



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

---

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

## **INFECCIÓN EXPERIMENTAL POR *Fusarium euwallaceae* EN CUATRO CULTIVARES DE AGUACATE EN MÉXICO**

OTILIO CRUZ MARTÍNEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2020

La presente tesis titulada: **Infección experimental por *Fusarium euwallaceae* en cuatro cultivares de aguacate en México**, realizada por el alumno: **Otilio Cruz Martínez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A)

Dr. Daniel Teliz Ortiz

ASESOR (A)

Dr. Dionicio Alvarado Rosales

ASESOR (A)

Dr. Clemente de Jesús García Ávila

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero de 2020

# INFECCIÓN EXPERIMENTAL POR *Fusarium euwallaceae* EN CUATRO CULTIVARES DE AGUACATE EN MÉXICO

Otilio Cruz Martínez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2020

## RESUMEN

El complejo ambrosial *Euwallacea* nr. *forficatus* - *Fusarium euwallaceae*, asociado con la marchitez regresiva del aguacate en California, EE.UU e Israel, se detectó en México en el año 2016, en la zona urbana de Tijuana, Baja California. La presente investigación tuvo por objeto evaluar las respuestas morfológicas y el nivel de daño en cuatro cultivares de aguacate: Hass, Méndez, Flor de María y el portainjerto Mexicano, de dos años de edad, inoculados experimentalmente con *F. euwallaceae*. Por razones de seguridad no se incluyó en la inoculación al vector *Euwallacea* nr. *forficatus*. La prueba se realizó en un invernadero de seguridad, bajo condiciones controladas, en el Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Tecámac, México. Se desarrolló necrosis en los tejidos inoculados, pero no se observó la marchitez descendente. Con base en la extensión de la necrosis, el cv Méndez tuvo el menor daño y la mayor tolerancia, mientras que los cv. Flor de María, Hass y el portainjerto Mexicano fueron significativamente más susceptible a *F. euwallaceae*. La altura y diámetro del tallo no se vieron afectadas por la inoculación de *F. Euwallacea*, sino por el cultivar de aguacate.

**Palabras clave:** Muerte descendente, Hass, Méndez, Flor de María, portainjerto Mexicano.

# EXPERIMENTAL INFECTION BY *Fusarium euwallaceae* IN FOUR CULTIVARS OF AVOCADO IN MEXICO

Otilio Cruz Martínez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2020

## ABSTRACT

The ambrosial complex *Euwallacea* nr. *forficatus* - *Fusarium euwallaceae*, associated with the regressive wilt of avocado in California, USA and Israel, was detected in Mexico in 2016, in the urban area of Tijuana, Baja California. The purpose of this research was to evaluate the morphological responses and the level of damage in four avocado cultivars: Hass, Méndez, Flor de María and the two-year-old Mexican rootstock, experimentally inoculated with *F. euwallaceae*. For safety reasons, the *Euwallacea* nr. *forficatus* vector was not included in the inoculation. The test was carried out in a safety greenhouse, under controlled conditions, at the National Phytosanitary Reference Center, Tecámac, Mexico. Necrosis developed in the inoculated tissues, but the descending wilt was not observed. Based on the extent of the necrosis, the Mendez cv had the least damage and the highest tolerance, while the cv. Flor de María, Hass and the Mexican rootstock were significantly more susceptible to *F. euwallaceae*. The height and diameter of the stem were not affected by the inoculation of *F. Euwallacea*, but by the cultivation of avocado.

**Keywords:** Death descending, Hass, Méndez, Flor de María, Mexican rootstock.

## **DEDICATORIA**

A Dios

A Mis Padres y Hermanos

A Mi amada esposa, Iris Iliana Rodríguez

A mis pequeños tesoros, Jafeth Mauricio y Daniel Eduardo

Amigos, compañeros de trabajo, de quienes recibí apoyo moral, físico y técnico

Especialmente al Dr. José Abel López Buenfil y Dr. Clemente de Jesús García Ávila.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al COLPOS y SENASICA por darme la oportunidad de participar en este proyecto.

A mi Consejo Particular por el apoyo que me brindaron durante todo este tiempo.

A todos los profesores del Colegio de Postgraduados que me brindaron clases y compartieron su amplia experiencia en temas fitosanitarios.

A mis compañeros y amigos de quienes recibí apoyo incondicional: Verónica Espínola, Oscar Téllez, Magnolia Moreno, Lervin Ramos, Gabriel, Antonio Solís, Arturo Farfán, Berenice Nicolás, Jorge León, Claudio Chavarín, Cynthia Coccet, Jehudi Hernández.

Al Dr. Clemente García por animarme y ayudarme a encontrar una solución a los problemas presentados durante el desarrollo de la investigación.

Al Mtro. Rigoberto González, Dr. Abel López, M.C. Miguel Ángel y M.C. Guillermo Santiago, por la confianza y apoyo para realizar y concluir esta investigación.

Al INECOL por el apoyo brindado al proyecto de investigación.

## CONTENIDO

RESUMEN .....	iii
ABSTRACT .....	iv
LISTA DE CUADROS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	x
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Objetivos .....	4
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos .....	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	1
2.1. Generalidades de <i>Fusarium euwallaceae</i> .....	1
2.2. Distribución Mundial y en México .....	1
2.3. Importancia económica y riesgo para México .....	2
2.4. Hospedantes .....	7
Hass .....	11
Méndez .....	12
Flor de María .....	13
Criollo mexicano .....	13
2.5. Aspectos morfológicos de <i>Fusarium euwallaceae</i> .....	14
2.6. Síntomas y signos .....	16
2.7. Formas de diseminación .....	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	19
3.1. Localización.....	19
3.2. Adquisición y acondicionamiento de las unidades experimentales .....	19
3.3. Reglamento de uso del invernadero del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria .....	19
3.4. Aislamiento de <i>Fusarium euwallaceae</i> .....	21
3.5. Concentración del inóculo .....	21
3.6. Diseño experimental.....	22
3.7. Inoculación de <i>Fusarium euwallaceae</i> .....	23
3.8. Medición de variables.....	24

3.9.	Ensayo de patogenicidad de <i>Fusarium euwallaceae</i> .....	24
	Identificación morfológica. ....	25
	Identificación molecular. ....	25
3.10.	Análisis estadístico.....	27
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
4.1.	Ensayo de patogenicidad de <i>Fusarium euwallaceae</i> .....	29
4.2.	Resultados del análisis Molecular .....	31
4.3.	Efecto de <i>Fusarium euwallaceae</i> en las características morfológicas de cuatro cultivares de aguacate. ....	35
4.4.	Longitud de necrosis en los puntos inoculados con <i>Fusarium euwallaceae</i> en cuatro cultivares de aguacate .....	42
5.	CONCLUSIONES.....	49
6.	LITERATURA CITADA.....	50
7.	ANEXOS: .....	61

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Distribución Mundial de <i>Fusarium euwallaceae</i> .....	2
Cuadro 2. Estadísticas de producción de aguacate en México, por entidad federativa durante el ciclo agrícola 2017.....	5
Cuadro 3. Principales países importadores de aguacate mexicano durante el año 2018. ....	6
Cuadro 4. Hospedantes para la reproducción de <i>Euwallacea</i> sp. y <i>Fusarium euwallaceae</i> . ....	8
Cuadro 5. Tratamientos evaluados para determinar la susceptibilidad de los cultivares: Flor de María, Méndez, Hass y mexicano por la infección de <i>F. euwallaceae</i> . ....	22
Cuadro 6. Análisis de varianza de las características morfológica de cuatro cultivares de aguacate al ser inoculadas con <i>Fusarium euwallaceae</i> .....	36
Cuadro 7. Separación de medias de Tukey $\alpha = 0.05$ , de las características morfológica de cuatro cultivares de aguacate al ser inoculadas con <i>Fusarium euwallaceae</i> . ....	37
Cuadro 8. Análisis de varianza de la longitud de necrosis en cuatro cultivares de aguacate al ser inoculadas con <i>Fusarium euwallaceae</i> . ....	43
Cuadro 9. Separación de medias de Tukey $\alpha = 0.05$ de la longitud de necrosis en cuatro cultivares de aguacate al ser inoculadas con <i>Fusarium euwallaceae</i> . ....	45

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estados productores de aguacate Hass en México, ciclo agrícola 2017. ....	4
Figura 2. Exportaciones mundiales de aguacate 2018. Fuentes: Cálculos del CCI basados en estadísticas de UN COMTRADE. ....	6
Figura 3. Áreas de riesgo por presencia de hospedantes agrícolas para el desarrollo del hongo <i>Fusarium euwallaceae</i> . Fuente: Senasica (2019), con datos del SIAP, 2017. ....	10
Figura 4. Síntomas de <i>Fusarium euwallaceae</i> en aguacate. a) Daños externos, orificios de entrada del insecto barrenador, volcanes de azúcar (García-Avila, 2014); b) volcanes de azúcar en platas de aguacate Hass de dos años de edad (Cruz-Martínez, 2019); c) Declinamiento de ramas (García-Avila, 2014) y d) síntomas internos, tinción de la madera con orificio de entrada del escarabajo (Eskalen <i>et al.</i> , 2014a). ....	17
Figura 5. Plantas de aguacate utilizadas en el experimento, fotografía tomada al ingreso al invernadero, se encuentran ordenadas por cultivar de izquierda a derecha Flor de María, Méndez, Hass y mexicano. ....	23
Figura 6. Cortes longitudinales realizados para determinar la longitud de la necrosis en los puntos de infección con <i>F. euwallaceae</i> en cuatro cultivares de aguacate. a) flor de María; b) Méndez; c) Hass y d) mexicano. ....	30
Figura 7. <i>Fusarium euwallaceae</i> en PDA. a) crecimiento de micelio color blanco en forma radial, b) hifas con septos, c) Macroconidios multiseptados, con la parte media superior más ancha que en su base, célula apical redondeada y papilada. ....	31
Figura 8. Gel de electroforesis al 2%. Amplificación de la región ITS de la cepa FEW-BLANCO. ....	32
Figura 9. Análisis filogenético utilizando Mega X de las secuencias ITS del género <i>Fusarium</i> . ....	34
Figura 10. Comparación de la altura de cuatro cultivares de aguacate inoculados con <i>Fusarium euwallaceae</i> y los testigos con agua destilada estéril. ....	38

Figura 11. Comparación del diámetro basal de cuatro cultivares de aguacate inoculados con <i>Fusarium euwallaceae</i> y los testigos con agua destilada estéril.....	39
Figura 12. Comparación del diámetro medio de cuatro cultivares de aguacate inoculados con <i>Fusarium euwallaceae</i> y los testigos con agua destilada estéril.....	40
Figura 13. Comparación del diámetro apical de cuatro cultivares de aguacate inoculados con <i>Fusarium euwallaceae</i> y los testigos con agua destilada estéril.....	41
Figura 14. Comparación del número de ramas de cuatro cultivares de aguacate inoculados con <i>Fusarium euwallaceae</i> y los testigos con agua destilada estéril.....	42
Figura 15. Comparación de la longitud de necrosis en la zona basal del tallo de cuatro cultivares de aguacate inoculados con <i>F. euwallaceae</i> y testigos con agua destilada estéril.....	46
Figura 16. Comparación de la longitud de necrosis en la zona media del tallo de cuatro cultivares de aguacate inoculados con <i>F. euwallaceae</i> y testigos con agua destilada estéril.....	47
Figura 17. Comparación de la longitud de necrosis en la zona apical del tallo de cuatro cultivares de aguacate inoculados con <i>F. euwallaceae</i> y testigos con agua destilada estéril.....	48

## 1. INTRODUCCIÓN

El aguacate es un frutal que pertenece a la familia de las Lauráceas y a las especies *Persea gratissima* y *Persea americana* Mill. Se considera como su centro de origen a las partes altas del Centro y Este-Central de México, incluyendo los estados de Nuevo León, Michoacán, Veracruz y Puebla; así como, las partes altas de Guatemala y las Antillas. Se clasifica en tres grupos ecológicos o razas: mexicana, guatemalteca y antillana, a partir de las cuales se han realizado cruza inducidas e investigaciones de mejoramiento genético, principalmente en California, EE. UU., entre otros, donde se han obtenido diversas variedades. La variedad o cultivar Hass, particularmente importante por su alta comercialización, se considera que es producto de la crusa entre la raza guatemalteca y la mexicana (SAGARPA, 2012). El cultivar Méndez está surgiendo como la segunda más cultivada en México ya que tiene la particularidad de florecer y cosecharse 2 meses antes que el cultivar Hass (Espíndola, 2019; Salazar-García *et al.*, 2017). Por su parte, el Cultivar Flor de María está tomando auge en México, como otra opción adicional a 'Hass' y Méndez, es de mucho interés por los productores que están incursionando en el cultivo de aguacate, debido a la productividad y uniformidad de la fruta (Espíndola, 2019). Mientras que el aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) se emplea como portainjerto en huertos de aguacate Hass debido a que su genoma codifica para genes de resistencia a plagas y patógenos que benefician a éste y otros cultivares (Rincón-Hernández *et al.*, 2011).

México se posiciona como el principal productor y exportador de aguacate en el mundo, cuenta con una superficie sembrada de 218,492.93 ha y su producción corresponde al 33% en relación a la producción mundial de este fruto (FAOSTAT, 2019;

TRADEMAP, 2019; SIAP, 2019). Durante el año 2018, se exportó a nivel mundial 2.47 millones de toneladas de aguacate con un valor de exportación de 5,727.3 millones de dólares, de las cuales el 41% las realizó México, con un valor de exportación de 2,391.9 millones de dólares (TRADEMAP, 2019). Sin embargo, su producción se ve amenazada por el hongo del complejo ambrosial *Euwallacea nr. fornicatus* - *Fusarium euwallaceae*, el cual, ha sido detectado en el Municipio de Tijuana, Baja California, México (García-Avila *et al.*, 2016). El hongo simbiote, *F. euwallaceae* afecta los haces vasculares de las plantas hospedantes, lo cual impide el transporte de agua y nutrientes ocasionando el marchitamiento de ramas y eventualmente la muerte de la planta (Eskalen y Stouthamer, 2011). Los árboles afectados por este hongo presentan exudados rodeados de una decoloración café oscuro y cuando la infección es muy severa las ramas comienzan a secarse de forma descendente (Freeman *et al.*, 2013; Eskalen y Stouthamer, 2011).

El insecto barrenador (*Euwallacea* sp.), es un escarabajo originario del sudeste de Asia, el cual forma interacciones simbióticas con algunas especies de hongos fitopatógenos (Eskalen y Stouthamer, 2011), hasta el momento se ha encontrado que es vector de tres hongos: *Fusarium euwallaceae*, *Graphium* sp., y *Paracremonium* sp.; esta asociación provoca la enfermedad conocida como “marchitez regresiva por *Fusarium*” en aguacate y otras plantas hospedantes detectadas en California, EE.UU e Israel (Lynch *et al.*, 2014). Las hembras de este escarabajo invaden una amplia variedad de especies hospedantes, donde hacen galerías, en las que se reproducen y para lo cual cultivan los hongos de los que se alimentan tanto las larvas como los adultos (Eskalen y Stouthamer, 2011). En Israel, los ataques del escarabajo en aguacate han sido en los principales

cultivares: 'Hass', 'Pinkerton' y 'Ettinger'; observándose que 'Hass' es el hospedante más susceptible; además, los patógenos simbióticos han sido aislados en cultivares de aguacate en varias áreas de producción. Las plantaciones de este cultivo en Israel cubren aproximadamente 7,000 ha y cerca de dos tercios de la producción total se exporta. Durante un estudio de cinco años, el escarabajo se ha extendido en aproximadamente el 60% de la producción de aguacate en ese país, donde algunos huertos tienen tasas de infestación de 100% (Eskalen *et al.*, 2012). Por lo tanto, el escarabajo y sus hongos simbiotes se han convertido en una seria amenaza para el futuro de la producción de este cultivo en Israel (Freeman *et al.*, 2014). En California, EE.UU., se observó la asociación con *F. euwallaceae* en 2012, cuando por primera vez se observó el daño de la muerte regresiva por *Fusarium* (Eskalen *et al.*, 2012).

Debido a la distribución del complejo en California, EE.UU. y su cercanía con México, el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), inició la vigilancia fitosanitaria del “escarabajo barrenador polífago” en los estados donde se tienen hospedantes potenciales de importancia agrícola y forestal (SENASICA, 2019). Derivado de estas acciones, en el año 2016 se reportó por primera vez al escarabajo *Euwallacea nr. fornicatus*, capturado en una trampa tipo Lindgreen, en la ciudad de Tijuana, en el estado de Baja California, México (García-Avila *et al.*, 2016), así como su hongo simbiote (NAPO, 2016). Con base en lo anterior, el presente trabajo tiene el objetivo de evaluar las respuestas morfológicas y el nivel de daño de cuatro cultivares de aguacate (Flor de María, Méndez, Hass y mexicano) ante la inoculación de *Fusarium*

*euwallaceae*, con la finalidad de proporcionar elementos técnicos y científicos que permitan fortalecer las estrategias de vigilancia y manejo de la enfermedad.

### **1.1. Objetivos**

#### Objetivo general

- Evaluar las respuestas morfológicas y el nivel de daño de cuatro cultivares de aguacate, Flor de María, Méndez, Hass y mexicana ante la inoculación de *Fusarium euwallaceae*.

#### Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la infección por *Fusarium euwallaceae* en el desarrollo de los cultivares Flor de María, Méndez, Hass y criollo mexicano.
- Determinar el nivel de daño o necrosis en los tallos, derivado de la inoculación del patógeno en los cultivares Flor de María, Méndez, Hass y criollo mexicano.
- Evaluar la susceptibilidad de los cultivares Flor de María, Méndez, Hass y criollo mexicano a la infección por *Fusarium euwallaceae*.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades de *Fusarium euwallaceae*

La muerte descendente del aguacate, causada por *Fusarium euwallaceae*, es una enfermedad destructiva que se presentó recientemente en California, EE.UU. e Israel, en aguacate (*Persea americana* L.) y en árboles forestales (Freeman *et al.*, 2013). Es propagada por el escarabajo ambrosial *Euwallacea nr. fornicatus*, debido a su hábito barrenador, al llegar los adultos a un árbol, éstos perforan el tronco, generando galerías donde inoculan y cultivan el hongo, actividad que las hembras adultas realizan principalmente. (Francke-Grosman, 1967; Seis, 2003).

#### 2.1.1 Posición Taxonómica:

Dominio: Eukaryota

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium*

Especie: *F. euwallaceae*

CABI, 2019

### 2.2. Distribución Mundial y en México

El complejo *Euwallacea nr. fornicatus*. – *Fusarium euwallaceae* está presente en el sur de California, EE.UU.; Israel; Tijuana, Baja California, México; así como, en

Pietermaritzburg y Johannesburgo en Sudáfrica (Carrillo *et al.*, 2016; García-Avila *et al.*, 2016; Tuffen *et al.*, 2014; O'Donnell *et al.*, 2014; Van den Berg *et al.*, 2019) [Cuadro 1, Figura 1].

Cuadro 1. Distribución Mundial de *Fusarium euwallaceae*.

<b>Continente</b>	<b>Países y zonas con reportes de <i>Fusarium euwallaceae</i></b>
<b>América</b>	California, Estados Unidos de América (año 2012) y Tijuana, Baja California, México (año 2017).
<b>Asia</b>	Israel (Año 2005).
<b>África</b>	Pietermaritzburg y Johannesburgo, Sudáfrica (año 2017)

En México, el primer reporte de la detección de *Euwallacea* sp. y su simbionte se realizó en el año 2016 (García-Ávila *et al.*, 2016; NAPPO, 2016). De acuerdo con los informes realizados por la Dirección General de Sanidad Vegetal del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) a la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas (NAPPO), este complejo (insecto/hongo) se ha detectado en algunas zonas urbanas de Tijuana, Baja California, y son consideradas plagas cuarentenarias, transitorias accionables en curso erradicación en México. (NAPPO, 2016; NAPPO, 2017).

### **2.3. Importancia económica y riesgo para México**

México se posiciona como el principal productor y exportador de aguacate en el mundo (FAOSTAT, 2019; TRADEMAP, 2019), cuenta con una superficie sembrada de 218,492.93 ha (SIAP, 2019) y permite la generación de 400,000 empleos directos e

indirectos; además, de emplear a más de 9 millones de jornales al año, tan sólo en las principales entidades productoras como lo es Michoacán y Jalisco. La actividad productiva genera importantes divisas e ingresos que contribuyen a mejorar la calidad de vida de los más de 23,300 productores que participan en cada uno de los eslabones de la cadena de valor (APEAM, 2018; Echanove, 2008; APEAJAL, 2018). En la figura 1. y Cuadro 2. se muestran los principales estados productores del cultivo, entre los que se destacan: Michoacán, Jalisco, México, Nayarit y Morelos quienes en conjunto suman el 95% del total de la producción de aguacate en el País (SIAP, 2019).

Durante el año 2018, a nivel mundial se exportaron 2.47 millones de toneladas de aguacate con un valor de exportación de 5,727.3 millones de dólares, de las cuales el 41% las realizó México, con un valor de exportación de 2,391.9 millones de dólares (TRADEMAP, 2019). Los principales mercados del aguacate mexicano fueron 37 países, entre los que destacan: Estados Unidos de América, Canadá, Japón, Países Bajos, España, Francia, Singapur, China, El Salvador y Honduras, quienes en conjunto reciben el 97% del total del aguacate exportado por México (Figura 2 y Cuadro 3) [TRADEMAP, 2019].



ARP - CNRF - DGSV - SENASICA  
DERECHOS RESERVADOS © 2018.

NO ESTÁ PERMITIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTA PUBLICACIÓN, NI LA TRANSMISIÓN DE NINGUNA FORMA O POR CUALQUIER MEDIO, YA SEA ELECTRÓNICO, MECÁNICO, FOTOCOPIA, POR REGISTRO O CUALQUIER MÉTODO, SIN EL PERMISO PREVIO Y POR SCRITO A LA INSTITUCIÓN.

Figura 1. Estados productores de aguacate Hass en México, ciclo agrícola 2017.

Elaboración ARP-CNRF-DGSV-SENASICA, (2018) con datos del SIAP (2017).

Cuadro 2. Estadísticas de producción de aguacate en México, por entidad federativa durante el ciclo agrícola 2017.

	Entidad federativa	Superficie (ha)		Producción (ton)	PMR (\$/udm)	Valor Producción (miles de Pesos)
		Sembrada	Cosechada			
1	<b>Michoacán</b>	<b>158,805.98</b>	<b>142,052.03</b>	<b>1,565,895.76</b>	<b>20,961.24</b>	<b>32,823,118.07</b>
2	<b>Jalisco</b>	<b>21,027.22</b>	<b>14,675.41</b>	<b>169,688.15</b>	<b>16,444.84</b>	<b>2,790,493.83</b>
3	<b>México</b>	<b>8,841.42</b>	<b>8,791.42</b>	<b>108,767.56</b>	<b>16,521.61</b>	<b>1,797,015.09</b>
4	<b>Nayarit</b>	<b>6,129.48</b>	<b>5,072.02</b>	<b>49,245.79</b>	<b>11,696.36</b>	<b>575,996.65</b>
5	<b>Morelos</b>	<b>4,283.40</b>	<b>4,165.40</b>	<b>34,845.57</b>	<b>14,363.05</b>	<b>500,488.79</b>
6	Guerrero	4,492.43	3,381.73	23,586.16	11,216.55	264,555.32
7	Puebla	3,153.60	2,381.30	16,841.85	10,049.30	169,248.84
8	Chiapas	3,241.25	1,576.00	12,008.51	14,415.69	173,111.01
9	Yucatán	466.71	442.64	10,772.25	7,743.82	83,418.36
10	Oaxaca	2,979.17	1,901.10	9,097.28	13,641.57	124,101.16
11	Colima	763.89	705.42	7,317.02	15,058.25	110,181.51
12	Veracruz	721.00	621.00	6,549.80	15,017.38	98,360.82
13	Durango	1,086.50	1,038.00	4,020.51	16,290.54	65,496.29
14	Hidalgo	841.00	494.00	3,323.04	12,968.59	43,095.15
15	Nuevo León	677.33	675.53	3,083.69	8,524.95	26,288.30
16	Guanajuato	273.00	202.00	1,260.45	12,374.35	15,597.25
17	Campeche	73.50	69.50	707.08	4,371.39	3,090.93
18	Baja California Sur	168.80	119.00	697.20	14,347.91	10,003.37
19	Sonora	30.00	30.00	406.62	19,149.10	7,786.41
20	Zacatecas	41.00	41.00	321.42	15,185.77	4,881.01
21	Tabasco	59.00	59.00	289.49	3,453.11	999.64
22	Querétaro	131.00	96.00	276.00	10,281.57	2,837.71
23	Aguascalientes	19.00	19.00	207.00	17,471.60	3,616.62
24	San Luis Potosí	69.00	34.00	204.55	16,209.12	3,315.58
25	Baja California	79.75	46.50	199.40	18,002.40	3,589.68
26	Tlaxcala	25.00	20.00	140.00	23,000.00	3,220.00
27	Sinaloa	13.50	13.50	133.70	15,398.95	2,058.84
		<b>218,492.93</b>	<b>188,722.50</b>	<b>2,029,885.85</b>	<b>19,560.69</b>	<b>39,705,966.23</b>

Fuente: SIAP, 2019. Con datos de producción del ciclo agrícola 2017.

Lista de los mercados importadores para un producto exportado por México en 2018

Producto : 080440 Aguacates "paltas", frescos o secos

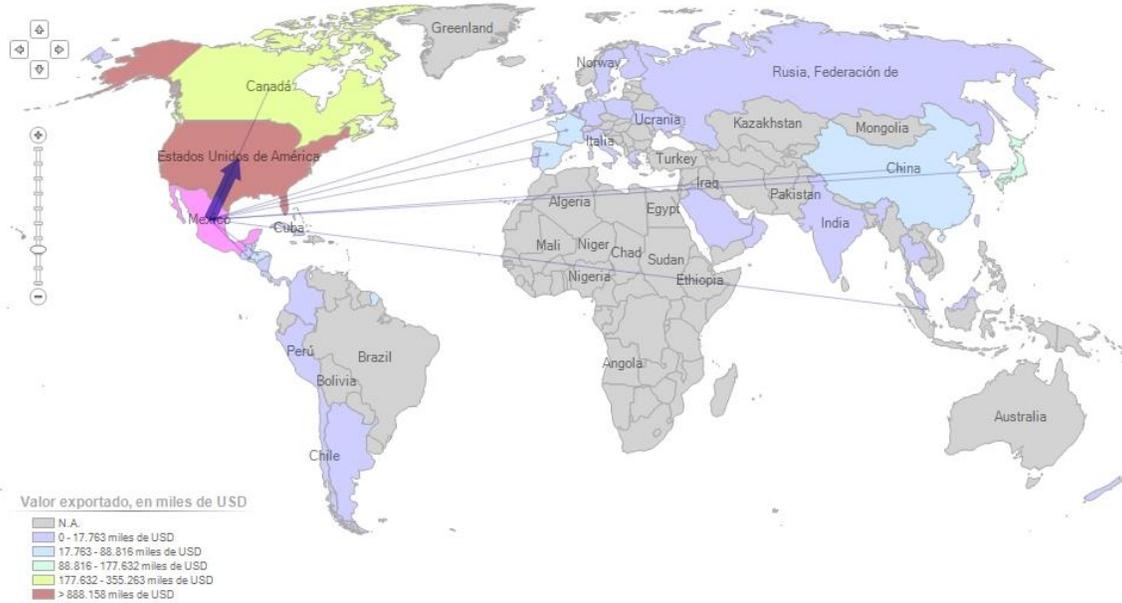


Figura 2. Exportaciones mundiales de aguacate 2018. Fuentes: Cálculos del CCI basados en estadísticas de UN COMTRADE.

Cuadro 3. Principales países importadores de aguacate mexicano durante el año 2018.

Países Importadores	Cantidad (toneladas)	Valor (miles de dólares)	% del valor
Mundo	1,091,937	2,391,963	100.0
Estados Unidos de América	814,817	1,776,316	74.3
Canadá	89,134	197,302	8.2
Japón	66,210	147,300	6.2
Países Bajos	16,765	42,801	1.8
España	15,852	35,086	1.5
Francia	14,766	30,875	1.3
Singapur	14,499	31,607	1.3
China	12,202	27,413	1.1
El Salvador	11,769	25,338	1.1
Honduras	11,663	25,015	1.0

Fuente: elaboración propia, basado en estadísticas de UN COMTRADE.

En este sentido, se considera como un riesgo fitosanitario a *Fusarium euwallaceae*, debido a que, si este patógeno se llegará a establecer y dispersar en territorio nacional, se infiere que podría afectar la producción de aguacate, cultivo de gran importancia económica, por las divisas que genera al exportarse; además de la posible afectación a una diversidad de genotipos nativos de aguacate de la República Mexicana, así como la afectación a los diversos ecosistemas forestales (SENASICA, 2019).

#### **2.4. Hospedantes**

Varias especies pueden ser susceptibles al ataque del complejo *Euwallacea* nr. *fornicatus* - *Fusarium euwallaceae*, sin embargo, actualmente sólo 35 especies han sido identificadas como hospedantes adecuados, donde el insecto es capaz de reproducirse, desarrollarse y el hongo puede crecer (hospedantes reproductivos), entre ellos se encuentra el aguacate, *Persea americana* (Eskalen *et al.*, 2014b) y una amplia variedad de árboles de paisajes urbanos y de áreas naturales (Eskalen *et al.*, 2013). Asimismo, se ha reportado que durazno, vid, níspero, olivo, nuez de macadamia, persimonia y naranja son hospedantes de *Fusarium euwallaceae*; sin embargo, el cultivo de aguacate es el único que se reporta como hospedante reproductivo de *Euwallacea* sp., así como de *Fusarium euwallaceae* (Eskalen *et al.*, 2013). Los hospedantes adecuados para la reproducción del escarabajo y el hongo se enlistan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Hospedantes para la reproducción de *Euwallacea* sp. y *Fusarium euwallaceae*.

<b>Familia</b>	<b>Nombre científico</b>	<b>Nombre común</b>
Lauraceae	<i>Persea americana</i>	Aguacate
Sapindaceae	<i>Acer negundo</i>	Arce negundo
	<i>Acer macrophyllum</i>	Arce de hoja grande
	<i>Acer buergerianum</i>	Arce tridente
	<i>Acer palmatum</i>	Arce japonés palmeado
	<i>Alectryon excelsus</i>	Titoki
Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i>	Higuerilla
Platanaceae	<i>Platanus racemosa</i>	Sicómoro de California
Fagaceae	<i>Quercus robur</i>	Roble común
	<i>Quercus agrifolia</i>	Encino de la costa
	<i>Platanus x acerifolia</i>	Plátano de sombra
	<i>Quercus engelmannii</i>	Roble Engelmann
	<i>Quercus suber</i>	Alcornoque mediterráneo
	<i>Quercus lobata</i>	Roble de los valles
Salicaceae	<i>Salix laevigata</i>	Sauce
	<i>Populus fremontii</i>	Álamo de Virginia
	<i>Populus trichocarpa</i>	Álamo negro
	<i>Salix babylonica</i>	Sauce llorón
	<i>Salix gooddingii</i>	Sauce negro
Betulaceae	<i>Alnus rhambifolia</i>	Aliso blanco
Fabaceae	<i>Albizia julibrissin</i>	Mimosa

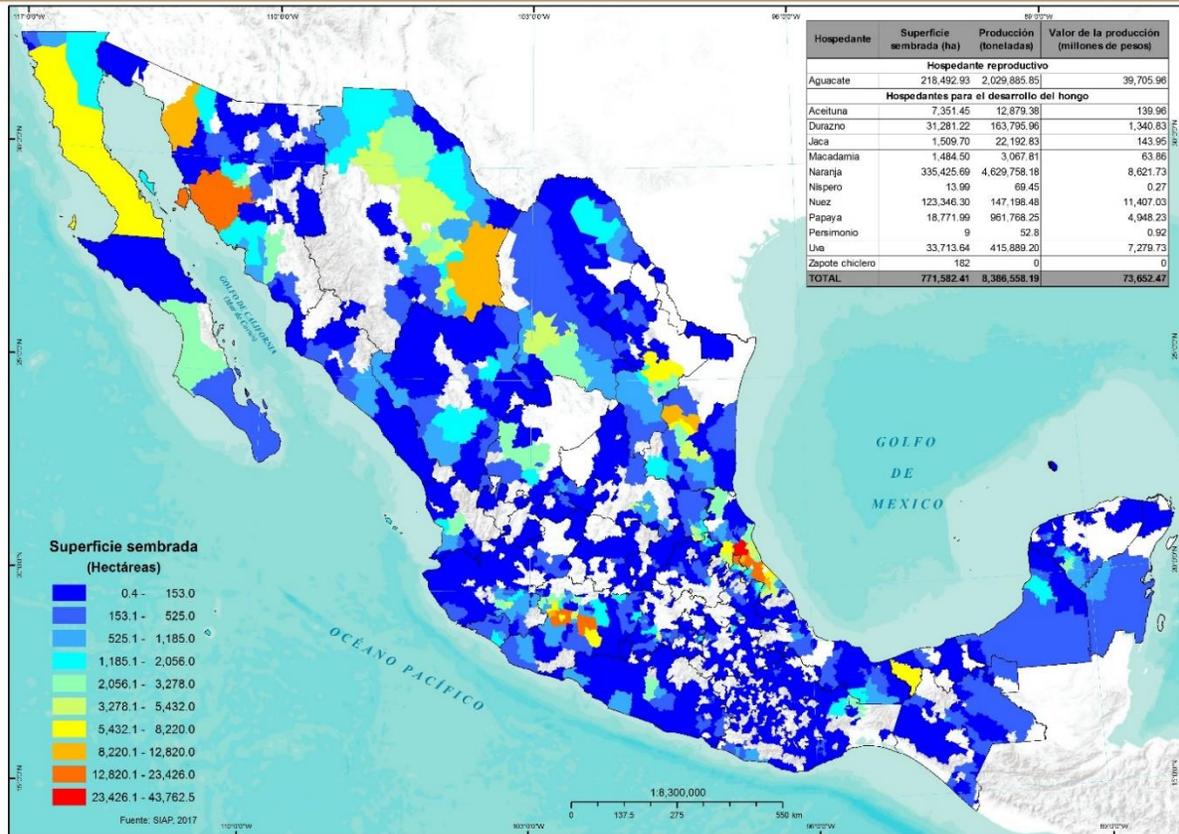
---

	<i>Erythrina corallodendron</i>	Árbol Coral
	<i>Cercidium floridum</i>	Azul palo verde
	<i>Parkinsonia aculeata</i>	Palo verde
	<i>Cercidium sonora</i>	Brea
	<i>Prosopis articulata</i>	Mesquite amargo
	<i>Acacia</i> spp.	Acacia
	<i>Wisteria floribunda</i>	Glicinia japonesa
Aquifoliaceae	<i>Ilex cornuta</i>	
Theaceae	<i>Camellia semiserrata</i>	Camelia
Altingiaceae	<i>Liquidambar styraciflua</i>	Liquidámbar
Myrtaceae	<i>Eucalyptus ficifolia</i>	Eucalipto rojo
Simaroubaceae	<i>Albanthus altissima</i>	Árbol del cielo

---

Fuente: CAB International, 2017

En México, hay una gran diversidad de especies reportadas como hospedantes reproductivos y susceptibles, tales como forestales, de ornato y agrícolas (aguacate, durazno, vid, níspero, olivo, nuez de macadamia, persimonia y naranja). En la Figura 3 se presenta la distribución de hospedantes de importancia económica, donde se ubican las zonas en las que se podría desarrollar *Fusarium euwallaceae* debido a la presencia de hospedantes, los estados con mayor superficie y hospedantes son Veracruz y Sonora (SENASICA, 2019).



SENASICA - DGSV - CNRF - PVEF. DERECHOS RESERVADOS © 2019. No está permitida la reproducción total o parcial de esta publicación, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito a la institución.  
Fecha de elaboración: Marzo 2019

Figura 3. Áreas de riesgo por presencia de hospedantes agrícolas para el desarrollo del hongo *Fusarium euwallaceae*. Fuente: Senasica (2019), con datos del SIAP, 2017.

La importancia del aguacate como potencial hospedante de esta enfermedad, se considera una gran amenaza, derivado de la importancia de la producción; además de que se tiene diferentes variedades y cultivares de aguacate, algunas nativas y otras introducidas, a raíz de la introducción del cultivar Hass al país en 1963, éste ha ido desplazando a otras variedades como el Fuerte que era la principal variedad consumida en el mercado nacional e internacional (Mijares y López, 1998). El cultivar Hass, en la

actualidad, es el más cultivado y el único que se exporta, así mismo, la mayor superficie cultivada corresponde a la variedad Hass, seguido de su modalidad orgánica, aguacate criollo y variedad fuerte (SIAP, 2019).

Los cuatro cultivares de aguacate, que más se comercializan en viveros en las zonas productoras, son:

#### Hass

Seleccionado en La Habra, Heights, California, por Rudolph G. Hass, a principios de los 1920s y patentado en 1935. Con la secuenciación del genoma del aguacate se sabe que 'Hass' tiene 64% de su genoma derivado de la raza mexicana y 36% de la raza guatemalteca. La "sangre" mexicana les da una mejor adaptación a climas más templados, por lo que le confiere la característica de ubicarse en una amplia gama de altitudes (Barrientos-Priego, 2017). En Michoacán se cultiva desde 1,000 hasta 2,600 metros sobre el nivel del mar; en climas que van del cálido subhúmedo a templado húmedo, lo cual le confiere diferente comportamiento en fenología (Rocha-Arroyo *et al.*, 2011) y otras características. Los frutos son de 170 a 350 g., pulpa cremosa de sabor excelente, sin fibra, contenido de aceite de 23.7%; cáscara algo coriácea, rugosa y frecuentemente tendiendo a lo liso, aunque esto depende del clima donde se cultive; color púrpura oscuro al madurar; semilla pequeña y adherida a la cavidad. El tipo floral es "A" (Espíndola, 2019).

En el año 2017, el aguacate Hass fue cultivado en 21 estados de la república mexicana con una producción de 1,881,565.20 toneladas, siendo los principales productores los

estados de Michoacán (78%), Jalisco (9%), Estado de México (6%) y Nayarit (2%) [SIAP, 2018]. Fueron 443 municipios los que participaron en la producción nacional de aguacate Hass; los 5 municipios que concentran alrededor del 43% de la producción nacional son; Tancítaro, Salvador Escalante, Tacámbaro, Ario de Rosales y Peribán, todos pertenecientes al estado de Michoacán (SIAP, 2019).

En cuanto a la modalidad de aguacate Hass orgánico, este fue producido en 17 municipios, de los cuales 16 pertenecen al estado de Michoacán, destacando Tancítaro con casi el 45% y Uruapan con aproximadamente el 30% (SIAP, 2019).

### Méndez

Actualmente está surgiendo como la segunda más cultivada en México, a nivel mundial cada día se incrementa su popularidad. Seleccionada por el Sr. Carlos Méndez Vega en el huerto “Cheranguerán” del municipio de Uruapan, Michoacán, México, deriva de una mutación de 'Hass', tiene la particularidad de florecer y cosecharse 2 meses antes que en esa localidad (Espíndola, 2019), tolera el frío más que 'Hass',  $-2.2\text{ }^{\circ}\text{C}$  por varias horas e inclusive  $-3.3\text{ }^{\circ}\text{C}$  por dos o tres horas (Méndez, 2000). Se ha detectado que pierde dominancia apical y tiene una copa más compacta, entra rápido a producción después de injertada y menos alternante que 'Hass' (Espíndola, 2019). Florece durante el periodo de abril a mayo y de agosto a noviembre; la mayoría de la producción se cosecha en mayo a agosto. Las características de 'Méndez No. 1' son muy similares a su progenitor, con leves variantes en fruto, ya que es un poco más pequeño y de forma menos alargada. Patentado en EE.UU. en el año 2000 y con título de derechos de obtentor en México en el 2011 (Espíndola, 2019).

El aguacate 'Méndez No. 1' (Plant Patent 11 173 USA 2002), conocido en México como 'Méndez', tiene importancia económica en el sur del estado de Jalisco, donde hay más de 6,000 ha plantadas. En esta región su principal cosecha anual ocurre en el verano pudiendo alcanzar los precios más altos del año, diferente a la de 'Hass' que se realiza en otoño-invierno (Salazar-García *et al.*, 2017).

#### Flor de María

Deriva de una mutación de Hass en Michoacán; está tomando auge su cultivo en México, como otra opción adicional a 'Hass' y 'Méndez No. 1', está registrando mucho interés por los productores que están incursionando en el cultivo de aguacate, debido a la productividad y uniformidad de la fruta. El material que fue desarrollado a 1500 msnm, es altamente productivo y de tamaño uniforme en el árbol, el fruto madura en negro y es de buen sabor; se produce en racimos parecido a 'Lamb Hass', se desarrolla bien a altitudes de 2300 msnm (Espíndola, 2019).

#### Criollo mexicano

*Persea americana* var. *drymifolia* (aguacate criollo mexicano) se emplea como portainjerto en huertos de aguacate Hass y es fuente de genes de resistencia a plagas y patógenos para éste y otros cultivares (Rincón-Hernández *et al.*, 2011)

Esta raza representa a las especies cultivadas de aguacates conocidos como criollos mexicanos. En su hábitat natural se distribuye en las faldas de la Región Este de las tierras altas del centro de México y en el sur de la faja volcánica transmexicana, a

altitudes mayores a 1000 m, en climas húmedos cálidos a semiáridos. Se han encontrado especímenes creciendo mezclados con los bosques de coníferas en el norte de Guatemala y México, en asociación con materiales criollos guatemaltecos. Sus árboles alcanzan los 15 m de altura, de ramas ligeramente pubescentes y hojas de color verde oscuro intenso, aromáticas como su corteza y madera; ápice agudo y superficie adaxial glauca; inflorescencia subterminal, múltiple, pubescente o no; flores regulares; de 3 a 6 frutos por racimo terminal, de 4 a 12 cm de longitud, de forma ovoide o ligeramente piriformes; exocarpio delgado color verde oscuro, café, negro o púrpura; mesocarpio con olor anisado y semilla larga, ovada de superficie lisa (Campos y Hernández, 2011).

En las plantaciones comerciales de México, utilizan mayoritariamente portainjertos francos de la raza mexicana, el cual tiene características de longevidad, alto rendimiento y buena calidad de frutos; que confieren principalmente una buena adaptación del árbol y que resulte finalmente en una unidad productiva (Campos *et al.*, 2011; Barrientos *et al.*, 2007).

## **2.5. Aspectos morfológicos de *Fusarium euwallaceae***

Las especies de *Fusarium* son variables en su composición genética y en su respuesta adaptativa al medioambiente, pudiendo causar cambios morfológicos. Por lo cual la base en la identificación de especies de *Fusarium* son los macroconidios (Toussoun *et al.*, 1983). Freeman *et al.* (2013) describen los conidios de *F. euwallaceae* con formas que van de falcados a largamente clavados, a veces de forma cilíndrica curvada, más grandes (anchos) en la mitad superior y adelgazándose hacia la base, a menudo con una célula apical redondeada y papilada y con una bien diferenciada célula basal en

forma de pie. Conidios de esporodoquios, de 1 a 5 septos, con células pigmentadas de color azulado a cafés y formadas en esporodoquios en masas verdosas sobre papa-dextrosa-agar (PDA) después de un mes de desarrollo.

Las colonias en PDA tienen tasas de crecimiento radial del micelio de 3.1–3.7 mm por día a 20 °C y 4.5–4.8 mm por día a 25 °C en la oscuridad; la colonia es de color blanco a blanco amarillento, amarillo pálido, amarillo claro o blanco anaranjado, gris anaranjado o a menudo naranja pálido, a veces gris rojizo, gris pardusco o gris purpúreo en la oscuridad, posteriormente con pústulas conidiales de color blanco amarillento, amarillo pálido a amarillo claro, amarillo grisáceo a verde grisáceo y, a menudo, verde oscuro cuando se produce en esporodoquios (Freeman *et al.*, 2013).

En medios de cultivo “sintético bajo de nutrientes-agar (SNA) las hifas son de 1.5–9.5 (–13.5)  $\mu\text{m}$  de ancho. Las clamidiosporas se forman abundantemente en las hifas y en los conidios, en su mayoría subglobosa a redondeada elipsoidal, intercalado o terminal, solitaria o a menudo en cadenas, hialina común a amarillo pálido, que luego se vuelven azuladas o pardosas cuando están fuertemente pigmentadas, de lisas a menudo de pared áspera, 6–12 x 6–10  $\mu\text{m}$ , esclerocios ausentes (Freeman *et al.*, 2013).

En SNA y PDA los conidióforos aéreos son largos de 0-1 septos; conidióforos cortos simples o ramificados de 1-5 septos en esporodoquios; en medios de cultivo sobre PDA bajo la luz del día después de 1 mes y en SNA en oscuridad después de 2 semanas se observan masas de conidios verdosos formados en esporodoquios; en cultivos sobre PDA, se observan fiálides en esporodoquios, formando conidios multiseptados, falcados a grandemente clavados (Freeman *et al.*, 2013).

## 2.6. Síntomas y signos

Los síntomas externos asociados con a este complejo de insecto/enfermedad incluyen: pequeños orificios de entrada/salida de adultos del escarabajo ambrosial *Euwallacea* sp. (Figura 4a); coloración oscura de la corteza exterior, la cual puede estar asociada con un orificio de entrada/salida del escarabajo; exudado seco o húmedo en forma de "volcanes de azúcar" (Figura 4b); gomosis en el exterior de la corteza; excretas del insecto; marchitez regresiva (Figura 4c) y finalmente la muerte de los árboles (Freeman *et al.*, 2013; Eskalen *et al.*, 2014b). Los síntomas internos incluyen tinción de la madera infectada (Figura 4c), los hongos simbióticos manchan la entrada y las galerías de color café a negruzco. La decoloración causada por la colonización de hongos se observó debajo de la capa de corteza interna cuando el orificio de entrada del escarabajo penetró a través del cambium y en el xilema (Coleman, 2013; Eskalen *et al.*, 2014b).

En aguacate, los síntomas observados por Eskalen *et al.* (2013) fueron la formación en los orificios de entrada del vector, un "volcán de azúcar" blanco de aproximadamente 1 a 15 cm de diámetro y de 0.5 a 5 cm de altura.



Figura 4. Síntomas de *Fusarium euwallaceae* en aguacate. a) Daños externos, orificios de entrada del insecto barrenador, volcanes de azúcar (García-Avila, 2014); b) volcanes de azúcar en platas de aguacate Hass de dos años de edad (Cruz-Martínez, 2019); c) Declinamiento de ramas (García-Avila, 2014) y d) síntomas internos, tinción de la madera con orificio de entrada del escarabajo (Eskalen *et al.*, 2014a).

## 2.7. Formas de diseminación

La presencia de *Fusarium euwallaceae* está supeditada a la introducción del insecto ambrosial *Euwallacea* sp. La vía más probable es que ellos sean transportados en

madera de embalaje y su establecimiento está sujeto a hospedantes susceptibles y a condiciones favorables, las cuales hasta el momento no se tienen estudios que las determinen. La enfermedad puede ocurrir en plantas de aguacate que han sido inoculadas directamente con el hongo, pero también se ha encontrado de manera aislada sin el coleóptero barrenador polífago, sin embargo, no hay pruebas que sugieran que este hongo se propague por otro mecanismo, excepto a través de su vector (Kasson *et al.*, 2013). Freeman *et al.*, (2013) reportaron que existe un mutualismo obligado entre el escarabajo y hongo, dado que las larvas se alimentan de *F. euwallaceae* para completar su ciclo de vida.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Localización**

El experimento se llevó a cabo del 12 de diciembre de 2018 al 12 de abril de 2019, bajo condiciones de Invernadero con Bioseguridad nivel 2, ubicado en Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) de la DGSV, dentro de la Unidad Integral de Servicios, Diagnóstico y Constatación, del SENASICA, en Tecámac, Estado de México.

#### **3.2. Adquisición y acondicionamiento de las unidades experimentales**

La unidad experimental fue una planta de aguacate, para este experimento se utilizaron 40 plantas de aguacate de dos años de edad, referentes a cuatro cultivares (Flor de María, Méndez, Hass y mexicano), los cuales fueron adquiridos en el vivero “el entronque”, localizado en el municipio de Uruapan, Michoacán. El día 1 de septiembre de 2018 se ingresaron a la celda 3 del invernadero del CNRF, en donde se mantuvieron por 102 días para aclimatación, durante este periodo se proporcionó un manejo agronómico de riego de 0.5 L de agua cada tercer día y fertilización con triple 19 cada 15 días. Posteriormente se realizó la aleatorización de las unidades experimentales apoyados con el programa Microsoft® Excel® 2016 y se etiquetaron las plantas conforme al tratamiento correspondiente.

#### **3.3. Reglamento de uso del invernadero del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria**

- Uso obligatorio de bata u overol de trabajo, guantes y calzado limpio.

- Registro de actividades en la bitácora de entrada, esta se encontrará en la coordinación de la Unidad de Tratamientos Cuarentenarios (UTC) y en la bitácora de la célula respectiva en el vestidor del invernadero.
- Al entrar al invernadero se tiene tapete para la desinfección del calzado.
- Siempre trabajar con las puertas cerradas.
- Todo el material de trabajo, tales como tijeras, atomizadores, guantes, entre otros; una vez ingresados, no deberán salir mientras transcurra el experimento, al final del mismo se analizará si se procede a desinfección, inactivación y/o destrucción.
- Sólo podrán ingresar personas autorizadas por la Coordinación de la UTC.
- Las puertas de la entrada y de las células se mantendrán cerradas con llave en todo momento, para evitar la pérdida de plantas y, junto con éstas, sus patógenos y/o plagas, por lo que se deberá pasar por las llaves a la coordinación cada vez que se necesite entrar al invernadero y dejar cerrado con llave.
- El riego deberá ser racional, se deberá evitar anegar las macetas, no salpicar agua al piso y plantas vecinas, ni derramar agua a la coladera.
- Los usuarios de cada célula deberán mantener el piso siempre seco.
- Cuando el objetivo del proyecto incluya patógenos cuarentenarios, se deberán usar macetas sin orificios o recipientes impermeables en la parte inferior, para evitar el derrame de agua y con ésta la plaga objetivo.
- La frecuencia de riegos deberá establecerse en cada anteproyecto, en función del cultivo, etapa fenológica, etc.

- Al finalizar el experimento el usuario empaquetará, etiquetará, y trasladará los residuos (material vegetal, el sustrato y las macetas) a inactivación y posteriormente al área de incineración.

#### **3.4. Aislamiento de *Fusarium euwallaceae***

El aislamiento de *F. euwallaceae* se realizó a partir de una muestra del vector *Euwallacea nr. fornicatus* (García *et al.*, 2016) colectado en una trampa asociada a un árbol de álamo en la zona urbana de Tijuana, Baja California, México; la cepa del hongo se encuentra resguardada en la colección de hongos fitopatógenos del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, con acrónimo CNRF-MICO 102577\*16P00033775 fue identificada y caracterizada dentro del laboratorio de micología del CNRF, quienes proporcionaron la cepa para el presente trabajo.

#### **3.5. Concentración del inóculo**

El inóculo utilizado para la infección se obtuvo de una suspensión de esporas de  $3.6 \times 10^6$  conidios/ml, para obtenerla se colocaron 10 ml de agua destilada estéril sobre una caja Petri con crecimiento de *Fusarium euwallaceae* en esporulación, se agitó durante un minuto mediante movimientos circulares; seguido se decantó la suspensión en un tubo de vidrio estéril, se adicionaron cuatro gotas de lactofenol y se agitó nuevamente el tubo; se dejó reposar durante 5 minutos, posteriormente se agitó de nuevo el tubo durante 2 minutos y con una pipeta se colectaron 10  $\mu$ l de la suspensión y se colocó en el borde del portaobjetos de la cámara de Neubauer, se dejó reposar durante 1 minuto, con el fin de que los conidios se sedimentaran en la base de la cámara, luego se observó al microscopio compuesto, usando el objetivo 10X y se contaron todos los macros y

microconidios, en todas las áreas de los cuatro milímetros cuadrados de las esquinas y del centro.

### 3.6. Diseño experimental

Para determinar el efecto de la inoculación con *F. euwallaceae*, se realizó un experimento factorial 2 x 2 utilizando un diseño completamente al azar; considerando dos factores de estudio, A=Cultivar de aguacate y B = El efecto de la infección por *Fusarium euwallaceae*; el factor A consideró cuatro niveles: 1= Flor de María, 2= Méndez, 3=Hass y 4= Criollo (Figura 5); el factor B consideró dos niveles: 1 = con *F. euwallaceae* y 2 = sin *F. euwallaceae*. Al realizar todas las combinaciones entre factores y niveles se obtuvieron 8 tratamientos (Cuadro 5), cada tratamiento contó con cinco repeticiones.

Cuadro 5. Tratamientos evaluados para determinar la susceptibilidad de los cultivares: Flor de María, Méndez, Hass y mexicano por la infección de *F. euwallaceae*.

Tratamientos	Descripción
T1	Flor de María con <i>F. euwallaceae</i>
T2	Méndez con <i>F. euwallaceae</i>
T3	Hass con <i>F. euwallaceae</i>
T4	Mexicano con <i>F. euwallaceae</i>
T5	Flor de María sin <i>F. euwallaceae</i>
T6	Méndez sin <i>F. euwallaceae</i>
T7	Hass sin <i>F. euwallaceae</i>
T8	Mexicano sin <i>F. euwallaceae</i>



Figura 5. Plantas de aguacate utilizadas en el experimento, fotografía tomada al ingreso al invernadero, se encuentran ordenadas por cultivar de izquierda a derecha Flor de María, Méndez, Hass y mexicano.

### 3.7. Inoculación de *Fusarium euwallaceae*

La inoculación se realizó en tres puntos (orificios) diferentes sobre el tallo principal de la planta, para lo cual se realizaron orificios en los que se inyectaron 20  $\mu$ l de la suspensión con aproximadamente 144,800 conidios; considerando la parte basal del suelo de la maceta se tomó el primer punto a los 40 cm, el segundo a 60 cm y el tercero a 80 cm, en cada uno de ellos se realizó un orificio de 3 mm de profundidad, con ayuda de una broca de un 1mm de diámetro, una vez que se hizo la inoculación se colocó una rodaja de 1 cm<sup>2</sup> de PDA estéril, con la finalidad de proporcionar alimento al hongo en los primeros días de inoculación. Para los testigos se realizó la misma técnica de perforación, y se inyectaron 20  $\mu$ l de agua destilada estéril. Finalmente, se selló la herida con vaselina y Parafilm®.

### **3.8. Medición de variables**

El experimento se realizó en dos fases; en la primera se tomaron medidas con intervalo de 30 días, a partir de la inoculación realizada el 12 de diciembre de 2018. Las variables fueron: 1) Altura de la planta (A), la cual se midió con flexómetro de 3 m, considerando la longitud desde la base de la maceta hasta el ápice de la planta; 2) Diámetro de tallo, se utilizó un Vernier (con graduación máxima para 16 cm de diámetro) en los tres puntos donde se realizó la inoculación: primer punto, diámetro basal a los 40 cm (DB); diámetro medio a los 60 cm (DM) y diámetro apical a los 80 cm (DA); número de ramas (NR), para lo cual se contaron todas las ramas presentes en árbol durante el desarrollo del experimento.

La segunda fase se realizó al final del experimento, a los 120 días después de la inoculación (12 de abril de 2019), en la que se determinó la longitud de la necrosis (LN) en el tallo, en cada uno de los puntos de infección: longitud de necrosis basal (LNB), longitud de necrosis media (LNM) y longitud de necrosis apical (LNA), derivado de la inoculación de *F. euwallaceae*; para lo que se hicieron cortes longitudinales con la ayuda de una navaja de disección; por último, con una regla se midió el tejido con necrosis visible.

### **3.9. Ensayo de patogenicidad de *Fusarium euwallaceae***

Para confirmar la patogenicidad de *F. euwallaceae*, se tomaron trozos de tejido vegetal (1 cm<sup>2</sup>), del lugar afectado de cada unidad experimental. El tejido se desinfectó con hipoclorito de sodio al 1 % durante 2 minutos y consecutivamente en etanol al 70 %, las muestras se dejaron secar sobre papel absorbente estéril y posteriormente se transfirieron asépticamente a una cámara húmeda. Adicionalmente, los trozos desinfectados fueron

trasferidos a cajas Petri con medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA). En ambos casos, las muestras fueron incubadas a una temperatura de  $25\pm 2$  °C hasta el desarrollo de colonias fúngicas (2 - 3 semanas). Finalmente, se realizaron cultivos monospóricos a través de esporas germinadas las cuales fueron transferidas a nuevas cajas Petri con medio PDA.

#### Identificación morfológica.

La identificación morfológica se realizó mediante claves taxonómicas y la observación directa de las estructuras del hongo con estereomicroscopio y microscopio compuesto, además se realizó la identificación tomando como referencia la descripción realizada por Na *et al.* (2018) y Barnett y Hunter, (2006).

#### Identificación molecular.

**Extracción de DNA.** A partir de cultivos monospóricos desarrollados en PDA y previamente caracterizados morfológicamente, se obtuvo el micelio necesario para la extracción del material genético bajo el método de extracción propuesto por Genis (1992). el cual se describe a continuación:

- 1) En un tubo con perlas de cerámica (MagNA Lyser Green Beads Roche) se transfirieron aproximadamente  $\frac{1}{4}$  del micelio de una caja Petri de la muestra.
- 2) Se agregó 500 $\mu$ L de Buffer TE y centrifugó durante 5 minutos a 13000 rpm; decantando el sobrenadante con una micropipeta.
- 3) Se adicionó 300 $\mu$ L de buffer de extracción (el buffer consiste en 200mM Tris HCL pH 8.5, 250mM NaCl, 25mM EDTA, y 0.5% SDS). El micelio se macerado mediante un disruptor de tejidos durante 30 segundos (Minibeadbeater Biospect Products).

- 4) Se adicionó 150µL de Acetato de Sodio 3M pH 5.2 y colocaron los tubos en refrigeración a una temperatura de -20°C durante al menos 10 minutos.
- 5) Se centrifugaron los tubos durante 10 minutos a 12000rpm, se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo.
- 6) Se agregó un volumen igual de Isopropanol, dejando reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos; posteriormente se centrifugó durante 10 minutos a 12000 rpm.
- 7) Se decantó el isopropanol cuidando de no perder la pastilla. Se agregaron 500µL de etanol al 70% y centrifugó durante 2 minutos a 12 000rpm. Se repitió el lavado con etanol al 70% 2 veces.
- 8) Se resuspendió el DNA en 50µL de agua grado biología molecular y se guardó en refrigeración a -20°C.

**Amplificación.** La amplificación de la región ITS se realizó usando los primers ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3') e ITS4 (5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC -3'), bajo la siguiente mezcla de reacción: 16.6 µL de H<sub>2</sub>O, 2.5 µL de Buffer PCR 10X, 0.75 µL de 50mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 µL de 10mM dNTP's, 1.25 µL de Oligo F, 1.25 µL de Primer R, 0.125 µL de Taq DNA Pol y 2 µL de DNA. El programa térmico de amplificación fue: un ciclo a 95°C durante 5 minutos; 35 ciclos con 95°C durante 45 segundos, 53°C durante 45 segundos, 72°C durante 1 minuto; y un ciclo final de 72°C durante 5 minutos. Se empleó el Termociclador Techne-Flexigene. La integridad del ADN, así como el tamaño de las bandas amplificadas se analizó mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 2 %, revelados con 0.6X de Gel Red en buffer TAE 1X durante 60 minutos y visualizados con luz ultravioleta (254nm).

**Secuenciación.** Los productos de PCR fueron secuenciados en el Laboratorio de Biología Molecular del CNRF, con ayuda del secuenciador marca 3130 Genetyc Analyzer de Applied Biosystems mediante la química de BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit.

**Análisis filogenético.** Las secuencias bidireccionales se alinearon con el programa BioEdit (Hall 1999). Se realizó un BLAST en la página del National Center of Biotechnology Information (NCBI), para determinar la especie del género *Fusarium* a la que pertenece. Se utilizaron accesiones provenientes del NCBI; MK432885 (Carrillo *et al.*, 2019), MF150025 (Moreno, *et al.* 2017) y MH620772 (Zervakis *et al.*, 2018). Para el análisis filogenético, las secuencias fueron analizadas bajo el modelo de máxima verosimilitud y el modelo de Tamura-Nei (1993) del programa Mega X (Kumar *et al.*, 2018).

### 3.10. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza y pruebas de separación de medias de Tukey, utilizando el programa Statistic Analysis System (SAS) con los datos de altura de la planta (A), diámetro basal (DB); diámetro medio (DM), diámetro apical (DA), número de ramas (NR), longitud de necrosis basal (LNB), longitud de necrosis media (LNM) y longitud de necrosis apical (LNA). Para el análisis estadístico se utilizó un modelo factorial 2 x 2, cuya ecuación es la siguiente:

$$y_{ij} = \mu + a_i + b_j + ab_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$ = Variable respuesta.

$\mu$ = Media general.

$a_i$ = Efecto de la  $i$ -ésima cultivar [ $i$ = 1 (Flor de María), 2 (Méndez), 3 (Hass) y 4 (mexicana)].

$b_j$ = Efecto del  $j$ -ésimo tipo de inoculación [ $j$ = 1 (Inoculadas con *F. euwallaceae*), 2(Inoculadas con agua estéril)].

$ab_{ij}$ = Efecto conjunto de la cultivar y el tipo de inoculación.

$\varepsilon_{ij}$ = Error experimental.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Ensayo de patogenicidad de *Fusarium euwallaceae*

Los cuatro cultivares de aguacate inoculados con *F. euwallaceae* no mostraron síntomas de marchitez o muerte descendente durante los 120 días que duró el experimento; sin embargo, se identificó un exudado de azúcar en los puntos donde fueron heridas las plantas para su inoculación. Lo anterior coincide con Na *et al.* (2018), quienes realizaron pruebas de patogenicidad en plántulas de aguacate (cv. Zutano) de dos años de edad, infectándolas con *F. euwallaceae*, *F. kuroshium*, *G. euwallaceae* o *G. kuroshium*; demostrando que después de 30 días no encontraron síntomas de muerte; sin embargo, observaron la presencia del exudado de azúcar en la mayoría de plántulas de aguacate utilizadas en el experimento, incluido el tratamiento de control, concluyendo que el exudado de azúcar fue resultado del daño mecánico del floema causado por el procedimiento de inoculación. Asimismo, en un ambiente natural las plantas son atacadas por el complejo simbiótico *Euwallacea* sp. – *Fusarium euwallaceae* en donde, los escarabajos ambrosiales construyen galerías en el xilema, mientras que la propagación de su simbionte fúngico puede obstruir el transporte de agua y minerales, dando como resultado el marchitamiento y la muerte del árbol huésped (Freeman *et al.*, 2013), mientras que en el presente estudio se analizó únicamente el efecto del hongo en las 4 cultivares de aguacate, sin estar presente el vector. Sin embargo, al realizar cortes longitudinales en el tallo se observaron lesiones necróticas que se originaron en los puntos de inoculación (Figura 6).



Figura 6. Cortes longitudinales realizados para determinar la longitud de la necrosis en los puntos de infección con *F. euwallaceae* en cuatro cultivares de aguacate. a) flor de María; b) Méndez; c) Hass y d) mexicano.

En todos los trozos de tejido vegetal, correspondientes a las unidades experimentales inoculadas con *Fusarium euwallaceae* (tratamientos T1, T2, T3 y T4), después de 1 mes de incubación en medio de cultivo de PDA, se observó crecimiento de micelio en forma radial de color blanco y rojizo (Figura 7a), asimismo se observaron conidios multiseptados, con la parte media superior más ancha, la mayoría con la célula apical redondeada y papilada, y estrechándose en su base (Figura 7c), estas características coinciden con las características de *F. euwallaceae* descritas por Freeman *et al.* (2013) y Na *et al.* (2018). Mientras que los trozos de tejido vegetal correspondientes a las unidades experimentales inoculadas con agua destilada estéril, tratamientos T5, T6, T7 y T8, no se obtuvieron crecimientos con características de *F. euwallaceae*. para cumplir con los postulados de Koch.

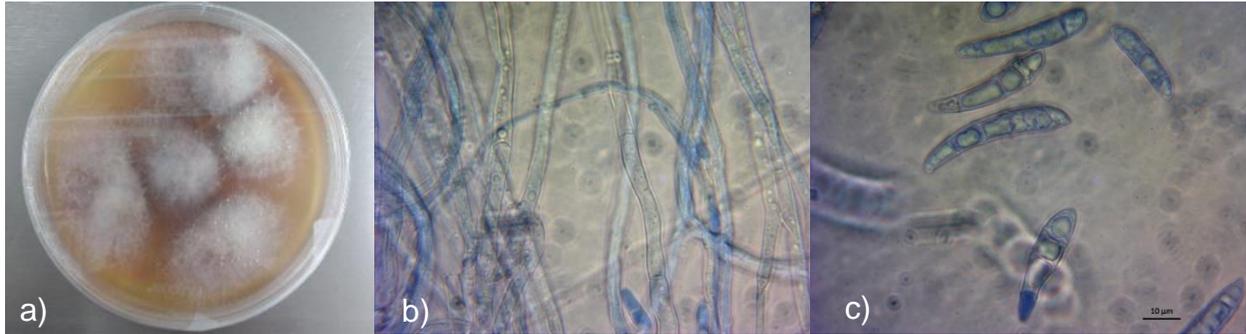


Figura 7. *Fusarium euwallaceae* en PDA. a) crecimiento de micelio color blanco en forma radial, b) hifas con septos, c) Macroconidios multiseptados, con la parte media superior más ancha que en su base, célula apical redondeada y papilada.

#### 4.2. Resultados del análisis Molecular

A partir de cultivos puros, se obtuvo el micelio necesario para la extracción de DNA, el cual fue empleado para la amplificación del gen ITS, obteniendo un fragmento de 600 pb aproximadamente (Figura 8). El producto de PCR fue secuenciado, posteriormente se realizó un blast en el GenBank, la secuencia obtenida se alineó con secuencias pertenecientes al género *Fusarium* con una cobertura de 99% y un porcentaje de identidad mayor al 98%.

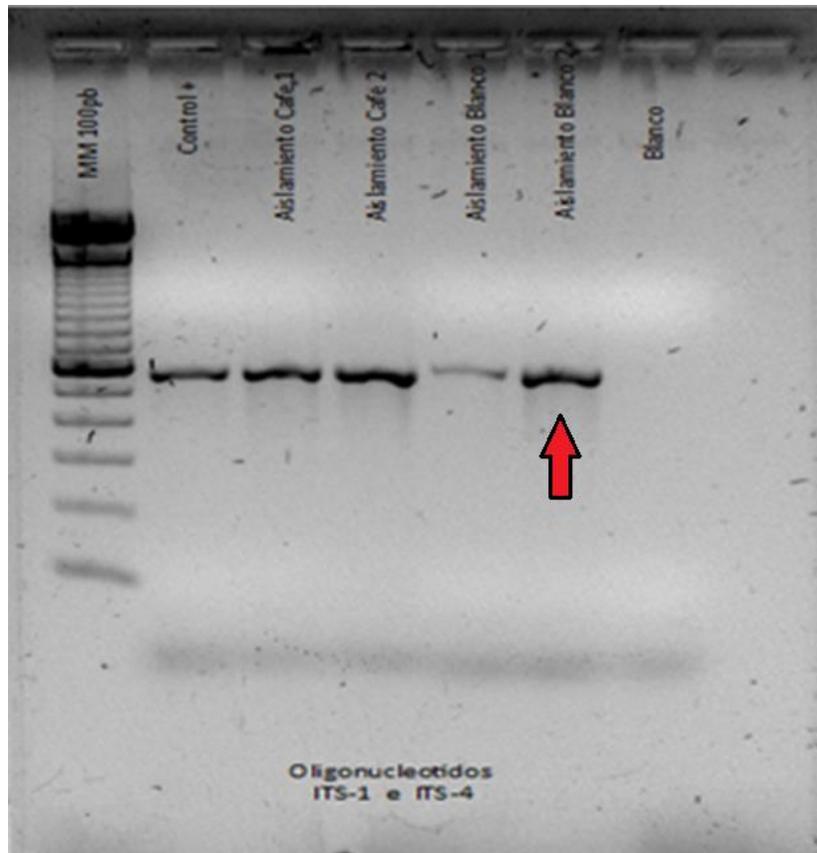


Figura 8. Gel de electroforesis al 2%. Amplificación de la región ITS de la cepa FEW-BLANCO. correspondiente al aislamiento con micelio color blanco que resultó en *Fusarium euwallaceae*.

Mediante el análisis de las secuencias de los fragmentos de ADN correspondientes a los ITS, se realizó el análisis filogenético utilizando 30 secuencias con alto porcentaje de identidad (superior al 98%), las cuales fueron analizadas bajo el método de máxima verosimilitud. La relación filogenética agrupó las especies de acuerdo a sus distancias evolutivas con base en el análisis de la secuencia de ADN, de esta manera se logró corroborar que la cepa en estudio (FEW-BLANCO) pertenece a la especie reportada por García-Avila *et al.* (2016) como *F. euwallaceae*.

*Euwallacea* spp. se encuentra distribuida en múltiples áreas de los Estados Unidos, incluyendo California, Florida, Hawaii y gran parte del Atlántico medio y sureste de los Estados Unidos (CABI, 2015; O'Donnell *et al.*, 2015; Short *et al.*, 2017), así como en otras partes del mundo, incluidas Australia, Costa Rica, Guatemala, Israel, Panamá y Sudáfrica (CABI, 2015; Stouthamer *et al.*, 2017). Su distribución permite que los escarabajos ambrosiales del género *Euwallacea* estén asociados con distintos hongos, destacado *F. euwallaceae* (Freeman *et al.*, 2013), *Graphium* spp. (Freeman *et al.*, 2016; Lynch *et al.*, 2016), *Raffaelea subfusca* (Kasson *et al.*, 2013), y también, *Paracremonium* spp. (Lynch *et al.*, 2016). Sin embargo, la diferencia entre las secuencias de ADN varía entre las regiones de genes nucleares en el escarabajo ambrosial identificado morfológicamente como *Euwallaceae fornicatus*, se ha sugerido que hay al menos tres especies diferentes, cada una con fitogeografía distinta (Stouthamer *et al.*, 2017).

En la Figura 9 se puede observar el árbol filogenético, la secuencia obtenida del aislamiento proveniente de árboles de aguacate, se agrupa con el hongo *F. kuroshium* (MK432885 y LR583723) y *F. euwallaceae* (MF150025) [Clado 1], mientras que en otro clado se agrupan especies de *F. euwalaceae* (MH620773 y KY499282) y *F. ambrosium* (MK262197) [Clado 2].

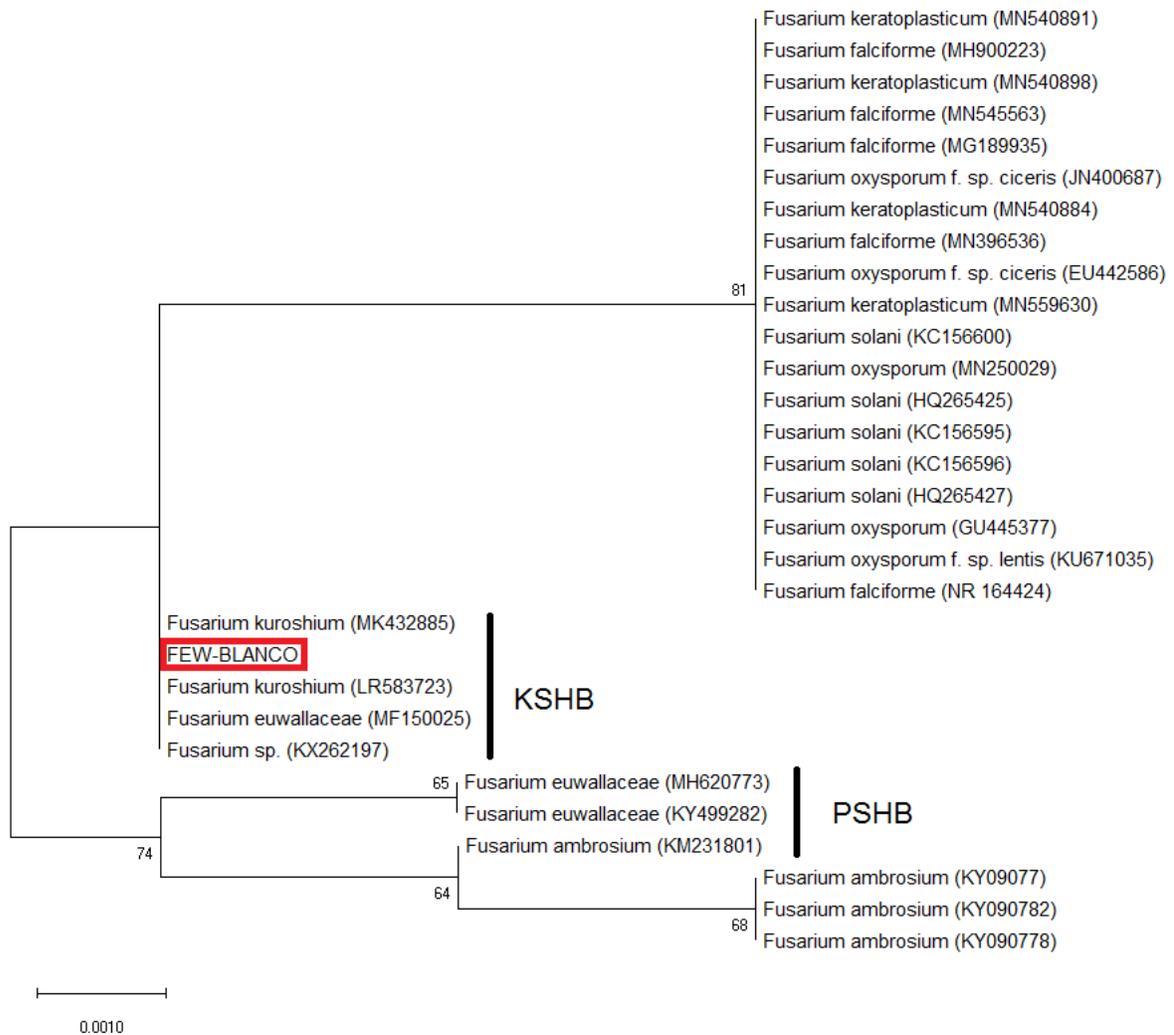


Figura 9. Análisis filogenético de la secuencia obtenida en arboles de aguacate inoculados con *Fusarium euwallaceae* utilizando Mega X de las secuencias ITS del género *Fusarium*.

La invasión de más de una especie de *Euwallacea* en California y Florida (Stouthamer *et al.*, 2017), ha concebido la invasión de dos *Euwallacea* spp. nr. *forficatus* genéticamente distintas, pero morfológicamente indistinguibles con linajes evolutivos independientes (O'Donnell *et al.*, 2015; Stouthamer *et al.*, 2017), cada uno asociado con hongos

simbióticos característicos. Los dos *Euwallacea* spp. que invaden California, conocida como 1) Polyphagous Shot Hole Borer (*Euwallacea* sp. nr. *forficatus*, PSHB) (Eskalen *et al.*, 2013; O'Donnell *et al.*, 2015) y 2) Kuroshio Shot Hole Borer (*Euwallacea* sp. nr. *forficatus*, KSHB) [O'Donnell *et al.*, 2015; Stouthamer *et al.*, 2017], las cuales difieren de Tea Shot Hole Borer (*Euwallacea* sp. nr. *forficatus*, TSHB), la cual no está presente en California, sólo se ha reportado en Florida y Hawaii (Stouthamer *et al.*, 2017; Gómez *et al.*, 2018).

Es por ello, que en este análisis molecular se muestran dos clados para *F. euwallaceae*, sin embargo, basado en los estudios de Gómez *et al.* (2018), sobre evaluación filogenética de *Euwallacea forficatus*, se puede inferir que la especie del presente estudio corresponde a *Fusarium kuroshium* simbionte del barrenador Kuroshio Shot Hole Borer o KSHB, el cual proviene de la invasión del escarabajo en California.

#### **4.3. Efecto de *Fusarium euwallaceae* en las características morfológicas de cuatro cultivares de aguacate.**

Las características morfológicas de los cultivares de aguacate bajo estudio se vieron afectadas principalmente por el tipo de cultivar, el efecto del tratamiento sólo se pudo observar en las variables altura (A), diámetro medio (DM) y diámetro apical (DA); sin embargo, el efecto conjunto de ambos factores de estudio determinó que adicional a las tres variables anteriores, el diámetro basal (DB) también tuvo diferencias significativas, por lo que, en lo subsiguiente, se hará mayor énfasis en dichas variables (Cuadro 6). En

lo que respecta a la variable número de ramas (NR), no se tuvieron diferencias significativas en el tratamiento ni en la interacción de los factores, por lo cual no se considerará para evaluar el efecto de *F. euwallaceae* en los cuatro cultivares de aguacate.

Cuadro 6. Análisis de varianza de las características morfológica de cuatro cultivares de aguacate al ser inoculadas con *Fusarium euwallaceae*

Fuente de variación	A	DB	DM	DA	NR
Modelo	<.0001**	0.0001**	<.0001**	<.0001**	<.0207*
R <sup>2</sup>	0.90	0.80	0.93	0.89	0.59
CV	4.28	5.81	3.35	4.99	15.67
Cultivares	<.0001**	<.0001**	<.0001**	<.0001**	0.0042**
Tratamientos	0.0216*	0.0941 <sup>NS</sup>	0.0046**	<.0001**	0.3078 <sup>NS</sup>
Cultivares*Tratamientos	0.0086**	0.0269*	<.0001**	<.0001**	0.4503 <sup>NS</sup>

\*\* Altamente significativo con  $P \leq 0.01$ , \* Significativo con  $P \leq 0.05$ , **NS** No significativo

Derivado de la comparación de medias de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ), se observó que el cultivar mexicano tuvo la mayor altura (A), seguido de Flor de María, Hass y Méndez. El diámetro basal (DB) fue mayor en el cv. mexicano, le siguieron los cv. Flor de María, Hass y Méndez. El diámetro medio (DM) y apical (DA), fue mayor en el cv. Hass, en ambos casos le siguió el cultivar mexicano, Flor de María y Méndez. Por último, el cv. Flor de María tuvo mayor número de ramas (NR), seguido de los cultivares Hass, mexicano y Méndez (Cuadro 7).

En cuanto a los tratamientos, se observó que las variables altura (A) y diámetro del tallo en los dos puntos de medición (DM y DA) fue superior en los tratamientos que fueron inoculadas con *Fusarium euwallaceae*. En lo que respecta a la variable diámetro basal (DB) número de ramas (NR) no se tuvieron diferencias estadísticas (Cuadro 7).

Cuadro 7. Separación de medias de Tukey  $\alpha = 0.05$ , de las características morfológica de cuatro cultivares de aguacate al ser inoculadas con *Fusarium euwallaceae*.

<b>Factores de estudio</b>	<b>A</b>	<b>DB</b>	<b>DM</b>	<b>DA</b>	<b>NR</b>
Flor de María	193.23 b	1.44 b	1.39 b	1.15 bc	13.16 a
Méndez	165.76 c	1.27 c	1.21 c	1.09 c	9.50 b
Hass	187.30 b	1.50 ab	1.52 a	1.31 a	12.16 ab
Mexicano	218.46 a	1.61 a	1.40 b	1.24 ab	9.667 b
Con <i>F. euwallaceae</i>	195.45 a	1.49 a	1.41 a	1.27 a	10.75 a
Sin <i>F. euwallaceae</i>	186.93 b	1.42 a	1.35 b	1.13 b	11.50 a

Medias con la misma letra, entre hileras, no son significativamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ )

Derivado del análisis de la interacción de los factores de estudio (cultivar + tratamiento), se observó que el cultivar mexicano con *F. euwallaceae*, tuvo mayor altura (230 cm), mientras que el cultivar Méndez, sin *F. euwallaceae*, fue el que tuvo la menor altura (156 cm). Asimismo, los cultivares mexicano y Méndez presentaron mayor altura en los tratamientos con *F. euwallaceae*, mientras que en los cultivares Flor de María y Hass ocurrió lo contrario, es decir, los tratamientos que no fueron inoculados con el hongo

tuvieron alturas mayores con respecto a los tratamientos del mismo cultivar inoculados con el hongo. Se encontró una diferencia de aproximadamente 22 cm en los cultivares que tuvieron mayor altura cuando fueron inoculados con *F. euwallaceae*, y en el caso contrario la diferencia fue de aproximadamente 5 cm (Figura 10).

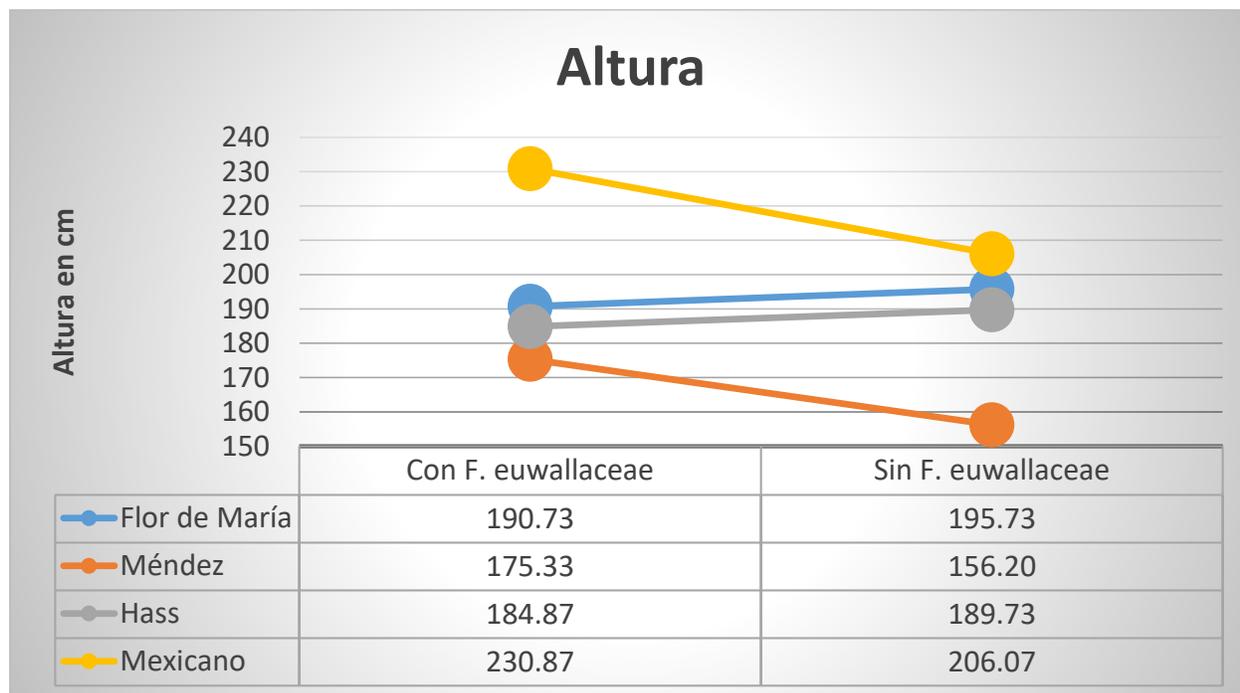


Figura 10. Comparación de la altura de cuatro cultivares de aguacate inoculados con *Fusarium euwallaceae* y los testigos con agua destilada estéril.

En lo que respecta a la variable diámetro basal, el cultivar mexicano, sin *F. euwallaceae*, fue el que tuvo el valor más alto (1.62 cm), mientras que el cultivar Méndez, sin *F. euwallaceae*, tuvo el valor más bajo (1.16 cm). Se observó que los cultivares Flor de María y Méndez tuvieron mayor diámetro basal en las plantas con *F. euwallaceae*, mientras que en los cultivares mexicano y Hass el diámetro basal fue mayor en las plantas que no fueron inoculadas con el hongo. Se encontró una diferencia de

aproximadamente 0.2 cm en los cultivares que tuvieron mayor diámetro basal cuando fueron inoculados con *F. euwallaceae* y en el caso contrario la diferencia fue de aproximadamente 0.045 cm (Figura 11).

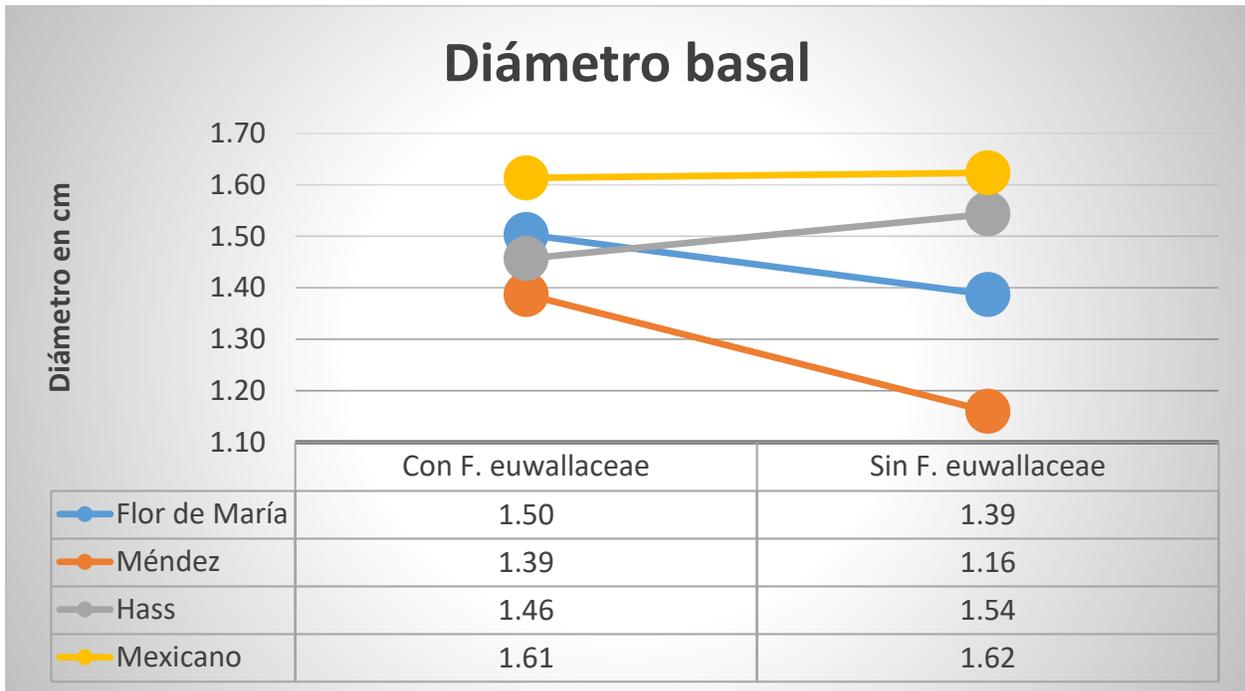


Figura 11. Comparación del diámetro basal de cuatro cultivares de aguacate inoculados con *Fusarium euwallaceae* y los testigos con agua destilada estéril.

Para la variable de diámetro medio, el cultivar Hass con *F. euwallaceae* fue el que tuvo el valor más alto (1.56 cm), mientras que el cultivar Méndez sin *F. euwallaceae* tuvo el valor más bajo (1.11 cm). Los cultivares Hass, mexicano y Méndez tuvieron mayor diámetro medio en las plantas con *F. euwallaceae*, mientras que en el cultivar Flor de María, el diámetro medio fue mayor en las plantas que no fueron inoculadas con el hongo. La diferencia en los cultivares que tuvieron mayor diámetro se observó en los cultivares

que fueron inoculados con *F. euwallaceae*, con un valor de aproximadamente 0.16 cm y en el caso contrario la diferencia fue de aproximadamente 0.23 cm (Figura 12).

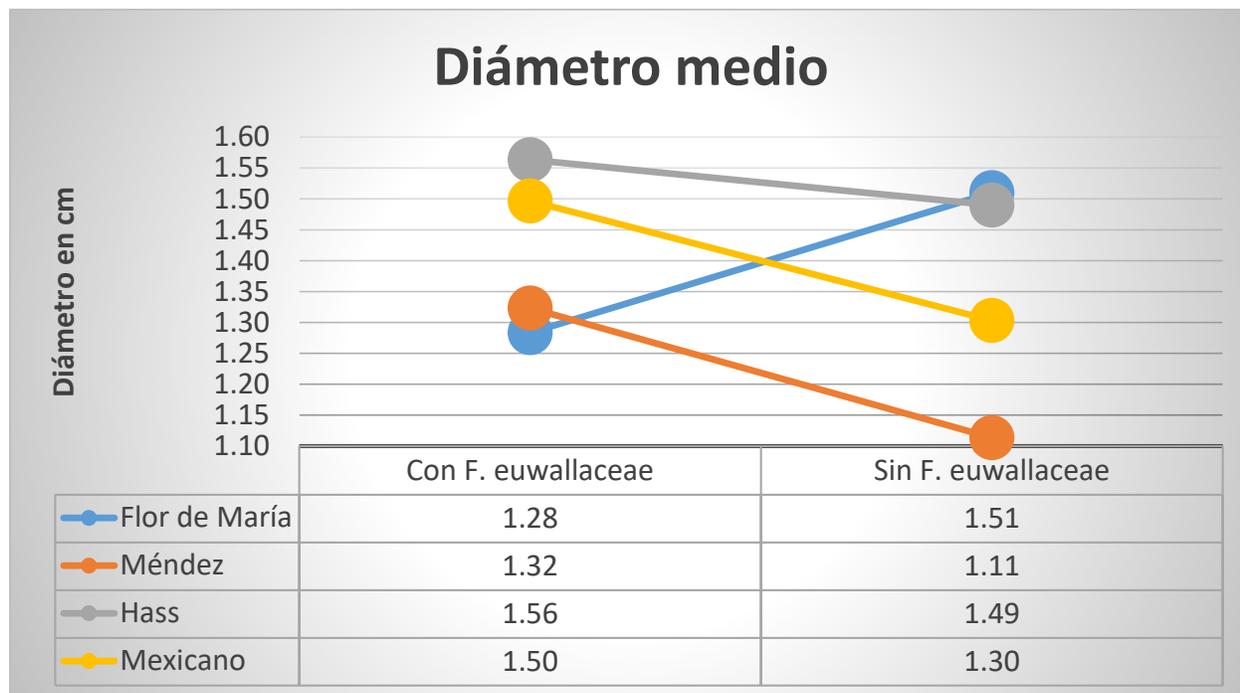


Figura 12. Comparación del diámetro medio de cuatro cultivares de aguacate inoculados con *Fusarium euwallaceae* y los testigos con agua destilada estéril.

Para la variable diámetro apical, el cultivar Hass sin *F. euwallaceae* fue el que tuvo el valor más alto (1.39 cm), mientras que los cultivares Méndez y Flor de María sin *F. euwallaceae* fueron los que tuvieron el valor más bajo (1.01 cm). Los cultivares mexicano, Flor de María y Méndez tuvieron mayor diámetro apical en las plantas con *F. euwallaceae*, mientras que el cultivar Hass tuvo mayor diámetro apical en las plantas testigo. La diferencia en los cultivares que tuvieron mayor diámetro apical se observó en

los que fueron inoculados con *F. euwallaceae*, con aproximadamente 0.23 cm y en el caso contrario la diferencia fue de aproximadamente 0.15 cm (Figura 13).

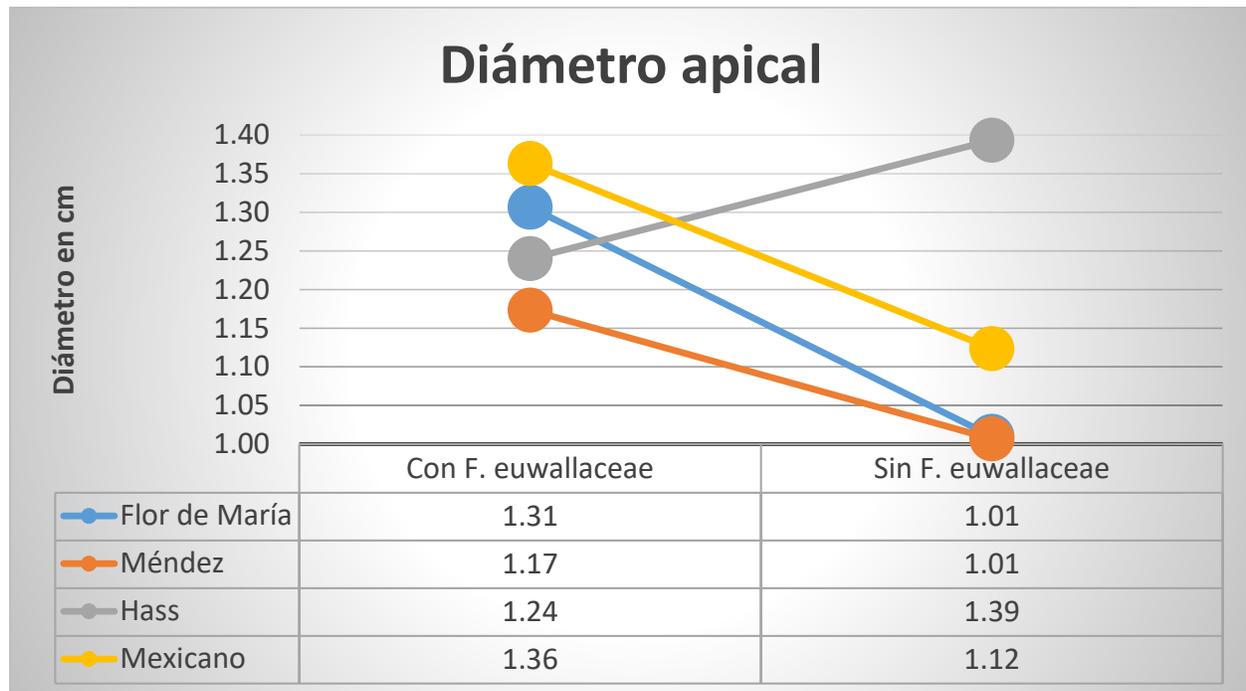


Figura 13. Comparación del diámetro apical de cuatro cultivares de aguacate inoculados con *Fusarium euwallaceae* y los testigos con agua destilada estéril.

En cuanto al número de ramas, a pesar de que no se tuvieron diferencias estadísticas significativas se obtuvieron diferencias numéricas en el cual, el cultivar Flor de María sin *F. euwallaceae* produjo la mayor cantidad de ramas (13), mientras que los cultivares mexicano y Méndez con *F. euwallaceae* fueron los que produjeron la menor cantidad de ramas (8). Los Cultivares Flor de María, mexicano y Méndez sin *F. euwallaceae* tuvieron mayor cantidad de ramas que las que fueron inoculadas con el hongo. Mientras que en el cultivar Hass la respuesta fue inversa (Figura 14).

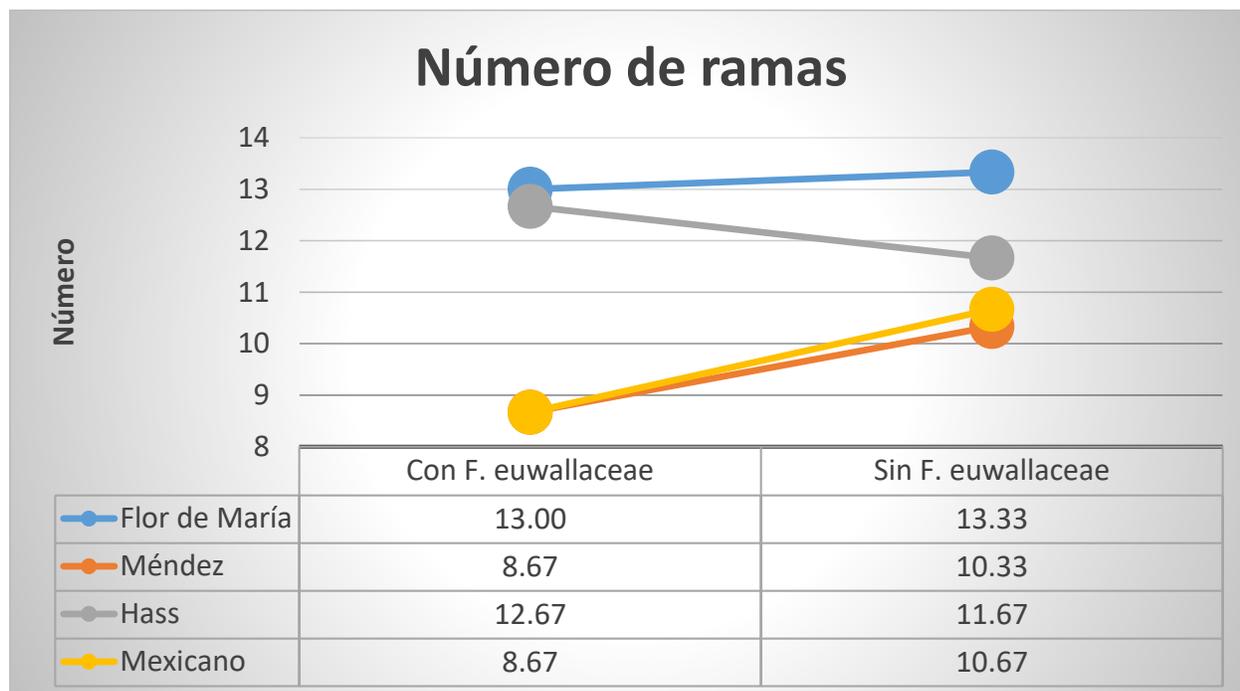


Figura 14. Comparación del número de ramas de cuatro cultivares de aguacate inoculados con *Fusarium euwallaceae* y los testigos con agua destilada estéril.

#### 4.4. Longitud de necrosis en los puntos inoculados con *Fusarium euwallaceae* en cuatro cultivares de aguacate

El análisis de varianza de las variables relacionadas con la longitud de necrosis en los puntos de inoculación de *F. euwallaceae* [longitud de la necrosis basal (LNB), media (LNM) y apical (LNA)] permitió observar diferencias altamente significativas entre cultivares para dos variables bajo estudio (LNM y LNA), mientras que la variable longitud de la necrosis basal (LNB) no tuvo diferencias significativas (Cuadro 8). Lo que permite inferir que las zonas más cercanas al ápice, donde las estructuras de los tejidos son menos leñosas, son más susceptibles a la infección por *Fusarium euwallaceae*, esto

coincide con Van den Berg *et al.* (2019), quienes inocularon *F. euwallaceae* en tallos y brotes de aguacates de un año de edad, obteniendo lesiones mojadas de color marrón en todos los tallos y brotes inoculados con el patógeno.

En lo que respecta al factor de estudio “tratamientos” y en la interacción de ambos factores de estudio (cultivares + tratamientos), se tuvieron diferencias altamente significativas en las tres variables bajo estudio (LNB, LNM y LNA).

Cuadro 8. Análisis de varianza de la longitud de necrosis en cuatro cultivares de aguacate al ser inoculadas con *Fusarium euwallaceae*.

Fuente de variación	LNB	LNM	LNA
Modelo	<.0001**	<.0001**	<.0001**
R <sup>2</sup>	0.90	0.94	0.94
CV	29.84	25.11	32.72
Cultivares	0.1177 <sup>NS</sup>	<.0001**	<.0001**
Tratamientos	<.0001**	<.0001**	<.0001**
Cultivares* Tratamientos	0.0005**	0.0002**	<.0001**

\*\* Altamente significativo con  $P \leq 0.01$ , \* Significativo con  $P \leq 0.05$ , **NS** No significativo

La separación de medias de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ), por factor de estudio, muestra que a pesar que no hay diferencias estadísticas significativas entre cultivares, en la longitud de la necrosis basal (LNB), existe una diferencia numérica importante de  $\pm 2.06$  cm entre el

cv. Flor de María que tuvo mayor longitud de necrosis y el cv. Mexicano que tuvo la menor longitud de necrosis en la base del tallo.

En cuanto a la longitud de la necrosis media (LNM), se encontró que el cultivar con menor longitud de necrosis fue el cv. Méndez (2.26), mientras que el que tuvo mayor longitud fue el cv. Hass (7.05), entre ambos cultivares hay una diferencia numérica de  $\pm 4.79$  cm.

Para la longitud de la necrosis apical (LNA) se encontró que el cv. Méndez tuvo la menor LNA (1.5 cm) en contraste con el cv. Mexicano que tuvo mayor LNA (6.10 cm), entre ambos cultivares hay una diferencia numérica de  $\pm 4.6$  cm.

Por otra parte, el factor de estudio “tratamientos” tuvo una diferencia numérica entre los tratamientos que fueron inoculados con *F. euwallaceae* y los que se usaron como testigos de  $\pm 6.56$  cm,  $\pm 6.93$  cm y  $\pm 7.24$  cm de LNB, LNM y LNA respectivamente (Cuadro 9).

Estos resultados superan lo reportado por Van den Berg *et al.*, (2019), quienes obtuvieron lesiones medias de 5.56 cm de longitud en tallos y brotes de aguacates de un año de edad inoculados con *F. euwallaceae*. No obstante, se coincide con Na *et al.*, (2018), quienes obtuvieron lesiones de  $6.89 \pm 2.1$  cm en plántulas de aguacate cv. Zutano inoculadas con *F. euwallaceae*, mientras que las plántulas inoculadas con *F. kuroshium* presentaron lesiones con un promedio longitud de  $3.15 \pm 1.8$  cm.

Cuadro 9. Separación de medias de Tukey  $\alpha = 0.05$  de la longitud de necrosis en cuatro cultivares de aguacate al ser inoculadas con *Fusarium euwallaceae*.

Factores de estudio	LNB	LNМ	LNA
Flor de María	6.05 a	5.61 a	3.10 bc
Méndez	4.41 a	2.26 b	1.50 c
Hass	5.16 a	7.05 a	5.18 ab
Mexicano	3.99 a	5.73 a	6.10 a
Con <i>F. euwallaceae</i>	8.18 a	8.63 a	7.59 a
Sin <i>F. euwallaceae</i>	1.62 b	1.70 b	0.35 b

Medias con la misma letra entre hileras no son significativamente diferentes con  $\alpha = 0.05$

Derivado del análisis de la interacción de ambos factores de estudio se observó que el efecto del tratamiento en cada uno de los cultivares bajo estudio; para la variable LNB en los tratamientos con *F. euwallaceae* se determinaron valores de necrosis que oscilaron desde 5.83 cm hasta 11.33 cm de longitud; donde el cv. Hass tuvo la menor longitud de necrosis, mientras que el cv. Flor de María tuvo la mayor longitud de necrosis (Figura 15).

Por otra parte, los tratamientos sin *F. euwallaceae* presentaron necrosis que oscilaron desde 0.4 cm hasta 4.5 cm de longitud; se observó que tres variedades tuvieron longitudes menores a 1 cm, sólo el cultivar Hass presentó necrosis de hasta 4.5 cm, en

este caso se atribuye a que durante la inoculación o posterior a ella, 3 plantas de la cultivar Hass, se infectaron con otros organismos, entre los que se identificaron los hongos *Acremonium* sp., *Alternaria alternata* y *Aspergillus niger*, Sin embargo, en todas las plantas usadas como testigo no se aisló el hongo *Fusarium euwallaceae*.

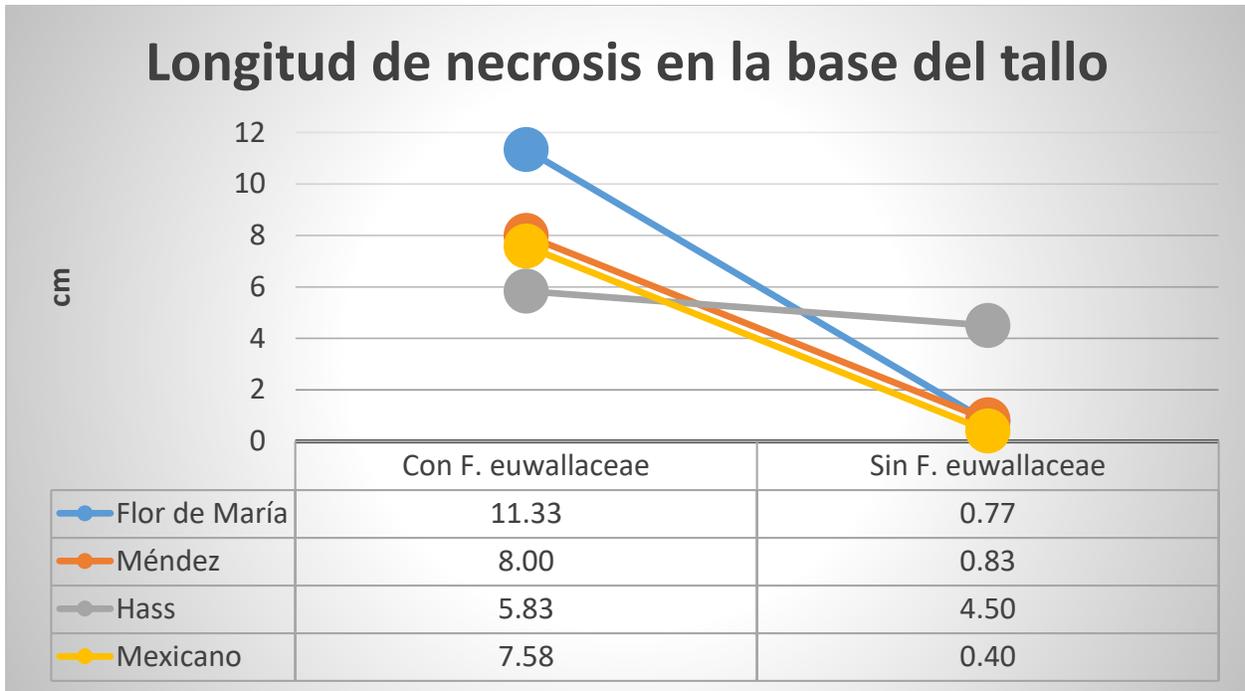


Figura 15. Comparación de la longitud de necrosis en la zona basal del tallo de cuatro cultivares de aguacate inoculados con *F. euwallaceae* y testigos con agua destilada estéril.

En la variable longitud de la necrosis media (LNM) los tratamientos con *F. euwallaceae* presentaron necrosis que oscilaron desde 4.00 cm hasta 11.20 cm de longitud; el cv. Méndez tuvo la menor longitud de necrosis, mientras que el cv. Mexicano resultó ser el que tuvo la mayor longitud de necrosis (Figura 16). Los tratamientos sin *F. euwallaceae*

oscilaron desde 0.27 cm hasta 4.93 cm de longitud; tres variedades tuvieron longitudes menores a 1.1 cm, sólo la variedad Hass presentó necrosis de hasta 4.9 cm, lo cual se debió a que durante la inoculación o posterior a ella, 3 plantas de la cultivar Hass, se infectaron con otros organismos, entre los que se identificaron los hongos *Acremonium* sp., *Alternaria alternata* y *Aspergillus niger*.

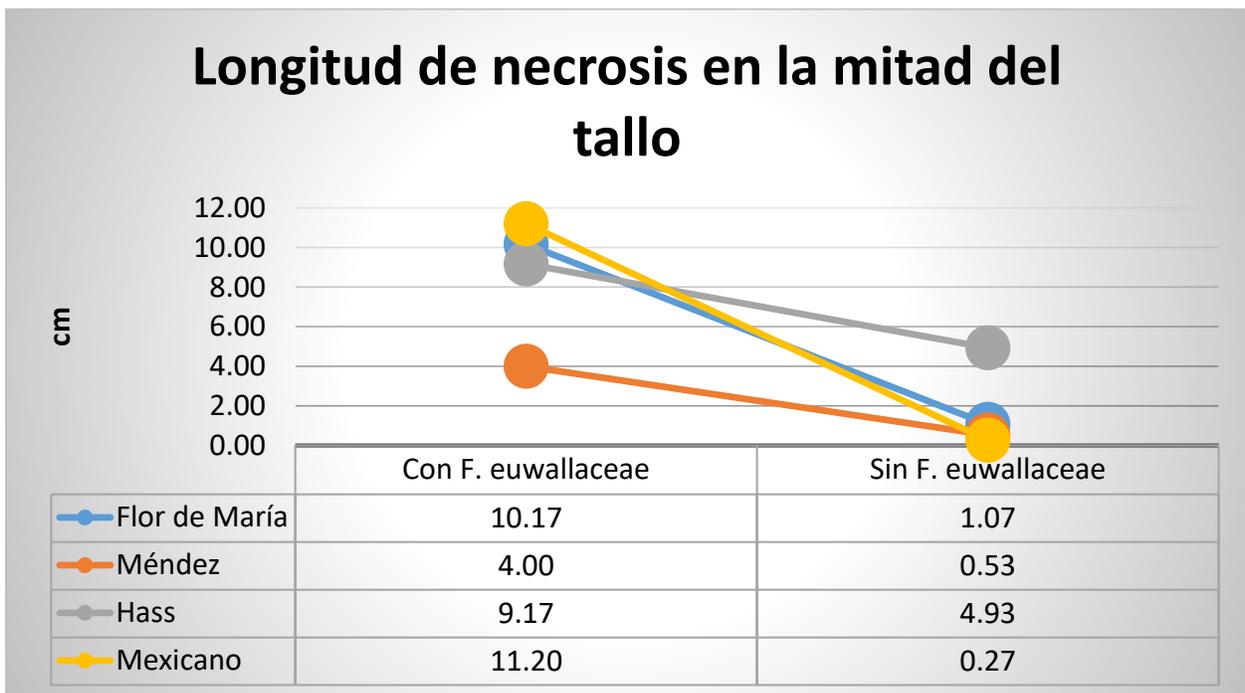


Figura 16. Comparación de la longitud de necrosis en la zona media del tallo de cuatro cultivares de aguacate inoculados con *F. euwallaceae* y testigos con agua destilada estéril.

En la variable longitud de la necrosis apical (LNA) los tratamientos con *F. euwallaceae* presentaron necrosis que oscilaron desde 2.73 cm hasta 11.97 cm de longitud; el cv. Méndez tuvo la menor longitud de necrosis, mientras que el cv. Mexicano tuvo la mayor

longitud de necrosis (Figura 17). Los tratamientos sin *F. euwallaceae* oscilaron desde 0.24 cm hasta 0.53 cm de longitud, en los cuales no hubo contaminación de ningún tipo, ya que el necrosamiento del tejido sólo se presentó en el sitio donde se realizó la perforación para la inoculación.

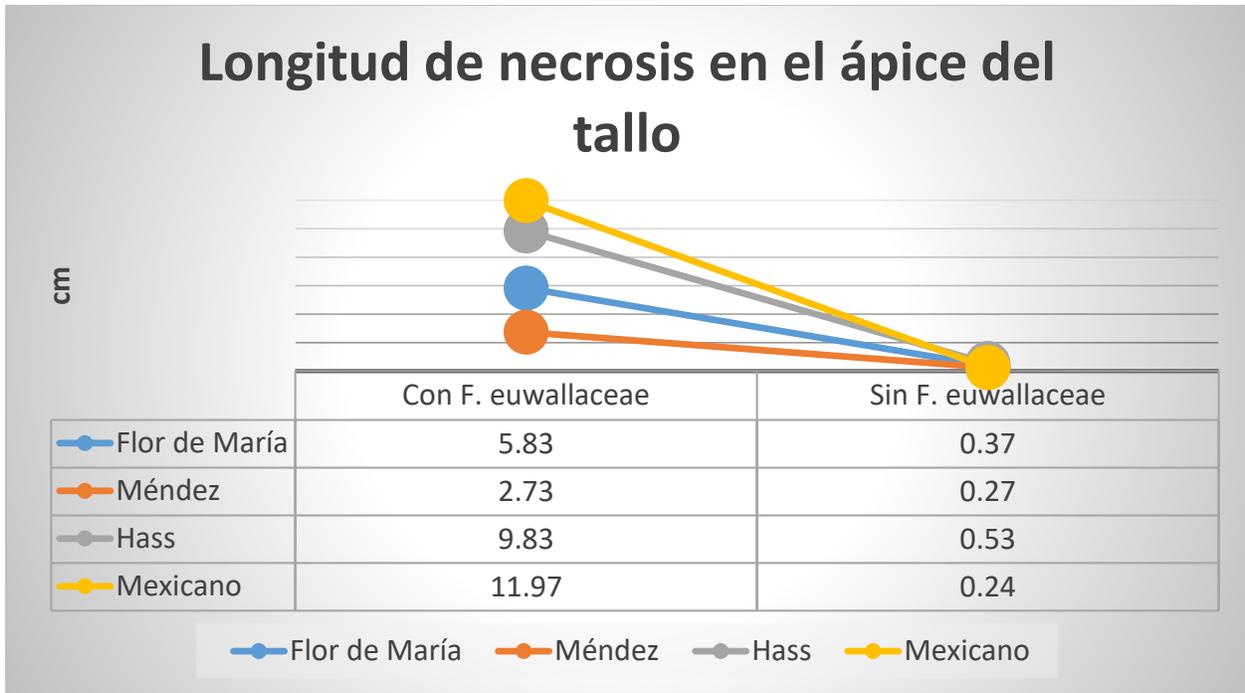


Figura 17. Comparación de la longitud de necrosis en la zona apical del tallo de cuatro cultivares de aguacate inoculados con *F. euwallaceae* y testigos con agua destilada estéril.

## 5. CONCLUSIONES

Durante 120 días después de la inoculación en plántulas de dos años de edad en cultivares Flor de María, Méndez, Hass y mexicano no se observaron síntomas externos que pudieran asociarse a la infección por *Fusarium euwallaceae*.

La inoculación de *F. euwallaceae* en condiciones de invernadero, no detuvo el crecimiento de la altura de los cuatro cultivares de aguacate bajo estudio, por el contrario, en los cultivares mexicano y Méndez, esta condición fue promovida.

La inoculación de *F. euwallaceae* en condiciones de invernadero, no promovió la reproducción de ramas en los cuatro cultivares de aguacate bajo estudio.

La inoculación con *F. euwallaceae* provocó necrosis del tejido en los cuatro cultivares de aguacate, sin embargo, en el cv. Méndez la longitud de dicha necrosis fue hasta dos a cuatro veces menor que en el resto de los cultivares en la zona media y apical del tallo.

El cv. Mexicano tuvo mayor longitud de necrosis por la inoculación con *F. euwallaceae* que en el resto de los cultivares en la zona media y apical del tallo.

## 6. LITERATURA CITADA

APEAJAL, 2018. Asociación de Productores Exportadores de Aguacate de Jalisco, A.C.  
<http://www.congresoaguacate.com/apeajal-1>. fecha de consulta 25 de julio de 2018.

APEAM, 2018. Asociación de Productores y Empacadores Exportadores de Aguacate de México A.C. <http://www.apeamac.com/que-es-apeam/>. (consulta, febrero 2017).

Barnett, H. L. and Hunter B. B. 2006. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. APS Press. New York, USA. 218p.

Barrientos, P. A. F., Muñoz, P. R. B., Reyes, A. J. C., Borys, M. W., Martinez, D. M. T. 2007. Taxonomía, cultivares y portainjertos, pp. 29-62. en: El aguacate y su manejo integrado. Teliz, D., Mora, A. (eds.). Ediciones Mundi-Prensa México, S. A. de C. V., México.

Barrientos-Priego, A. F. 2017. Presente y futuro de los portainjertos y variedades de aguacate en el mundo y México. In: Salazar-García y A.F. Barrientos-Priego (eds.). Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate. Asociación de Productores y Exportadores de Jalisco, A.C. (APEAJAL). 4 al 7 de septiembre. Ciudad Guzmán, Jalisco, México. pp. 2-15.

CAB International. 2015. *Euwallacea fornicatus* Distribution Map. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/57163>.

CAB International. 2019. Datasheet *Fusarium euwallaceae*. En línea: <https://www.cabi.org/cpc/datasheet/30860103>.

Campos-Rojas, E. y Hernández-Barbosa G. 2011. El aguacate (*Persea americana* Mill.), una especie muy mexicana. Agroproductividad año 4. volumen 1. número 1. enero-marzo 2011. Pp. 28 – 35.

Carrillo, D., Cruz, L. F., Kendra, P. E., Narvaez, T. I., Montgomery, W. S., Monterroso, A., De Grave, C., Cooperband M. F. 2016. Distribution, Pest Status and Fungal Associates of *Euwallacea nr. fornicatus* in Florida Avocado Groves. *Insects*. 7(55). doi:10.3390/insects7040055.

Carrillo, J., Rugman-Jones, P., Husein, D., Stajich, J., Kasson, M., Carrillo, D., Stouthamer, R., Eskalen, A. 2019. Members of the *Euwallacea fornicatus* species complex exhibit promiscuous mutualism with ambrosia fungi in Taiwan. *Fungal Genetics and Biology*. 133. 103269. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2019.103269>.

Cenis L. J. 1992. Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. *Nucleic Acids Research* 20(9): 2380. doi: [10.1093/nar/20.9.2380](https://doi.org/10.1093/nar/20.9.2380)

Coleman T.W., Eskalen A, Stouthamer R. 2013. New pest complex in California: The polyphagous shot hole borer, *Euwallacea* sp., and fusarium dieback, *Fusarium euwallaceae*. United States Department of Agriculture. On-line via: [https://cizr.ucr.edu/pdf/pest\\_alert\\_pshb\\_and\\_fd.pdf](https://cizr.ucr.edu/pdf/pest_alert_pshb_and_fd.pdf) (Consulta, enero 2020).

Espíndola B. M. C. 2019. Perspectivas de Nuevas Selecciones de Aguacate en México. En línea: <https://worldavocadocongress.co/wp-content/uploads/2019/11/FULL-TEXT-CONFERENCISTA-Mari%CC%81a-de-la-Cruz-Espi%CC%81ndola-Barquera-Perspectivas-de-Nuevas-Selecciones-de-aguacate-en-Me%CC%81xico.pdf>. (consulta, enero 2020).

Eskalen A. and Stouthamer R. 2011. New Beetle Fungus Disease Complex Threatens Avocado California Avocado Society. Yearbook 94:120-126.

Eskalen A., Gonzalez A., Wang D. H., Twizeyimana M. and Mayorquin J. S. 2012. First report of a *Fusarium* sp. and its vector Tea Shot Hole Borer (*Euwallacea fornicatus*) causing fusarium dieback on avocado in California. Plant Disease 96 (7): 1,070.2 - 1,070.2. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0276-PDN>.

Eskalen A., Stouthamer R., Lynch S. C., Twizeyimana M., Gonzalez A. and Thibault T. 2013. Host range of *Fusarium* dieback and its ambrosia beetle (Coleoptera: Scolytinae) vector in southern California. Plant Dis. 97:938-951. DOI: 10.1094/PDIS-11-12-1026-RE

Eskalen, A., Lynch S.C., Na F., Sugino K., Stouthamer R., Paine T., and Carrillo J. 2014a, Fusarium dieback, an emerging exotic disease/pest complex causing dieback throughout agricultural, urban, and wildland landscapes in Southern California, Topic: Phylogeny, Phylogeography, Biogeography and Epidemiology. 20 p. In: Academic and Technical Workshop on Xyleborus glabratus and Euwallacea sp. Simposio Internacional sobre manejo y control de plagas cuarentenarias en el aguacatero, Realizado en Xalapa, Veracruz, México del 3 al 7 de noviembre de 2014.

Eskalen A., Kabashima J., and Dimson M. 2014b. Polyphagous Shot Hole Borer + Fusarium Dieback Field Identification Guide. University of California. Agricultura and Natural Resources.

FAOSTAT. 2019. "Statistics of crops production by country" Food and Agriculture Organization. [http://www.fao.org/faostat/es/#rankings/countries\\_by\\_commodity](http://www.fao.org/faostat/es/#rankings/countries_by_commodity). (consulta, mayo 2019).

Freeman S., Sharon M., Maymon M., Mendel Z., Protasov A., Aoki T., Eskalen A. and O'Donnell K. 2013. Fusarium euwallaceae sp. nov.—a symbiotic fungus of Euwallacea sp., an invasive ambrosia beetle in Israel and California. Mycologia 105:1595-1606. doi: 10.3852/13-066.

Freeman S., Sharon M., Maymon M., Mendel Z., Protasov A., Margalit O., Mohotti K., O'Donnell K. and Mendel Z. 2014. Occurrence of Fusarium euwallaceae and Graphium

sp. symbiotic fungi within their host trees and their association with their symbiotic beetle, *Euwallacea* nr. *Fornicates*, Topic: Phylogeny, Phylogeography, Biogeography and Epidemiology, 26 p In: Academic and Technical Workshop on *Xyleborus glabratus* and *Euwallacea* sp. Simposio Internacional sobre manejo y control de plagas cuarentenarias en el aguacatero. Realizado en Xalapa, Veracruz, México del 3 al 7 de noviembre de 2014.

Freeman S., Sharon M., Dori-Bachash M., Maymon M., Belausov E., Maoz Y., Margalit O., Protasov A. and Mendel Z. 2016. Symbiotic association of three fungal species throughout the life cycle of the ambrosia beetle *Euwallacea* nr. *fornicatus*. *Symbiosis* 68:115-128. doi:10.1007/s13199-015-0356-9

Gómez D., Skelton J., Steininger M., Stouthamer R., Rugman-Jones P., Sittichaya W., Rabaglia R. and Hulcr J. 2018. Species Delineation Within the *Euwallacea fornicatus* (Coleoptera: Curculionidae) Complex Revealed by Morphometric and Phylogenetic Analyses. *Insect Systematics and Diversity*. 2 (6). Doi: 10.1093/isd/ixy018.

García-Ávila C. J., Trujillo-Arriaga F. J., López-Buenfil J. A., González-Gómez R., Carrillo D., Cruz L. F., Ruiz-Galván I., Quezada-Salinas A. and Acevedo-Reyes N. 2016. First Report of *Euwallacea* nr. *fornicatus* (Coleoptera: Curculionidae) in Mexico. *Florida Entomologist*. 99(3): 555-556. <https://doi.org/10.1653/024.099.0335>

Kasson M. T., O'Donnell K., Rooney A. P., Sink S., Ploetz R. C., Ploetz J. N., Konkol J. L., Carrillo D., Freeman S, Mendel Z, Smith J A, Black A W, Hulcr J, Bateman C, Stefkova K, Campbell P R, Geering A D W, Dann E K, Eskalen A, Mohotti K, Short D P G, Aoki T, Fenstermacher K A, Davis D D, and Geiser D M. 2013. An inordinate fondness for *Fusarium*: Phylogenetic diversity of fusaria cultivated by ambrosia beetles in the genus *Euwallacea* on avocado and other plant hosts. *Fungal Genet. Biol.* 56:147-157. doi: 10.1016/j.fgb.2013.04.004.

Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution.* 35:1547-1549. doi: 10.1093/molbev/msy096.

Lynch S, Twizeyimana M, Wang D H, Mayorquin J S, Na F, Rugman-Jones P, Stouthamer R, Eskalen A. 2014. Current host range distribution and control studies of Polyphagous shot hole borer/*Fusarium* dieback in California, Topic: Phylogeny, Phylogeography, Biogeography and Epidemiology. 22p. In: Academic and Technical Workshop on *Xyleborus glabratus* and *Euwallacea* sp. Simposio Internacional sobre manejo y control de plagas cuarentenarias en el aguacatero. Realizado en Xalapa, Veracruz, México del 3 al 7 de noviembre de 2014.

Lynch S. C., Twizeyimana M., Mayorquin J. S., Wang D. H., Na F., Kayim M., Kasson M. T., Thu P. Q., Bateman C., Rugman-Jones P., Hulcr J., Stouthamer R. and Eskalen A. 2016. Identification, pathogenicity and abundance of *Paracremonium pembeum* sp. nov. and *Graphium euwallaceae* sp. nov.—two newly discovered mycangial associates of the

polyphagous shot hole borer (*Euwallacea* sp.) in California. *Mycologia*, 108(2), 313–329.  
doi:10.3852/15-063

Mijares O. P. y López L. L. 1998. Variedades de aguacate y su producción en México. Memorias Fundación Salvador Sánchez Colín, CICTAMEX. En línea: [http://www.avocadosource.com/Journals/CICTAMEX/CICTAMEX\\_1998/cictamex\\_1998\\_22-32.pdf](http://www.avocadosource.com/Journals/CICTAMEX/CICTAMEX_1998/cictamex_1998_22-32.pdf) Fecha de consulta: 26 de julio de 2018.

Moreno K., Carrillo J. D., Trouillas F. P. and Eskalen A. 2017. Almond (*Prunus dulcis*) is Susceptible to Fusarium Dieback-Shot Hole Borer Disease Complex. *Plant Disease* 2018 102:1, 251-251. doi: 10.1094/PDIS-07-17-1110-PDN.

Na F., Carrillo J. D., Mayorquín J. S., Ndinga-Muniania C., Stajich J. E., Stouthamer R., Huang Y. T., Lin Y. T., Chen C.Y., Eskalen A. 2018. Two Novel Fungal Symbionts *Fusarium kuroshium* sp. nov. and *Graphium kuroshium* sp. nov. of Kuroshio Shot Hole Borer (*Euwallacea* sp. nr. *forficatus*) Cause Fusarium Dieback on Woody Host Species in California. *Plant Disease* 2018 102:6, 1154-1164. doi: 10.1094/PDIS-07-17-1042-RE.

NAPPO Organización Norteamericana de Protección a las Plantas. 2016. Detección del escarabajo barrenador *Euwallacea* sp. y su hongo simbiote *Fusarium euwallaceae*, en zonas urbanas de Tijuana, Baja California, México. <https://www.pestalerts.org/espanol/oprDetail.cfm?oprID=680>. (consulta, mayo 2019).

O'Donnell K., Sink S., Ran Libeskind-Hadas R., Hulcr J., Kasson M. T., Ploetz C. R., Konkol J. L., Ploetz J. N., Carrillo D., Campbell A., Duncan E. R., Liyanage N. H. P., Eskalen A., Na, F., David, M., Geiser, M. D., Bateman, C., Freeman, S., Mendel, Z., Sharon, M., Aoki, T., Cossé A. A. and Rooney P. A. 2014. Discordant phylogenies suggest repeated host shifts in the *Fusarium*–*Euwallacea* ambrosia beetle mutualism. *Fungal Genetics and Biology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2014.10.014>

Rincón-Hernández C. A., Sánchez P. J. L. y Espinosa-García F. J. 2011. Foliar chemical characterization of the creole avocado trees (*Persea americana* var. *drymifolia*) in the germplasm banks from Michoacán, Mexico. *Revista mexicana de biodiversidad* 82 (2): 395-412.

Rocha-Arroyo J. L., Salazar-García S., Bárcenas-Ortega A. E., González-Durán I. J. L. y Cossio-Vargas L. E. 2011. Fenología del aguacate 'Hass' en Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2(3):303-316.

SAGARPA Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2012. Plan Rector Nacional Sistema Producto Aguacate. [http://dev.pue.itesm.mx/sagarpa/nacionales/EXP\\_CNSP\\_AGUACATE/PLAN%20RECTOR%20QUE%20CONTIENE%20PROGRAMA%20DE%20TRABAJO%202012/PR\\_CNSP\\_AGUACATE\\_2012.pdf](http://dev.pue.itesm.mx/sagarpa/nacionales/EXP_CNSP_AGUACATE/PLAN%20RECTOR%20QUE%20CONTIENE%20PROGRAMA%20DE%20TRABAJO%202012/PR_CNSP_AGUACATE_2012.pdf).

SAGARPA, 2014. Refuerzan protección a exportación de aguacate. En línea: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/michoacan/boletines/Paginas/B0502014.aspx> (consulta, enero 2019).

Salazar-García S., Ibarra-Estrada M. E., Álvarez-Bravo A. y González-Valdivia J. 2017. Determinación irreversible a la floración del aguacate 'Méndez' en el sur de Jalisco, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 19: 3923-3938p.

Sánchez G. 2007. El cluster del aguacate de Michoacán. Sistema de Inteligencia de Mercados. Morelia: Fundación Produce Michoacán.

SENASICA. 2019. Complejo Escarabajo Barrenador Polífago (*Euwallacea* sp. –*Fusarium euwallaceae*). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria- Dirección General de Sanidad Vegetal-Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. Ciudad de México. Fecha de la última actualización: marzo de 2019. Ficha Técnica No 62. 20 p.

Short D. P., O'Donnell K., Stajich J. E., Hulcr J., Kijimoto T., Berger M. C., Macias A. M., Spahr E. J., Bateman C. C., Eskalen A. and Lynch S. C. 2017. PCR multiplexes discriminate *Fusarium* symbionts of invasive *Euwallacea* ambrosia beetles that inflict damage on numerous tree species throughout the United States. *Plant Dis.* 101: 233-240p. <http://dx.doi.org/10.1094%2FPDIS-07-16-1046-RE>

SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2019. Cierre de producción agrícola por cultivo. Ciclo agrícola 2017. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/> (consulta, abril 2019).

Stouthamer R., Rugman-Jones P., Thu P. Q., Eskalen A., Thibault T., Hulcr J., Wang L. J., Jordal B. H., Chen C. Y., Cooperband M. and Lin C. S. 2017. Tracing the origin of a cryptic invader: phylogeography of the *Euwallacea fornicatus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) species complex. *Agric. For. Entomol.* 19: 366-375p. <https://doi.org/10.1111/afe.12215>

Tamura K., Nei M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023.

Toussoun T. A., Nelson P. E. y Marasas W. F. 1983. A Pictorial Guide to the Identification of *Fusarium* species. Second Ed. The Pennsylvania State University Press.

TRADE MAP, 2019. Estadísticas del comercio para el desarrollo internacional de las empresas. Datos comerciales mensuales, trimestrales y anuales. Valores de importación y exportación, volúmenes, tasas de crecimiento, cuotas de mercado, etc. <http://www.trademap.org/Index.aspx>. (consulta, mayo 2019).

Tuffen M., Baker R., Eyre D., Korycinska A., and Parkinson N. 2014. Rapid Pest Risk Analysis (PRA) for Polyphagous Shot Hole Borer (*Euwallacea* sp.) and *Fusarium* Dieback (*Fusarium euwallaceae*). The Food and Environment Research Agency del Department for Environmental Food and Rural Affairs de Gran Bretaña.

Van den Berg N., du Toit M., Morgan S. W., Fourie G. and De Beer Z.W. 2019. First Report of *Fusarium euwallaceae* on *Persea americana* in South Africa. *Plant Disease*. 3 pp. En línea: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS-10-18-1818-PDN> Fecha de consulta: mayo de 2019.

Zervakis G., Venturella G., Fryssouli V., Inglese P., Polemis E. and Gargano M. 2018. *Pleurotus opuntiae* revisited – An insight to the phylogeny of dimitic *Pleurotus* species with emphasis on the *P. djamor* complex. *Fungal Biology*. 123. doi:10.1016/j.funbio.2018.12.005.

## 7. ANEXOS:

Extensión de necrosis en los cultivares de aguacate inoculados con *F. euwallaceae*:

Cv. Flor de María



LNB con *F. euwallaceae*



LNM con *F. euwallaceae*



LNA con *F. euwallaceae*



LNB sin *F. euwallaceae*



LNM sin *F. euwallaceae*



LNA sin *F. euwallaceae*

Cv. Méndez



LNB con *F. euwallaceae*

LNM con *F. euwallaceae*

LNA con *F. euwallaceae*



LNB sin *F. euwallaceae*



LNM sin *F. euwallaceae*



LNA sin *F. euwallaceae*

Cv. Hass



LNB con *F. euwallaceae*



LNM con *F. euwallaceae*



LNA con *F. euwallaceae*



LNB sin *F. euwallaceae*



LNM sin *F. euwallaceae*



LNA sin *F. euwallaceae*

Portainjerto mexicano



LNB con *F. euwallaceae*



LNM con *F. euwallaceae*



LNA con *F. euwallaceae*



LNB sin *F. euwallaceae*



LNM sin *F. euwallaceae*



LNA sin *F. euwallaceae*