y De la Peña, E. 1995. Glosario de términos toxicológicos. Asociación Española de Toxicología. Madrid España.
- Rodríguez, P. E. E., Beltrán, P. H., Tovar, P. J. M. 2020. Identificación, virulencia, compatibilidad vegetativa y sensibilidad a fungicidas de aislados de *Macrophomina phaseolina* en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en el norte de Sinaloa. Universidad autónoma de occidente vicerrectoría académica dirección de investigación y posgrado. PP 67-76
- Rodríguez, C. J., Escobedo, R. A., Lugo-M, O. Y. 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. (CIATEJ). Pp 165.
- SADER. 2020. La exportación de aguacate, más que simples cifras. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-exportacion-de-aguacate-mas-que-simples-cifras?idiom=es>
- SAGARPA. 2017. Aguacate mexicano. Planeación agrícola nacional 2017-2030, p 2.
- SIAP. 2022. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
- SIAP. 2023. Escenario mensual de productos agroalimentarios. Dirección de análisis estratégico, p 1.
- Sierotzki, H., Wullschleger, J., Gisi, U. 2000. Punto mutación en el gen del citocromo b que confiere resistencia a los fungicidas de estrobilurinas en *Erysiphe graminis f. sp.* Aislados de campo de *tritici*. Bioquímica de plaguicidas y Fisiología 68 (2): pp 107–112.
- Sinavimo. 2021. *E.perseae*. Disponible en <https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/elsinoe-perseae>.
- Sisler, H. D. N., Ragsdale, W. W. (1982). Waterfield: Aspectos bioquímicos de la acción reguladora del crecimiento y fungitóxicos del fenarimol y otros metanoles de pirimidin-5-ilo, Pesticide Sci., pp. 167-176.

- Sisler, H. D. (1996). Química y modo de acción de los inhibidores de la biosíntesis de esteroides. Características de la resistencia de los hongos al inhibidor de la esterol 14 desmetilasa, 4.^a Reunión del Grupo de Trabajo sobre Banano del FRAC, Miami.
- SENASICA, 2021. Aguacate michoacano, oro verde para los pequeños productores. Disponible en: <https://www.gob.mx/senasica/articulos/aguacate-michoacano-oro-verde-para-los-pequenos-productores>
- Stevens, H. 1918. Costra del aguacate. Experimento Agrícola de Florida Boletín de la estación 289:2.
- Suárez, C. M. 2019. Identificación molecular y caracterización morfológica de *Sphaceloma perseae* en la franja aguacatera de Michoacán. UMSNH, Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”. P 8.
- SYNGENTA. 2017. Ficha técnica de productos fitosanitarios QUILT.
- SYNGENTA. 2017. Ficha técnica de productos químicos. Bankit[®], Disponible en: <https://www.syngenta.com.mx/sites/g/files/zhg501/f/media/2019/09/07/bankit.pdf?token=1567884023>
- SYNGENTA. 2017. Ficha técnica de productos químicos. Switch[®]62.5WG, Disponible en: https://www.syngenta.com.mx/sites/g/files/zhg501/f/media/2019/09/09/switch_62.5_wg.pdf?token=1568059751
- Tamez, G. P., Galán-Wong, L. J., Medrano R. H., García, G. C., Rodríguez, P. C., Gómez, F. R. A., Tamez, G. R. S. 2001. Bioinsecticidas: su empleo, producción y comercialización en México. Universidad Autónoma de Nuevo León. Ciencia. 4(2): pp 143-152.
- Trinidad, A. E., Ascencio, V. F. J., Ramírez, R. J. C., Ragazzo, S. J. A., Calderón, S. M., Bautista, R. P. U. 2017. Identificación y caracterización de *Colletotrichum* spp. Causante de antracnosis en aguacate Nayarit, México. Revista mexicana de ciencias agrícolas, núm. 19. INIFAP. DOI: 10.29312/remexca.v0i19.664. pp 12-15
- Yossen, Viviana E. y Conles, Martha Y. (2014). Eficacia de fungicidas utilizados in vitro para el control de *Fusarium oxysporum* y *F. proliferatum*, agentes causales del marchitamiento del orégano en Argentina. Revista industrial y agrícola de Tucumán, 91 (1), 19-25

NOMBRE DEL TRABAJO

**Evaluación de resistencia a fungicidas e
n aislados de *Elsinoe perseae* = *Sphacel
oma perseae* Jenkins p**

AUTOR

Salvador Rodríguez Hernández

RECUENTO DE PALABRAS

15632 Words

RECUENTO DE CARACTERES

86657 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

56 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

2.2MB

FECHA DE ENTREGA

Aug 23, 2024 2:16 PM CST

FECHA DEL INFORME

Aug 23, 2024 2:17 PM CST

● **29% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 29% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 0% Base de datos de trabajos entregados
- 8% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref