



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

ETIOLOGÍA DE LOS CANCROS EN RAMAS Y TRONCOS DE *Prunus persica* L. Batsch EN MÉXICO

TESIS

Que como requisito parcial para
obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

ALBERTO LOBATO CADENA

Bajo la supervisión de: DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

Chapingo, Estado de México, mayo de 2025

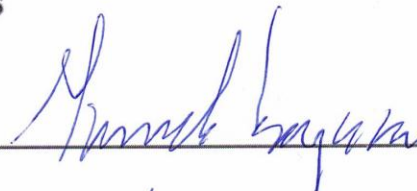


**ETIOLOGÍA DE LOS CANCROS EN RAMAS Y TRONCOS DE *Prunus persica* L.
Batsch EN MÉXICO**

Tesis realizada por (ALBERTO LOBATO CADENA) bajo la supervisión del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

DIRECTOR: DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR



ASESORA: DRA. ISABEL NATIVITAS LIMA



ASESOR: DR. MATEO VARGAS HERNANDEZ



Contenido

1. REVISIÓN DE LITERATURA	18
1.1. Descripción general del cultivo	18
1.2. Clasificación taxonómica, características botánicas y morfológicas	18
1.2.1. Clasificación Taxonómica	18
1.2.2. Características botánicas y morfológicas	19
1.3. Importancia del cultivo	20
1.3.1. Importancia a nivel mundial	20
1.3.2. Importancia a nivel nacional.....	20
1.4. Principales enfermedades causadas por hongos en durazno.....	21
1.4.1. <i>Wilsonomyces carpophilus</i> (<i>Coryneum beijerinckii</i>) - Tiro de munición	21
1.4.2. <i>Monilinia fruticola</i> - Pudrición café	22
1.4.3. <i>Podosphaera pannosa</i> – Mildiú	22
1.4.4. <i>Taphrina deformans</i> – Verrucosis	23
1.4.5. <i>Tranzchelia discolor</i> – Roya.....	24
1.5. Descripción de las enfermedades de estudio	25
1.5.1. <i>Cytospora leucostoma</i> – Cáncer por <i>Cytospora</i>	25
1.5.2. <i>Didymella</i> spp.	27
1.5.3. <i>Nothophoma quercina</i>	29
1.5.4. <i>Biscogniauxia mediterránea</i>	30

1.6. LITERATURA CITADA	33
2. IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE CANCRO EN ÁRBOLES DE DURAZNO EN TEPEYAHUALCO, PUEBLA	37
2.1. INTRODUCCIÓN	39
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS	40
2.2.1. Obtención de muestras.....	40
2.2.2. Aislamiento e identificación morfológica del patógeno	40
2.2.3. Identificación molecular	41
2.2.4. Patogenicidad de cancro en diferentes variedades de durazno	43
2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
2.3.1. Caracterización morfológica de los aislamientos	44
2.3.2. Caracterización molecular	44
2.3.3. Pruebas de patogenicidad de cancro en diferentes variedades de durazno.....	46
2.4. CONCLUSIÓN.....	49
2.5. LITERATURA CITADA	50
3. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE CANCROS EN ÁRBOLES DE DURAZNO (<i>Prunus persica</i> L. Batsch) EN PUEBLA, MICHOACÁN, CHIHUAHUA Y ESTADO DE MÉXICO.	51
3.1. INTRODUCCIÓN	53
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	54

3.2.1.	Obtención de muestras.....	54
3.2.2.	Identificación morfológica del patógeno y pruebas con diferentes medios de cultivo de medios de cultivo.....	55
3.2.3.	Identificación molecular	55
3.2.4.	Postulados de Koch de las cepas obtenidas en durazno	57
3.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
3.3.1.	Caracterización morfológica y molecular de las cepas obtenidas en Michoacán	58
3.3.2.	Caracterización morfológica y molecular de las cepas obtenidas en Chihuahua 60	
3.3.3.	Caracterización morfológica y molecular de las cepas obtenidas en el Estado de México	68
3.3.4.	Postulados de Koch de diferentes cepas de cancro en durazno en laboratorio 70	
3.3.5.	Tasa de crecimiento con diferentes medios de cultivo	72
3.3.6.	Comparación de análisis de medias relación medio de cultivo por día.....	75
3.4.	CONCLUSIÓN.....	80
3.5.	LITERATURA CITADA	81

Lista de cuadros

Cuadro 1. Severidad de *Cytospora leucostoma* en diferentes variedades comerciales de durazno en Tepeyahualco, Puebla en 2024

Cuadro 2. Comparación de la virulencia en ramas por las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México en laboratorio en 2024.

Cuadro 3. Tasas de crecimiento de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con diferentes medios de cultivo in vitro (Ensayo I)

Cuadro 4. Tasas de crecimiento de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con diferentes medios de cultivo in vitro (Ensayo II)

Cuadro 5. Crecimiento micelial de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con medio MEA in vitro durante trece días de evaluación (Ensayo I)

Cuadro 6. Crecimiento micelial de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con medio PDA in vitro durante trece días de evaluación (Ensayo I)

Cuadro 7. Crecimiento micelial de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con medio MEA in vitro durante trece días de evaluación (Ensayo II)

Cuadro 8. Crecimiento micelial de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con medio PDA in vitro durante trece días de evaluación (Ensayo II)

Lista de figuras

Figura 1.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Cytospora leucostoma* cepa 1.

Figura 2.- Pruebas de patogenicidad en campo en 6 variedades de durazno, A) Arkanzas. B) Atlax. C) F-70. D) Magno-100. E) Diamante mejorado. F) Rocío en Tepeyahualco, Puebla en 2024.

Figura 3.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Didymella glomerata* cepa 1.

Figura 4.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Didymella glomerata* cepa 2

Figura 5.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Nothophoma quercina* cepa 1

Figura 6.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Nothophoma quercina* cepa 2.

Figura 7.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Biscogniauxia mediterranea* cepa 1.

Figura 8.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Biscogniauxia mediterranea* cepa 2

Figura 9.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Cytospora leucostoma* cepa 2

Figura 10.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Cytospora leucostoma* cepa 3

Figura 11.- Pruebas de patogenicidad en laboratorio. A) Testigo, B) C1P, C) D1M, D) D2M, E) N1Ch, F) N2Ch, G) B1Ch, H) B2Ch, I) C2Ch, J) C3Ch.

Dedicatorias

A mis padres **Magdalena Luisa Cadena Carreto** y **Ramón Lobato Silva**, por los valores que me enseñaron, por confiar en mí, por su amor incondicional y apoyo moral. Por alentarme a superarme y salir adelante pese a las pruebas que enfrentamos en la vida.

A mi verdadero amor, **Imelda Rueda López**, por tener fe en mí, su apoyo incondicional, su confianza, su paciencia, su motivación constante y su grandioso amor.

A mis hijos, **Melissa Lobato Rueda** y **Dante Lobato Rueda**, quienes son mi mayor inspiración y fortaleza para seguir superándome cada día, llenando mi vida de amor y luz.

A mis hermanos **Ramón Lobato Cadena**, **Verónica Lobato Cadena** y **Bella Evelyn Aguilar Cadena[†]** por su tiempo, apoyo, afecto y convivencias

Agradecimientos

A **Dios**, por permitirme culminar esta etapa de mi vida profesional.

A la **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)**, por el apoyo financiero brindado, que hizo posible la realización de esta investigación y la obtención del grado de maestro en ciencias.

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, por brindarme una formación académica de calidad y contar con catedráticos que han compartido generosamente su conocimiento.

Al Posgrado de **Protección Vegetal**, por proporcionarme las herramientas indispensables para avanzar en mi formación académica.

Al **Dr. Santos Gerardo Leyva Mir**, por sus valiosos consejos que enriquecieron esta investigación y por el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis.

A la **Dra. Isabel Nativitas Lima**, por compartir los conocimientos necesarios para desarrollar mis actividades en el laboratorio de Micología, así como por su disposición, apoyo y atenciones durante la realización de este trabajo.

Al **Dr. Mateo Vargas Hernández**, por sus observaciones, consejos y enseñanzas durante el proceso de esta investigación.

Al **Dr. Moisés Camacho Tapia**, por su apoyo en los procesos de extracción molecular, fundamentales para completar mi investigación.

Datos biográficos



Alberto Lobato Cadena

Nació en Texcoco, Estado de México, México el 3 de mayo de 1992. Realizó sus estudios nivel medio superior entre 2010 a 2014 en la Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, posteriormente ingresó a la Licenciatura en Agronomía en Horticultura Protegida en 2014 concluyendo en el 2019 en la Universidad Autónoma Chapingo. Para el año 2020 fue Asesor Técnico Comercial en Grupo Nitromex donde terminó la relación laboral en el 2022.

Para ingresar en el 2023 al Programa de la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal de la Universidad Autónoma Chapingo, los cuales finaliza en diciembre del año 2024.

ETIOLOGÍA DE LOS CANCROS EN RAMAS Y TRONCOS DE *Prunus persica* L. Batsch EN MÉXICO

Resumen

El durazno es un frutal con gran importancia económica, debido a su alto consumo y demanda nacional. En el año 2023, la producción fue de 258 mil toneladas, obtenidas en una superficie cosechada de 34,607 hectáreas, siendo Zacatecas, Michoacán, Chihuahua, Puebla y Estado de México los principales estados productores, con un 78% de la producción. El diagnóstico de enfermedades es de importancia para los productores, porque permite prevenir y reducir la proliferación de las enfermedades. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación es determinar los agentes causales del cancro en durazno en México. Durante los años 2023 y 2024, se realizaron colectas de muestras con síntomas típicos de cancro en huertas de Puebla, Michoacán, Chihuahua y Estado de México. Las muestras, se desinfestaron, se sembraron en medio agar dextrosa y papa y malta, posteriormente se incubaron a temperatura ambiente durante 24 h. Se realizó la purificación de las cepas mediante la técnica de punta de hifa, después de siete días se realizó la identificación morfológica y molecular, pruebas de patogenicidad en diferentes variedades y evaluación de la tasa de crecimiento de todas las cepas obtenidas. Se confirmó la patogenicidad de las cepas en ramas de durazno en campo y laboratorio. Los resultados indican que los agentes causales responsables de los cancos en durazno fueron *Cytospora leucostoma*, *Didymella glomerata*, *Nothophoma quercina* y *Biscogniauxia mediterranea*.

Palabras clave: Hongos fitopatógenos, molecular, frutas de hueso, severidad, patogenicidad.

Tesis de Maestría en Protección Vegetal, Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Alberto Lobato Cadena.

Director de tesis: Santos Gerardo Leyva Mir.

ETIOLOGY OF CANKERS ON BRANCHES AND TRUNKS OF *PRUNUS PERSICA*

L. BATSCH IN MEXICO

Abstract

Peach is a fruit tree of great economic importance due to its high national consumption and demand. In 2023, production reached 258,000 tons, obtained from harvested area of 34,607 hectares. The main producing states were Zacatecas, Michoacán, Chihuahua, Puebla and the State of Mexico, accounting for 78% of the total production. Disease diagnosis is important for growers, as it allows them to prevention and reduce the spread of diseases. Therefore, the objective of this research is to identify the causal agents of canker in peach trees in Mexico. During 2023 and 2024, samples showing typical canker symptoms were collected from orchards in Puebla, Michoacán, Chihuahua, and the State of Mexico. The samples were disinfected and cultured on potato dextrose agar and malt extract agar media, then incubated at room temperature for 24 hours. Strain purification was performed, as well as using the hyphal tip technique. After seven days, morphological and molecular identification was performed as well as pathogenicity tests on different varieties and an evaluation of the growth rate of all isolated strains. The pathogenicity of the strains was confirmed on peach branches both in the field and in the laboratory. The results indicate that the causal agents responsible for peach cankers were *Cytospora leucostoma*, *Didymella glomerata*, *Nothophoma quercina*, and *Biscogniauxia mediterranea*.

Key words: Phytopathogenic fungi, molecular, stone fruits, severity, pathogenicity.

Master's Thesis in Plant Protection, Department of Agricultural Parasitology, Autonomous University of Chapingo.

Author: Alberto Lobato Cadena.

Thesis Director: Santos Gerardo Leyva Mir.

Introducción general

Los árboles frutales y forestales nos ofrecen varios servicios ecosistémicos como la provisión de agua, purificación del aire, ornamentales. Además, que capturan carbono, evitan la erosión del suelo y contribuyen a la disminución del cambio climático (Comisión Nacional Forestal, 2019). En la agricultura los árboles frutales albergan sistemas de producciones los cuales son indispensables ya que estos tienen diferentes usos como alimenticios, medicinales, de cobertura, entre otros (de Oca *et al.*, 2021). A pesar de que los cultivos frutícolas tuvieron lugar varios años después que los cereales y legumbres, no tendríamos que menospreciar su calidad como fuente de alimento en la antigüedad (Goldschmidt, 2013).

En zonas templadas el cultivo de durazno es el segundo más producido después de la manzana. En la actualidad China es el mayor productor de durazno y destina la mayor parte a su mercado interno. Las principales operaciones para el manejo de este frutal son la poda, aclareo y cosecha, sin embargo, estas actividades requieren de mucha mano de obra ya que todas estas se hacen de forma manual, por lo tanto, el mayor costo de producción se invierte en estas actividades. Aunado a esto, el aumento de los costos laborales y de la escasez de mano de obra ha provocado una reducción en los márgenes de ganancias de los productores y una reducción de las áreas del cultivo en muchos países del mundo. Tanto instituciones públicas como privadas han realizado investigaciones para el mejoramiento del durazno, donde se han centrado en características cualitativas como tamaño, apariencia, calidad y resistencia a factores externos; también se ha buscado que posean resistencia a enfermedades como mildiú polvoriento, podredumbre parda, mancha bacteriana, virus de la viruela de la ciruela, cancro en ramas y tallos (Manganaris *et al.*, 2022).

El cancro del durazno también es conocido como cancro perenne y cancro de Valsa es una enfermedad fungosa que afecta frecuentemente huertos productivos de chabacanos, ciruelos y cerezos. Esta enfermedad ingresa al árbol a través de heridas causando la muerte de ramas jóvenes y viejas reduciendo los rendimientos (Ellis, 2016).

JUSTIFICACIÓN

El durazno es un frutal ampliamente producido y consumido en varias regiones del mundo, lo que lo convierte en un cultivo de importancia económica y nutricional. Las enfermedades por hongo fitopatógenos que provocan canchros en ramas y tallos en los duraznos causan daños devastadores en las zonas productoras, lo que provoca una reducción de la vida útil de los árboles, con ello se reduce el rendimiento y, por tanto, pérdidas económicas significativas para los agricultores. Los canchros derivados por hongos disminuyen la resistencia de los árboles, lo que los hace más susceptibles al ataque de otras enfermedades y plagas, así como a condiciones ambientales adversas. Es necesario comprender y manejar eficazmente estas enfermedades para garantizar la seguridad económica de los productores y mantener un suministro estable de la fruta para los consumidores.

Una orientación integral en la investigación y el manejo de estas enfermedades es esencial para mitigar sus impactos negativos y promover la sostenibilidad en la producción de duraznos a nivel mundial.

OBJETIVOS

General

Determinar los agentes causales de cancro en el cultivo de durazno en los estados de Puebla, Michoacán, Chihuahua y Estado de México, México. Hacer pruebas de patogenicidad de del agente causal en diferentes variedades comerciales en Puebla.

Específicos

Realizar muestreos en los estados representativos de durazno en México y aislar el hongo a partir de cancro en ramas de durazno.

Identificar morfológica y molecularmente los hongos aislados.

Hacer las pruebas de patogenicidad.

Evaluación de diferentes medios de cultivo y tasas de crecimiento de las cepas obtenidas en Puebla, Michoacán, Chihuahua y Estado de México.

1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1.Descripción general del cultivo

La especie *Prunus persica* o conocido comúnmente como durazno es un frutal originario de China, donde fue domesticado desde hace más de 3,000 años. Posteriormente este frutal se introdujo a climas templados y subtropicales en el continente asiático, después de 2000 años se extendió en Persia por la ruta de la seda y desde ahí se dispersó por toda Europa, posteriormente exploradores españoles y portugueses lo llevaron al continente americano (Byrne *et al.*, 2012).

El durazno se desarrolla en climas templados, sin embargo, a diferencia de varias frutas del mismo clima este se ha adaptado a climas más cálidos. De acuerdo de la distribución geográfica las variedades de durazno se pueden clasificar en tres grupos: norte, sur y europea o persa, además dependiendo de sus requerimientos de acumulación de horas frío, estas se pueden dividir en dos grupos: de alto y bajo frío (Rajasekharan & Rao, 2024).

Esta larga domesticación a través de los años y mejoras obtenidas con prácticas ha hecho que este frutal se considere como un sistema de modelo para estudiar la relación entre plantas y medio ambiente (Cao *et al.*, 2021).

1.2.Clasificación taxonómica, características botánicas y morfológicas

1.2.1. Clasificación Taxonómica

Clasificación Taxonómica

Dominio	Eukariota
---------	-----------

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Angiospermae
Categoría	Fabids
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Subfamilia	Spiraeoideae
Género	<i>Prunus</i>
Especie	<i>Prunus persica</i>

(EPPO Global Database, 2025)

1.2.2. Características botánicas y morfológicas

El árbol es de tamaño pequeño a mediano, posee una estructura erguida y extendida, el sistema radicular es profundo. Las hojas son lanceoladas, acuminadas, glabras, sésiles o de peciolo corto, con el haz brillante y claras por el envés. Sus flores son individuales, sésiles o de peciolo corto, estas brotan antes que las hojas en tallos rosados los cuales tiene un año. Los frutos son similares a una drupa son redondos con textura suave y su piel es aterciopelada con una coloración amarilla a roja, mientras que la pulpa puede ser blanca o amarilla y con un hueso (Rajasekharan & Rao, 2024).

1.3. Importancia del cultivo

1.3.1. Importancia a nivel mundial

Los principales 10 países productores de durazno son China, España, Turquía, Italia, Estados Unidos de América, Irán, Grecia, Chile, México y Egipto. Este frutal ocupa aproximadamente 1,561,641 ha en el mundo, de las cuales se obtienen 27,077,873 t anuales. El principal país productor es China con 17,500,000 t, aportando el 65% de la producción mundial (FAOSTAT, 2023).

España es el que lidera la producción de durazno para el continente europeo con una cifra de 1,381,780 t, seguido de Turquía con 1,076,852 t, Italia con 1,033,840 t y Grecia con 574,780 t. Asimismo, en América, Estados Unidos es el país con mayor producción, 665,910 t continuando Chile con 304,036 t y México con 257,774 t (FAOSTAT, 2023).

1.3.2. Importancia a nivel nacional

En México se cultivan 34,279 ha de durazno, que producen 257,774 t anualmente con un rendimiento promedio de 8 t·ha⁻¹. La producción de durazno en México se lleva a cabo en 26 entidades federativas. Los principales estados productores son Zacatecas, Michoacán, Chihuahua, Puebla, y el Estado de México, que en conjunto aportan el 78% de la producción nacional. El promedio de consumo nacional de durazno por persona es de 2.1 kg al año, lo anterior de muestra el alto potencial del campo mexicano (SIAP, 2023).

El durazno es un fruto estacional con alto precio en el mercado, en los estados productores por ejemplo Zacatecas varía entre 50 a 70 pesos para el consumidor final, sin embargo, en

otros lugares como la Ciudad de México y Área Metropolitana el precio puede alcanzar hasta los 100 pesos (PROFECO, 2025).

Este frutal se cultiva en aproximadamente toda la región del país, en ambientes que difieren en altitud, temperatura y condiciones hídricas, además sólo hay un ciclo de producción ya sea en temporal o con sistema de riego. La vida comercial de un árbol de durazno es alrededor de de 15 años, esto depende del manejo cultural que tenga la huerta; cabe mencionar que requiere de una gran inversión inicial, que por lo regular se puede recuperar en las ventas que se den de la producción. Por otra parte, genera empleo desde las podas hasta la cosecha, además cuando se comercia induce el arraigo de los productores, promueve la conservación del suelo (Aguilar *et al.*, 2019).

1.4.Principales enfermedades causadas por hongos en durazno

1.4.1. *Wilsonomyces carpophilus (Coryneum beijerinckii)* - Tiro de munición

La enfermedad dada por *Wilsonomyces carpophilus* puede estar presente en frutas de hueso a nivel global, pero se encuentra con frecuencia en las huertas productoras de durazno al oeste de Estados Unidos (Adaskaveg *et al.*, 2023). Este hongo también se encuentra presente en todas las superficies productoras de México, logra proliferar tanto en climas húmedos y secos; puede provocar mermas de hasta el 70% (Santoyo *et al.*, 2013). Los frutos dejan de ser comerciales al ser dañados por el patógeno, por lo tanto, es de suma importancia hacer un tratamiento preventivo a las huertas (Adaskaveg *et al.*, 2023). En las hojas se forman manchas pequeñas con una coloración purpura que después cambia a marrón claro, con el tiempo pueden ir aumentando de tamaño. Dichas lesiones se rodean con una tonalidad de color verde amarillento; por otra parte, el tejido que se encuentra en el centro con coloración

marrón se caerá, desarrollando un síntoma de agujero, siendo así el nombre con el que se le conoce comúnmente “tiro de munición” (Luo *et al.*, 2022).

1.4.2. *Monilinia fruticola* - Pudrición café

La pudrición café en durazno puede ser provocada por varias especies del género *Monilinia*, se estima que *M. fruticola* es la especie que predomina en Asia, Europa y América, además es posible que sea la enfermedad con mayor importancia en los duraznos en el mundo (Luo *et al.*, 2022). Las pérdidas son grandes en países como Estados Unidos y Canadá. En México se ha encuentra en estados productores como Zacatecas, Puebla, Michoacán y Morelos (Santoyo *et al.*, 2013). Este patógeno puede provocar varios síntomas en el árbol como tizones en la flor, la infección en ramas puede generar muerte descendente, por otro lado, los brotes llegan desarrollar canchales y producción de goma cuando ya están infectados. *M. fruticola* daña rápidamente los frutos con lesiones circulares de color marrón, después la fruta empieza a arrugarse formando lo que comúnmente se conoce como momias de la fruta (Luo *et al.*, 2022).

1.4.3. *Podosphaera pannosa* – Mildiú

El mildiú polvoriento que afecta al durazno y las nectarinas está presente en el mundo, sin embargo, puede provocar más daños en climas semiáridos. Esta enfermedad es originada por varios de hongos de las cuales se han identificado tres especies en durazno, *Podosphaera pannosa* siendo el más importante, *Podosphaera leucotricha* es menos común y *Podosphaera clandestina* ha sido reportado en plántulas de durazno en el este de los Estados Unidos. Las especies *P. pannosa* y *P. leucotricha* al afectar el fruto provocan grandes daños

económicos (Adaskaveg *et al.*, 2023). En México se ha encontrado en superficies productoras del centro del país, cabe mencionar que de igual forma afecta a otros cultivos como los almendros, manzanos y rosales (Santoyo *et al.*, 2013). En las áreas infectadas de los duraznos como las hojas, se desarrolla un síntoma como una cubierta blanquecina polvorienta en forma de telarañas que con el tiempo se torna color marrón. En los frutos jóvenes las manchas de color blanco y circulares se van agrandando y después de un tiempo cambian a una tonalidad naranja opaco, que visualmente se puede ver un aspecto oxidativo el cual es característico de *P. leucotricha* (Luo *et al.*, 2022).

1.4.4. *Taphrina deformans* – Verrucosis

La verrucosis es considerada una enfermedad cosmopolita y se da en todos los lugares donde se establecen cultivos de duraznos. Datos históricos han publicado pérdidas económicas después del invierno y primavera con condiciones de altas precipitaciones por otra parte, si las huertas llevan un buen programa de aplicaciones para controlar el patógeno las pérdidas pueden ser significativas en las huertas productoras. En climas templados el hongo puede estar presente de manera constante, pero proliferación tiene a ser más errática en su mayoría las áreas de producción (Adaskaveg *et al.*, 2023). En México puede hallarse en muchas zonas productoras, pero zonas con climas calientes o secos no se ha identificado (Santoyo *et al.*, 2013).

El agente causal responsable de esta enfermedad es *Taphrina deformans*, puede invernar en la superficie de las ramas del durazno. Este hongo puede dañar las flores, frutos, hojas y brotes, pero el síntoma característico se puede ver en el follaje del árbol, donde las hojas sufren un enrollamiento y se tornan con una coloración rojiza, en climas fríos con humedad

las hojas se desarrollan más lento y puede alargar el síntoma de la enfermedad, esto puede reducir la producción de frutos ya que ya las hojas no son efectivamente fotosintéticas (Luo *et al.*, 2022).

1.4.5. *Tranzschelia discolor* – Roya

Hay 2 agentes causales de la roya en durazno que pertenecen al género biotrófico *Tranzschelia*; *T. discolor* que se presenta en todo el mundo y *T. pruni-spinosae* la cual se ha reportado principalmente en Europa y al centro y este de Estados Unidos.

Se distribuye en climas templados y puede dañar tanto hojas, frutos y tallos. Su incidencia se ve favorecida en huertas de duraznos en crecimiento con excesiva humedad. El hongo además de infectar frutos y hojas puede propagarse en el tallo el cual sirve como inóculo primario de esta enfermedad. (Adaskaveg *et al.*, 2023). Los síntomas iniciales se pueden apreciar en primavera con manchas pálidas y cloróticas tanto en el haz como en el envés de la hoja, que posteriormente evolucionan a lesiones angulares de un color amarillo brillante (Luo *et al.*, 2022).

En el haz de la hoja donde se forman pustulas de color amarillento claro, delimitadas por las nervaduras y dispersas de forma irregular. Las ramitas ya infectadas se les puede notar una hinchazón con aspecto húmedo, las áreas afectadas tienen a agrietarse. Los frutos pueden presentar manchas circulares de con una tonalidad de color verde y en estas se generan hendiduras cuando el fruto alcanza su madurez (Santoyo *et al.*, 2013).

1.5.Descripción de las enfermedades de estudio

1.5.1. *Cytospora leucostoma* – Cáncer por *Cytospora*

La importancia de este patógeno radica en la pérdida del rendimiento anual, representando un 15 al 20% en las huertas de durazno, además que reduce la vida a la mitad la vida comercial de los árboles de durazno (Miller *et al.*, 2019). El cáncer provocado por el género *Cytospora* en frutales de hueso se puede hallar a partir en el este de Asia llegando a Europa, se presenta por todo Canadá y también en Estados Unidos (Vasilyeva *et al.*, 2000). En México solo se ha reportado en Chihuahua por Juárez & Téliz en (1983). *Cytospora leucostoma* puede infectar ramas pequeñas y grandes de los árboles e induce una muerte descendente desde el crecimiento apical hasta ramas principales y del tallo. Este hongo da origen a estructuras compuestas por un picnidio al centro que produce conidios hialinos. (Adaskaveg *et al.*, 2023). La formación de picnidios se da en los canchales que se encuentran en ramitas y ramas muertas, generalmente aparecen en un periodo de 2 a 3 semanas e incluso en 6 meses en cortezas muertas. El color de los picnidios es negro por la superficie y de color gris a marrón grisáceo en la parte interna. Cuando se forman los picnidios por primera vez se puede apreciar una hinchazón del tamaño de la cabeza de un alfiler, cuando se rompe queda expuesto el disco del estroma el cual tiene un aspecto de color blanco escarchado. Además, los picnidios al estar maduros y en condiciones de humedad extruyen cirros con una tonalidad anaranjada. Los peritecios son las estructuras reproductivas sexuales estos que contienen ascosporas su formación tarda entre 2 a 3 años después de la inoculación de los picnidios (Biggs & Grove, 2005).

El brote epidémico de este patógeno ocurre solo si el huésped es susceptible a la infección a través de heridas mecánicas o por condiciones ambientales. En temporada de latencia el

hongo puede ingresar a través de cicatrices de hojas o yemas muertas, además las nuevas infecciones se generan en las heridas por podas. Los cortes de podas promueven la susceptibilidad si se efectúan al iniciar la temporada de inactividad, sin embargo, las podas realizadas en primavera también llegan a infectarse. La necrosis inicia cuando las temperaturas oscilan de 14 a 20 °C, pero la expansión de la lesión se ve reducida por la respuesta de defensa del huésped. Las temperaturas frías que van desde 2 a 8 °C, harán que la incidencia sea más lenta, por otra parte, la superficie afectada por la colonia será mayor y las defensas del huésped estarán limitadas. Estos canchros tienden a ser de menor tamaño conforme aumente los días que tengan temperaturas superiores a los 10 °C. Las nuevas infecciones tienen conidios como inóculo principal. A finales de otoño y principios de primavera puede haber un ambiente fresco y húmedo, siendo condiciones favorables para los conidios, sin embargo, están presentes en todo el año, dependiendo de las precipitaciones. La dispersión de los conidios a corto plazo y localizada se ve favorecida cuando hay lluvia acompañada por viento y en sistemas de riego por aspersión, ya que promueven la salpicadura de gotas (Biggs & Grove, 2005).

El manejo para esta enfermedad requiere un plan integrado de buenas prácticas culturales y de manejo de plagas (Gauthier *et al.*, 2021). La incidencia del patógeno se puede mantener al mínimo haciendo labores culturales como pintar la base de los troncos con pintura blanca de látex al 100%, ya que evita las quemaduras solares, de igual manera los árboles deben plantarse en suelos que no arcillosos pesados o de poca profundidad, con la finalidad de evitar el estrés por humedad y pérdida de nutrientes. En algunas regiones aplicar aceites en aerosol han dado resultado positivo contra lesiones por frío, de igual manera la aplicación de selladores que contienen fungicidas durante la poda controla la incidencia de la enfermedad. Los canchros pequeños pueden eliminarse cuando el tamaño sea menor a la mitad del ancho

de la rama con la finalidad de para prevenir o retrasar la incidencia y la muerte del frutal. (Miller et al., 2019, 2021).

1.5.2. *Didymella* spp.

Establecida en 2009, la familia Didymellaceae, engloba una amplia gama de hongos fitopatógenos de distribución cosmopolita con importancia económica ya que sus hospederos son plantas y árboles de interés agrícola, Incluyen géneros *Ascochyta*, *Didymella* y *Phoma* (Deb et al., 2020). En países como Croacia, Grecia, Italia y España ha sido reportada y ha provocado daños económicos (Salmaninezhad et al., 2022). Las especies de Didymellaceae se puede desarrollar en diferentes ambientes, ocasionando daños principalmente en hojas y tallos. Se ha reportado que varias especies pertenecientes a *Ascochyta* y *Nothophoma* son específicas del huésped de un solo género o familia de plantas. Sin embargo, la especificidad del huésped en los géneros de Didymellaceae no se ha abordado específicamente. La identificación correcta de las especies en esta familia siempre ha resultado difícil, dependiendo principalmente de la morfología y la asociación de plantas hospedadoras. (Chen et al., 2017). *Didymella glomerata* se aisló de cancro en tallos maduros de pistacho en California, Estados Unidos, al hacer pruebas se observaron síntomas en ramas de pistache después de 6 meses de la inoculación, sin embargo, otro estudio identifico a *Didymella glomerata* como el patógeno causante del tizón foliar severo de pistache en Arizona y sugieren que el hongo es endófito. Por el contrario, el periodo de inoculación y las condiciones ambientales fueron diferentes para ambos estudios. (Nouri, et al., 2019). Actualmente se halló que *Didymella glomerata* estaba asociada con el cancro en tallos de duraznos (Deb et al., 2020). La morfología descrita menciona conidiomas picniales los

cuales pueden ser solitarios, globosos o subglobosos (Zhou *et al.*, 2024), un conidioma es un conjunto de conidióforos los cuales producen conidios, siendo exclusivamente de hongos celomicetos. Los conidiomas picnidiales de *Phoma* pueden invernar desde 2 hasta 11 meses (Deb *et al.*, 2020). Cabe mencionar que la morfología sexual de este hongo no se ha encontrado (Zhou *et al.*, 2024). Los picnidios son muy importantes ya que son la fuente primaria de infección, pueden tener forma de frasco o redondos oscuros (Deb *et al.*, 2020). Por otra parte, *Phoma* puede formar masas sólidas de micelios, denominados pseudoesclerocios, otra estructura que puede formar son las clamidosporas y funcionan como estructuras para que el patógeno inverte cuando las condiciones no son favorables, este patógeno se puede diseminar a través de pseudoesclerocios, rastrojo de los cultivos contaminados y otros huéspedes alternativos por ejemplo la vid común o el pasto Kentucky, de manera que se pueden generar oportunidades para que *Didymella glomerata* (sinónimo *Phoma glomerata*) sobreviva en períodos en que el huésped primario no está disponible. Las estructuras más adecuadas para la supervivencia a largo plazo en el rastrojo del cultivo enfermo son las clamidosporas y los conidiomas (Deb *et al.*, 2020).

Además de generar cancro en tallos leñosos, este patógeno puede provocar daño en brotes jóvenes los cuales se tornan con una coloración marrón rojizo, puede haber marchites y descomposición en las hojas afectadas. Debajo de la corteza se pueden apreciar lesiones necróticas con una coloración marrón, otros órganos de cultivo como flores y frutos jóvenes también quedan expuestos a las necrosis y marchitez.

Asocian a *P. glomerata*, y *P. fungicola* (sinónimo *Nothophoma quercina*). La temperatura óptima de crecimiento del hongo es de 25 °C. Los huéspedes principales donde se ha encontrado este patógeno son durazno, la nectarina, el olivo y la alfalfa. Para tener un control de la enfermedad se recomienda remover los residuos vegetales de los antiguos ciclos del

cultivo, hacer uso de variedades resistentes, sin embargo, para el caso de duraznos y nectarinas se ha reportado que las variedades utilizadas son susceptibles a este tipo de patógenos. (Salmaninezhad et al., 2022). Se han realizado pruebas con fungicidas como carbendazima, tiofanato metilo y el tebuconazol y muestran una inhibición tanto la germinación y proliferación de conidios de *P. glomerata*, lo que sugiere que estos fungicidas pueden ser efectivos una alternativa de control químico que se puede implementar para manejar la enfermedad (Thomidis et al., 2011).

1.5.3. *Nothophoma quercina*

Chen y colaboradores describieron *Nothophoma*, especies de este género se consideran organismos que atacan a plantas leñosas, además se ha informado que varias frutas son afectadas por este género. *Nothophoma quercina* (sinónimo *Phoma fungicola*) es un patógeno de gran relevancia debido a su impacto en una amplia gama de plantas de interés económico. Los síntomas que provocan en árboles frutales van desde manchas foliares con coloración marrón, tizones en yemas y cancro en troncos. Esta enfermedad se considera morfológica y geográficamente diversa ya que se ha reportado en varios países como China, Corea, Túnez y Estados Unidos. (Nouri, et al., 2019). Sus principales huéspedes que invade son: pistacho, olivo, almendra y durazno (Salmaninezhad et al., 2022).

Nothophoma quercina fue identificado como patógeno causal de cancro en tallos y tizón en fruto de pistacho y de la muerte descendente de los olivos en Túnez (Nouri, et al., 2019). También está asociada con el tizón de los brotes y la gomosis en duraznos. Hasta ahora no se ha encontrado su morfología sexual; la morfología asexual consiste en conidiomas picnidiales, solitarios, globosos, peroblatos y suboblatos (Zhou et al., 2024).

Esta enfermedad se ha reportado principalmente en frutas de hueso a nivel mundial y causa una gran pérdida en las plantas leñosas, los síntomas más comunes son hojas con clorosis y marchites las cuales pueden permanecer adheridas a brotes, ramitas infectadas y muerte descendente, en infecciones graves, se observaban cancro en tallos y pudrición de la fruta. De igual forma se han reportado yemas con exceso de gomosis y las cortezas de los tallos con abundantes picnidios (Salmaninezhad *et al.*, 2022).

En periodos invernales el hongo puede sobrevivir en brotes muertos que están adheridos al árbol o en restos de plantas. Tiene la capacidad de producir abundantes picnidios en el rastrojo de las plantas, siendo estos las principales fuentes de infección. Las condiciones que favorecen a este patógeno son ambientes nublados y frescos con humedad superior al 70% y temperaturas entre 20 a 25 °C, la reproducción asexual puede matar a los huéspedes.

Un buen manejo para controlar esta enfermedad consiste en la recolección y erradicación de inóculos primarios. Las aplicaciones de carbendazim junto con rotación de algunos cultivos se considera una alternativa adecuada para minimizar la incidencia de este hongo (Salmaninezhad *et al.*, 2022).

1.5.4. *Biscogniauxia mediterránea*

El género *Biscogniauxia*, que comprende al menos 52 especies de hongos ascomicetos parásitos de árboles angiospermas y dicotiledóneas, presenta una distribución global con presencia documentada en Europa, Asia, África y América, destacándose su incidencia en Estados Unidos (Raimondo *et al.*, 2016). Entre sus especies más relevantes, *Biscogniauxia mediterranea* sobresale como agente causal del cancro carbonoso en robles (*Quercus* spp.), particularmente en especies como *Q. cerris*, *Q. robur*, *Q. frainetto* y *Q. pubescens*, donde en

Italia constituye la principal causa de pudrición en estos árboles (Raimondo *et al.*, 2016). Su distribución abarca regiones de América del Norte y del Sur, gran parte de Europa, así como zonas de África y Asia, aunque actualmente el cambio climático está incrementando su amenaza en el suroeste estadounidense, donde las condiciones más cálidas y secas favorecen su asociación con árboles bajo estrés hídrico, poniendo en riesgo importantes ecosistemas forestales (Jeger *et al.*, 2022).

Este patógeno muestra un comportamiento ecológico complejo como endófito latente en órganos aéreos de robles, donde puede permanecer asintomático hasta que factores de estrés como sequías prolongadas, ataques de otros patógenos o daños físicos desencadenan su fase oportunista (Raimondo *et al.*, 2016). Morfológicamente, se caracteriza por producir estromas carbonosos de hasta varios metros de longitud bajo la corteza, cuyos cuerpos fructíferos generan conidios asexuales y ascosporas oscuras dispersables por viento, insectos o lluvia (Jha, 2020). Junto con *B. atropunctata* (sin. *Hypoxylon atropunctatum*), forma parte de los agentes etiológicos del cancro de *Biscogniauxia*, destacándose por su capacidad de colonización rápida del xilema y tejidos corticales, induciendo necrosis, formación de cancro y muerte del árbol mediante la obstrucción del flujo hídrico (O'Mara & Opbroek, 2016).

Los síntomas iniciales incluyen amarillamiento foliar, adelgazamiento de la copa y marchitez progresiva, evolucionando hacia la formación de estromas que provocan el desprendimiento cortical, exponiendo tejidos de color tostado que maduran a tonalidades plateadas y finalmente negruzcas con textura costrosa, siendo este último estadio diagnóstico de la enfermedad (O'Mara & Opbroek, 2016). La epidemiología del patógeno se ve favorecida por temperaturas entre 30-40°C y estrés hídrico, condiciones bajo las cuales *B. atropunctata* puede desarrollar cancro en solo dos meses, mostrando además termotolerancia hasta 40°C (O'Mara & Opbroek, 2016). Su estrategia de persistencia incluye tanto fase saprofítica en

material vegetal muerto como resistencia en tocones, siendo la eliminación de estos y la leña infectada componentes clave del manejo (O'Mara & Opbroek, 2016).

El manejo integrado se basa en medidas preventivas como podas sanitarias, mantenimiento del vigor arbóreo mediante riego complementario en sequías, y eliminación de árboles gravemente afectados con destrucción del material infectado para evitar dispersión de inóculo (O'Mara & Opbroek, 2016). Aunque no existen tratamientos curativos, la detección temprana permite implementar prácticas culturales que retardan la progresión de la enfermedad, siendo fundamental el monitoreo de factores predisponentes como compactación del suelo, daños radiculares o estrés fisiológico en regiones con condiciones climáticas cambiantes (O'Mara & Opbroek, 2016).

1.6. LITERATURA CITADA

- Adaskaveg, J. E., Schnabel, G., Ritchie, D. F., & Förster, H. (2023). Common Preharvest Diseases of Peach and Nectarine Caused by Fungi and Bacteria: Biology, Epidemiology and Management. In Peach (pp. 261-342). GB: CABI.
- Aguilar Ávila, J., Sagarnaga Villegas, L. M., Salas González, J. M., & Arroyo Pozos, M. G. (2019). Ingresos y costos de producción 2013-2015. Unidades Representativas de Producción Agropecuaria.
- Biggs, A. R., & Grove, G. G. (2005). Leucostoma canker of stone fruits. The Plant Health Instructor, 10.
- Byrne, D. H., Raseira, M. B., Bassi, D., Piagnani, M. C., Gasic, K., Reighard, G. L., ... & Pérez, S. (2012). Peach. *Fruit breeding*, 505-569.
- Cao, K., Yang, X., Li, Y., Zhu, G., Fang, W., Chen, C., ... & Wang, L. (2021). New high-quality peach (*Prunus persica* L. Batsch) genome assembly to analyze the molecular evolutionary mechanism of volatile compounds in peach fruits. *The Plant Journal*, 108(1), 281-295.
- Chen, Q., Hou, L. W., Duan, W. J., Crous, P. W., & Cai, L. (2017). Didymellaceae revisited. *Studies in mycology*, 87(1), 105-159.
- Comisión Nacional Forestal. 2019. Árboles frutales vs forestales. Consultado: 21 de septiembre de 2024. Disponible en: <https://www.gob.mx/conafor/articulos/arboles-frutales-vs-forestales#:~:text=Los%20%C3%A1rboles%20brindan%20servicios%20ecosist%C3%A9micos,la%20mitigaci%C3%B3n%20del%20cambio%20clim%C3%A1tico>
- de Oca, E. R. M., Flores, A. G., & Resendiz, J. E. L. (2021). Importancia de los árboles

- frutales de traspatio como estrategia de vida en comunidades rurales en México. *Bioagrociencias*, 14(1).
- Deb, D., Khan, A., & Dey, N. (2020). Phoma diseases: Epidemiology and control. *Plant Pathology*, 69(7), 1203-1217.
- Elis., M. A. 2016. Peach Canker. The Ohio State University. Consultado: 22 de septiembre de 2024. Disponible en: <https://ohioline.osu.edu/factsheet/plpath-fru-25>
- EPPO Global Datanase. 2025. *Prunus pérsica*. Consultado: 07 de enero de 2025. Disponible en: <https://gd.eppo.int/taxon/PRNPS>
- FAOSTAT. (2023). “Cultivos”. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. Consultado: 07 de enero de 2025. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/es/#data>
- Gauthier, N., Smigell, C. and Lyons, K. (2021) Bacterial Canker and Perennial Canker of Stone Fruit. Plant Pathology Fact Sheet PPFS-FR-T-08. University of Kentucky, Lexington, Kentucky.
- Goldschmidt, E. E. (2013). The evolution of fruit tree productivity: a review. *Economic botany*, 67, 51-62.
- Jeger, M., Fielder, H., Beale, T., Szyniszewska, A., Parnell, S., & Cuniffe, N. (2022). A Synoptic Review of Plant Disease Epidemics and Out-breaks Published in 2021.
- Jha, S. K. (2020). Identification and management of heart-rot fungi. *Banko Janakari*, 30(2), 71-77.
- Juárez, C., & Téliz, D. (1983). Perennial canker (*Cytospora leucostoma*) of peach branches in Chihuahua, Mexico.
- Luo, C. X., Schnabel, G., Hu, M., & De Cal, A. (2022). Global distribution and management of peach diseases. *Phytopathology Research*, 4(1), 30.

- Manganaris, G. A., Minas, I., Cirilli, M., Torres, R., Bassi, D., & Costa, G. (2022). Peach for the future: A specialty crop revisited. *Scientia Horticulturae*, 305, 111390.
- Miller, S. T., Otto, K. L., Sterle, D., Minas, I. S., & Stewart, J. E. (2019). Preventive fungicidal control of *Cytospora leucostoma* in peach orchards in Colorado. *Plant disease*, 103(6), 1138-1147.
- Miller, S.T., Otto, K. L., Sterle, D., Mins, I.S. and Stewart, J.E. (2019) Preventive fungicidal control of *Cytospora leucostoma* in peach orchards in Colorado. *Plant Disease* 103, 1138–1147.
- Nouri, M. T., Lawrence, D. P., Holland, L. A., Doll, D. A., Kallsen, C. E., Culumber, C. M., & Trouillas, F. P. (2019). Identification and pathogenicity of fungal species associated with canker diseases of pistachio in California. *Plant disease*, 103(9), 2397-2411.
- Nouri, M. T., Lawrence, D. P., Holland, L. A., Doll, D. A., Kallsen, C. E., Culumber, C. M., & Trouillas, F. P. (2019). Identification and pathogenicity of fungal species associated with canker diseases of pistachio in California. *Plant disease*, 103(9), 2397-2411.
- O'Mara, J., & Opbroek, N. (2016). 15. *Biscogniauxia* canker of oak. *Diseases of trees in the Great Plains*, 58.
- PROFECO. (2025). "Procuraduría federal del Consumidor". Quién es quién en los precios. Consultado: 07 de enero de 2025. Disponible en: <https://www.profeco.gob.mx/precios/canasta/home.aspx>
- Raimondo, M. L., Lops, F., & Carlucci, A. (2016). Charcoal canker of pear, plum, and quince trees caused by *Biscogniauxia rosacearum* sp. nov. in Southern Italy. *Plant disease*, 100(9), 1813-1822.

- Rajasekharan, P. E., & Rao, V. R. (2024). Fruit and Nut Crops. Springer Nature (Textbooks & Major Reference Works).
- Rajasekharan, P. E., & Rao, V. R. (2024). *Fruit and Nut Crops*. Springer Nature (Textbooks & Major Reference Works).
- Salmaninezhad, F., Mostowfizadeh-Ghalefarsa, R., & Cacciola, S. O. M. (2022). Major plant diseases caused by *Phoma* sensu lato species and their integrated management strategies. *Phoma: Diversity, taxonomy, bioactivities, and nanotechnology*, 135-159.
- Santoyo, J. A., (2013). Producción y manejo del durazno. Fundación produce Sinaloa.
- SIAP. (2023). “Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Acciones y programas. Cierre de la producción agrícola”, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Consultado: 07 de enero de 2025. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>
- Thomidis, T., Michailides, T.J. y Exadaktylou, E. (2011). *Phoma glomerata* (Corda) Wollenw. y Hochapfel: una nueva amenaza que causa cancro en brotes de melocotonero en Grecia. *Revista Europea de Fitopatología*, 131, 171-178.
- Vasilyeva, L., & Kim, W. G. (2000). *Valsa mali* Miyabe et Yamada, the causal fungus of apple tree canker in east Asia. *Mycobiology*, 28(3), 153-157.
- Zhou, Y., Manawasinghe, I. S., He, Z., Zhang, W., Liu, M., Song, J., ... & Yan, J. (2024). Microfungi associated with peach branch diseases in China. *Journal of Fungi*, 10(3), 217.

Capítulo 2

2. IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE CANCRO EN ÁRBOLES DE DURAZNO EN TEPEYAHUALCO, PUEBLA

RESUMEN

Los hongos fitopatógenos tienen un papel importante en la degradación biológica, pero también son responsables de enfermedades severas en frutales como el durazno (*Prunus persica*), afectando ramas y frutos. *Cytospora leucostoma* causa cancros graves en huertos mal manejados, reduciendo el vigor del árbol y generando pérdidas económicas. El objetivo de este capítulo es identificar morfológica y molecularmente el agente causal de cancro en ramas de durazno e identificar su severidad en diferentes variedades en Tepeyahualco, Puebla. Se recolectaron muestras con síntomas de cancro y se sembraron en medios de cultivo Agar Dextrosa de papa (PDA) y Agar extracto de malta (MEA) y se hizo identificación morfológica y molecular. Las pruebas de patogenicidad se realizaron en seis variedades comerciales (Diamante mejorado, Magno-100, Rocío, Arkanzas, Atlax y F-70) evaluando severidad de lesiones. Los resultados mostraron que el agente causal fue *Cytospora leucostoma* y fue identificado morfológica y molecularmente (100% de similitud con secuencia registrada). Diamante mejorado mostró la mayor severidad (lesiones de 67.91 mm), mientras que F-70 presentó la menor (22.03 mm).

Abstract

Phytopathogenic fungi play an important role in biological degradation, but they are also responsible for severe diseases in fruit trees such as peach (*Prunus persica*), affecting branches and fruits. *Cytospora leucostoma* causes severe cankers in poorly managed orchards, reducing tree vigor and generating economic losses. The objective of this chapter is to identify morphologically and molecularly the causal agent of canker in peach branches and to assess its severity in different varieties in Tepeyahualco, Puebla. Samples showing canker symptoms were collected and cultured on PDA and MEA media. Morphological and molecular identification was performed. Pathogenicity tests were conducted on six commercial varieties (Diamante mejorado, Magno-100, Rocío, Arkanzas, Atlax, and F-70), evaluating lesion severity. The results showed that the causal agent is *Cytospora leucostoma*, which was identified morphologically and molecularly (100% similarity with the registered sequence). Diamante mejorado showed the highest severity (lesions of 67.91 mm), while F-70 showed the lowest (22.03 mm).

2.1.INTRODUCCIÓN

Los hongos tienen un rol significativo en los procesos de biodegradación en una amplia gama de ecosistemas. No obstante, son responsables de una gran variedad de enfermedades en plantas de interés agrícola, provocando pérdidas globales en los cultivos. Cabe mencionar que estos hongos fitopatógenos pueden causar enfermedades críticas en diferentes etapas de crecimiento y desarrollo de los cultivos (Boruah y Hage, 2024).

Dentro del grupo de hongos fitopatógenos que afectan a árboles frutales se encuentran algunos que causan cancro en ramas y tallos, de igual manera provocan manchas de color rojizo y pudrición en la fruta (Biggs, 2019).

El cancro de *Cytospora* puede ser causado por varios géneros de *Cytospora*, esta enfermedad se considera severa en huertas viejas o mal manejadas en las cuales los árboles han reducido su vigor, resultando la muerte de estos lo que determina una importante pérdida económica (Cotuna *et al.*, 2020). En algunos frutales como *Prunus persica*, *P. armeniaca*, *P. avium*, *Malus* spp., *Juglans* spp., esta enfermedad puede ser devastadora (Cotuna *et al.*, 2020).

En Colorado, Estados Unidos se encontró que el 75 % de las huertas de durazno estaban infectadas por el cancro de *Cytospora* e incluso algunas huertas llegaban a tener una tasa de incidencia del 100 % (Miller *et al.*, 2019). *Cytospora leucostoma* representa entre el 15 y el 20% de las pérdidas anuales en la producción de durazno en esa parte de Estados Unidos (Miller *et al.*, 2019).

Juárez & Téliz (1983) reportaron por primera vez a *Cytospora leucostoma* en Chihuahua, México, cabe mencionar que en este primer reporte solo se hicieron las identificaciones de los síntomas en las ramas de árboles de diferentes edades provenientes de cinco huertas de la

zona, con la finalidad de evaluar el grado de severidad en los árboles y su rendimiento. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue identificar morfológica y molecularmente el agente causal del cancro; además de realizar pruebas de patogenicidad en diferentes variedades de durazno en huertas comerciales en Tepeyahualco, Puebla.

2.2.MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. Obtención de muestras

Se recolectaron muestras con cancro en ramas de durazno, en huertos de frutales en el municipio de Tepeyahualco, Puebla, México, (19° 31'32" N, 97° 31' 15" W, 1200 m de altitud), con clima templado húmedo y temperatura media anual de 18-20 °C. Dichas muestras se sometieron a una desinfección con alcohol al 75 % (v/v) por 1 min. Posteriormente, se enjuagaron 2 veces durante 2 min con agua destilada estéril; fragmentos (5 × 5 mm) de ramas con aproximadamente 20 % de tejido sintomático y 80 % de tejido sano, se sembraron en cajas Petri con Agar Dextrosa y Papa (39 g) (BD Bioxon). Se incubaron a temperatura ambiente (26 ± 2 °C), para el aislamiento se empleó la técnica punta de hifa del hongo.

2.2.2. Aislamiento e identificación morfológica del patógeno

A partir de las puntas de hifa el hongo se desarrolló en medios de cultivo de Agar Dextrosa de Papa (39 g) (BD Bioxon), (PDA) y agar extracto de malta (Extracto de malta (20 g), BD Bioxon, Dextrosa anhidra polvo (20 g), J. T. Baker; Pectona de carne (1 g), Bioxon; Agar (20

g), SIGMA), (MEA), para determinar las características morfológicas como: tamaño de los conidios (largo, ancho) Se midieron 100 conidios en el software (Motic Images Plus 3) para obtener el largo $\times$ ancho, se observaron los conidios con un microscopio (Nikon ECLIPSE Ni) y se tomaron fotos con una cámara (Nikon DS-Ri2) integrada, las fotos se capturaron en el software (NIS-Elements F 4.60). De los aislamientos desarrollados, se evaluaron la coloración de micelio y tipo de crecimiento del hongo.

2.2.3. Identificación molecular

Para llevar a cabo la caracterización molecular, se procedió a la extracción de ADN a partir del micelio previamente recolectado por raspado de las cajas de cultivo. El material fue macerado en presencia de nitrógeno líquido y posteriormente transferido a tubos de microcentrífuga de 1.5 mL, cada uno con 500 μ L de una solución tampón compuesta por Tris 100 mM, EDTA 10 mM, SDS al 2 % y proteinasa K a una concentración de 0.2 mg/mL. La mezcla se homogeneizó mediante agitación en vórtex y se incubó a 38 °C durante una hora. Luego, se añadieron 70 μ L de NaCl 5 M y 30 μ L de CTAB al 10 %, agitando nuevamente durante 10 segundos. Esta preparación se incubó a 65 °C por una hora adicional. Finalizada la incubación, se agregó una fase orgánica (700 μ L de una mezcla cloroformo:alcohol isoamílico en proporción 24:1), se mezcló brevemente en vórtex y se centrifugó a 13,000 g por 10 minutos en una centrífuga Eppendorf 5810 R (EE.UU.). El sobrenadante obtenido se transfirió cuidadosamente a un nuevo tubo de microcentrífuga, donde se adicionaron 640 μ L de isopropanol y 60 μ L de acetato de sodio 3 M. Esta solución fue mezclada por inversión suave (4 a 5 veces) y conservada a -20 °C durante 10 minutos para facilitar la precipitación del ADN.

Posteriormente, se realizó una nueva centrifugación a 13,000 g por 10 minutos. El pellet de ADN fue lavado con 500 μ L de etanol al 70 %, seguido de otra centrifugación de 5 minutos. Tras eliminar el sobrenadante, los tubos se dejaron destapados sobre papel absorbente hasta la completa evaporación del alcohol. Finalmente, el ADN se resuspendió en 100 μ L de agua estéril libre de nucleasas (Promega) y su concentración y pureza fueron determinadas mediante un espectrofotómetro Nanodrop Lite (Thermo Scientific®, EE.UU.). Las muestras purificadas se almacenaron a -20 °C.

Para la amplificación del espaciador transcrito interno 2 (ITS2), se utilizaron los cebadores ITS1 (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) e ITS4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC), según lo descrito por White y colaboradores (1990). La mezcla para PCR tuvo un volumen total de 50 μ L, compuesta por buffer 1x, 2.5 mM de $MgCl_2$, 0.2 mM de cada dNTP, 0.8 μ M de cada iniciador, 0.04 U de ADN polimerasa (Promega, EE.UU.) y 4 ng de ADN genómico. Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador C-1000 (Bio-Rad, EE.UU.) bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 30 segundos, alineamiento a 55 °C por 30 segundos y extensión a 72 °C durante 1 minuto, finalizando con una extensión terminal de 10 minutos a 72 °C.

La verificación de los productos de amplificación se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % preparado con tampón TAE 1X. Se aplicaron 5 μ L del producto de PCR junto con 3 μ L de buffer de carga, y la separación se efectuó a 90 V. Los resultados fueron visualizados en un transiluminador UV M-26X utilizando el sistema de documentación GelDoc-It™ 300 (UVP, EE.UU.).

Los fragmentos obtenidos mediante los cebadores ITS1 e ITS4 fueron purificados con el kit DNA Clean & Concentrator™-5 (Zymo Research, EE.UU.) y enviados para secuenciación a

la empresa Macrogen® (Corea). Las secuencias fueron alineadas y comparadas con entradas disponibles en la base de datos del NCBI utilizando la herramienta BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), y se obtuvieron los respectivos números de acceso.

2.2.4. Patogenicidad de cancro en diferentes variedades de durazno

Para las pruebas de patogenicidad se tomó una caja Petri ya con el hongo purificado en medio de cultivo de Agar Dextrosa y Papa (39 g) (BD Bixion), la colonia formada tenía una edad de 16 días, con ayuda de un sacabocados se hicieron tapones de 4 mm de diámetro, los cuales servirían como fuente de inóculo en ramas de 6 variedades diferentes (Arkansas, Atlax, Diamante mejorado, F-70, Magno-100, y Roció), establecidas en una huerta en Tepeyahualco, Puebla. Con ayuda de una navaja se realizaron heridas para levantar la corteza y colocar el tampón con el hongo. Las heridas se cubrieron con algodón húmedo y se protegieron con Parafilm (Pechiney Plastic Packaging, EE. UU.). También se inocularon ramas con tapones de agar estériles no colonizados como tratamientos de control. En este experimento se utilizó un diseño completamente al azar, después de 4 meses de incubación se recolectaron las ramas y se midió desde el punto de inoculación el largo y ancho de los síntomas provocados. Se realizó un nuevo aislamiento de los síntomas para cumplir los postulados de Koch, y se verificaron las estructuras microscópicas, además se hizo un análisis de varianza con la finalidad de medir la severidad por variedad, en las cajas se tomó en cuenta el porcentaje de reactivación por cada variedad.

2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1. Caracterización morfológica de los aislamientos

La colonia de este patógeno fue inicialmente de color blanco y se volvieron verde oliva en 3 días, a los 14 días ya tenía una tonalidad verde oliva más oscura (Figura 1). El crecimiento de la colonia en medio PDA fue escaso en comparación con el medio de malta. Los conidios procedentes en la colonia fueron hialinos, alantoides y unicelulares, las medidas fueron de largo 1.89 a 6.27 μm (promedio 4.23 μm), $\times$ ancho 0.75 a 1.89 μm (promedio 1.28 μm) ($n = 100$) que fueron consistentes con las descripciones de *Cytospora leucostoma* (sinónimo *Valsa leucostoma*) en el informe de Zhang *et al.* (2014).

2.3.2. Caracterización molecular

Se obtuvieron secuencias de la región 5.8 S del RNA ribosomal, con un tamaño de 512 pb, las secuencias obtenidas fueron registradas en la base de datos en NCBI y se obtuvo el número de acceso: PQ186365. Al analizarlo con la herramienta BLASTn del NCBI, se encontró 100% de similitud con *Cytospora leucostoma* (número de acceso: KP288248), lo cual coincide con la caracterización morfológica.

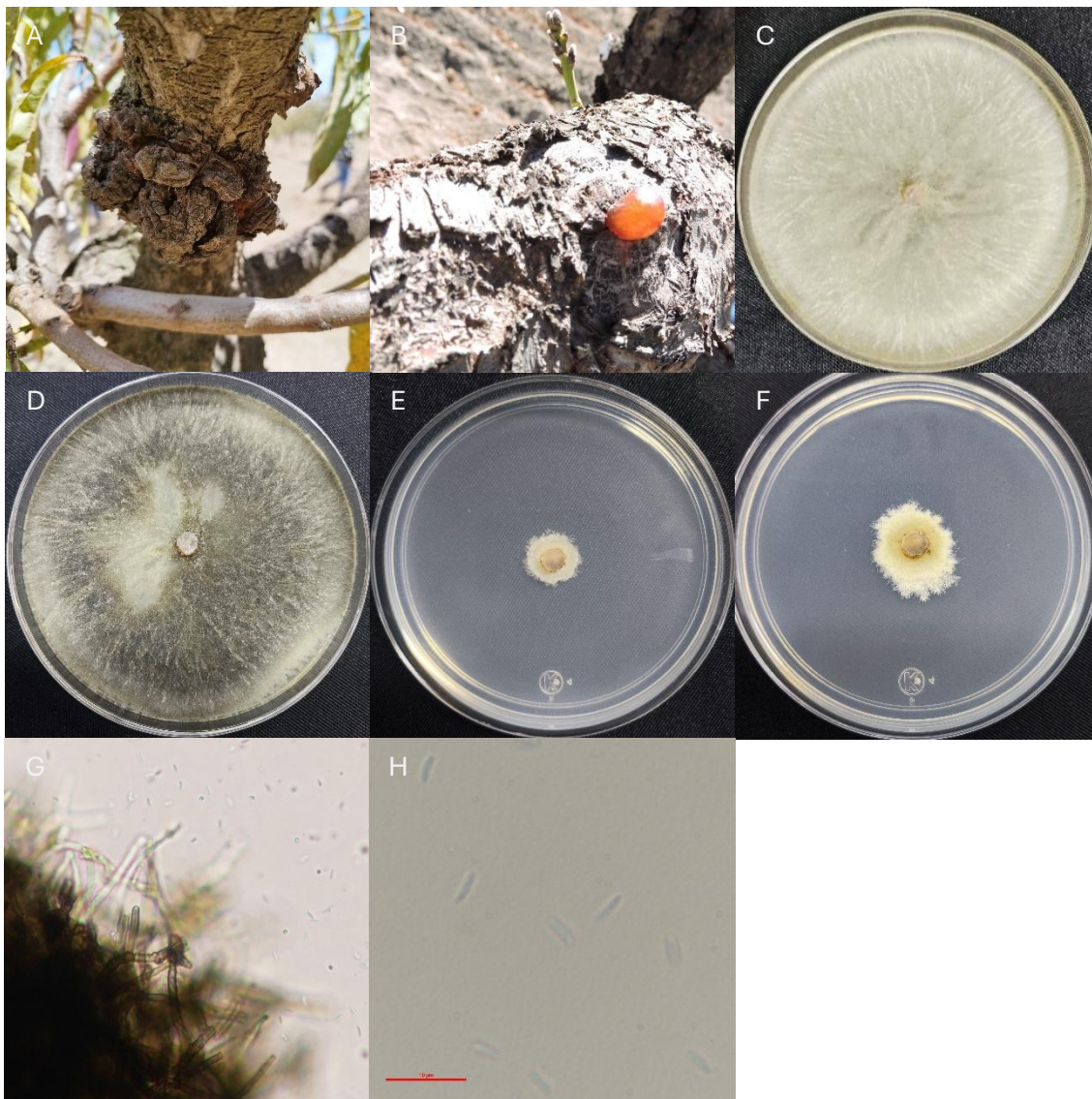


Figura 1.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Cytospora leucostoma* cepa 1. A) Cancro en ramas de durazno. B) C) Crecimiento en medio de cultivo malta a los 7 días. D) Crecimiento en medio de cultivo malta a los 14 días. E) Crecimiento en medio de cultivo dextrosa agar de papa a los 7 días. F) Crecimiento en medio de cultivo dextrosa agar de papa a los 14 días. G) y H) Conidios.

2.3.3. Pruebas de patogenicidad de cancro en diferentes variedades de durazno

Después de cuatro meses de la inoculación se observaron síntomas de necrosis en todas las ramas inoculadas (Figura 2). Esta evaluación de *Cytospora leucostoma* en seis variedades de durazno en campo muestra diferencias significativas en la severidad de la infección, medida en términos de ancho y largo de las lesiones. La variedad (Diamante mejorado) presentó la mayor severidad, con un ancho promedio de 10.19 mm y un largo de 67.91 mm, lo que indica una alta susceptibilidad a la infección. De igual forma las variedades (Magno-100 y Rocío) también muestran valores elevados, con longitudes de 38.83 mm y 37.02 mm, respectivamente, aunque con menor ancho en comparación con Diamante mejorado. La variedad F-70 obtuvo la menor severidad, con un ancho de 4.34 mm y un largo de 22.03 mm, lo que indica una mayor resistencia o menor susceptibilidad a la infección. Las variedades Atlax y Arkanzas también presentaron valores bajos en comparación con las variedades más afectadas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Severidad de *Cytospora leucostoma* en diferentes variedades comerciales de durazno en Tepeyahualco, Puebla en 2024

Variedad	Ancho		Largo	
Diamante mejorado	10.19*	a	67.91	a
Magno-100	7.49	ab	38.83	b
Rocio	6.99	ab	37.02	b
Arkanzas	6.07	b	28.05	b
Atlax	4.88	b	26.16	b
F-70	4.34	b	22.03	b

* Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

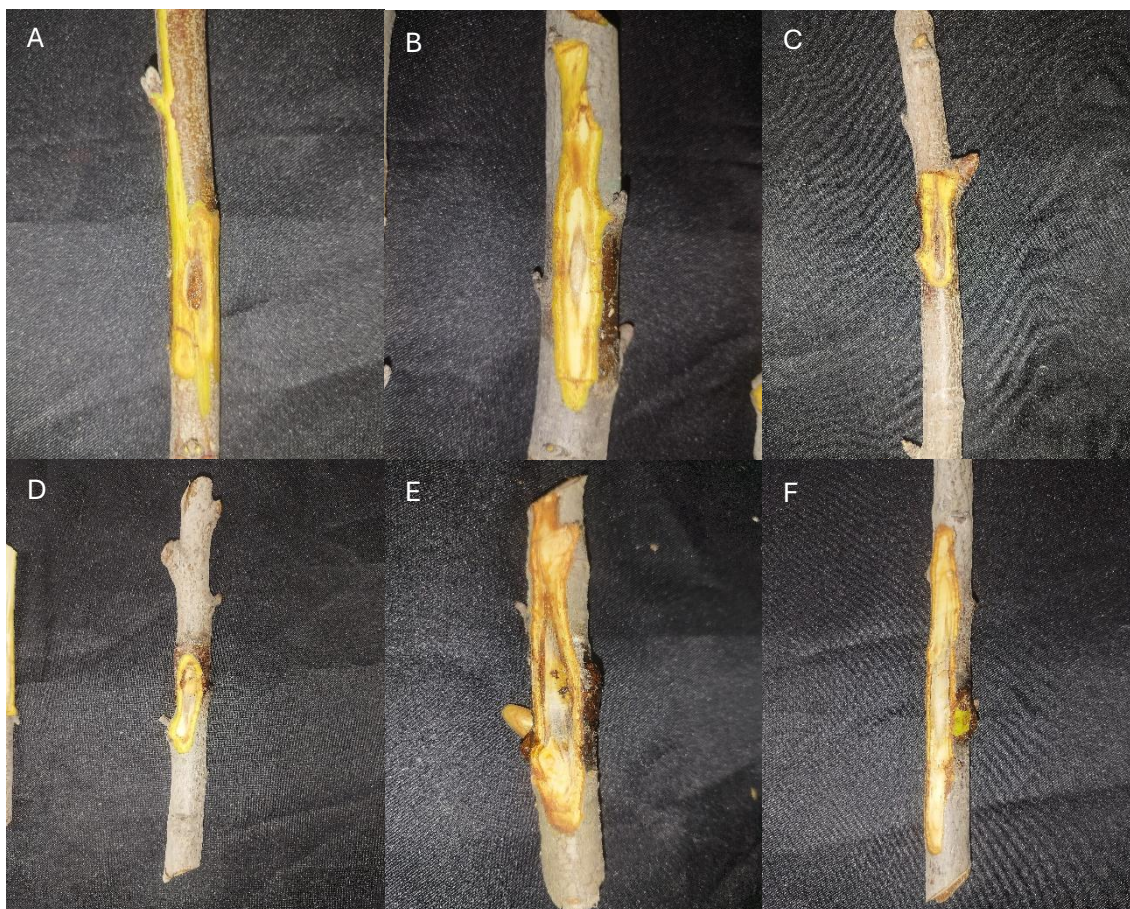


Figura 2.- Pruebas de patogenicidad en campo en 6 variedades de durazno, A) Arkanzas. B) Atlax. C) F-70. D) Magno-100. E) Diamante mejorado. F) Rocío en Tepeyahualco, Puebla en 2024.

Este estudio sobre *Cytospora leucostoma* han demostrado que la severidad de la infección puede depender de factores como la variedad del hospedero, las condiciones ambientales y la etapa fenológica del árbol. En otro tipo de investigaciones previas, se ha encontrado que ciertas variedades de durazno presentan resistencia natural a la enfermedad, mientras que otras son altamente susceptibles. Además, se ha identificado que la humedad y el estrés hídrico pueden aumentar la severidad de la infección.

Un estudio reciente examinó la presencia de especies de *Cytospora* en huertos de durazno en

Estados Unidos mediante datos moleculares y morfológicos. Se identificó *Cytospora plurivora* como la especie predominante, lo que sugiere que la variabilidad genética puede influir en la severidad de la infección (Stewart *et al.*, 2022). Comparando este estudio con los datos observados, se puede entender que la severidad de la infección por *Cytospora leucostoma* varía según la variedad de durazno, lo que coincide con la caracterización genética de *Cytospora plurivora*. Además, la selección de variedades resistentes podría ser una estrategia clave para reducir el impacto de la enfermedad en campo.

2.4. CONCLUSIÓN

Se logró identificar de manera morfológica y molecular a *Cytospora leucostoma* como agente causal de cancro en ramas de durazno en el municipio de Tepeyahualco, Puebla. La confirmación de su identidad se obtuvo mediante análisis de conidios y la amplificación del ADN con primers ITS1/ITS4, alcanzando un 100 % de similitud con secuencias registradas en la base de datos NCBI. Las pruebas de patogenicidad demostraron que todas las variedades comerciales evaluadas fueron susceptibles en diferente grado, siendo Diamante mejorado la más afectada por el hongo, mientras que la variedad F-70 presentó la menor severidad. Esto sugiere que la selección de variedades resistentes podría ser una estrategia clave para reducir el impacto de *Cytospora leucostoma* en cultivos de durazno. Además, el manejo adecuado de factores ambientales podría ayudar a mitigar la severidad de la enfermedad.

2.5. LITERATURA CITADA

- Biggs, A. R., & Grove, G. G. (2005). Leucostoma canker of stone fruits. *The Plant Health Instructor*, 10.
- Boruah, R. R., & Hage, A. (2024). Role of rhizobial metabolites in control of soil-borne phytopathogenic fungi. In *Bioactive Microbial Metabolites* (pp. 51-65). Academic Press.
- Cotuna, O., Paraschivu, M., SĂRĂȚEANU, V., & Durău, C. (2020). Identification of the phyto-pathogenic fungus *Cytospora leucostoma* (pers.) sacc. in cherry trees from western Romania (case study). *Research Journal of Agricultural Science*, 52(2).
- Juárez, C., & Téliz, D. (1983). Perennial canker (*Cytospora leucostoma*) of peach branches in Chihuahua, Mexico.
- Miller, S. T., Otto, K. L., Sterle, D., Minas, I. S., & Stewart, J. E. (2019). Preventive fungicidal control of *Cytospora leucostoma* in peach orchards in Colorado. *Plant disease*, 103(6), 1138-1147.
- Stewart, J. E., Miller, S. T., Zink, F. A., Caballero, J. I., & Tembrock, L. R. (2022). Genetic and phenotypic characterization of the fungal pathogen *Cytospora plurivora* from Western Colorado peach orchards and the development of a ddPCR assay for detection and quantification. *Phytopathology®*, 112(4), 917-928.
- Zhang, M. X., Zhai, L. F., Xu, W. X., Hong, N., & Wang, G. P. (2014). First Report of *Valsa leucostoma* Causing *Valsa* Canker of *Pyrus communis* (cv. Duchess de'Angouleme) in China. *Plant Disease*, 98(3), 422-422.

Capítulo 3

3. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE CANCROS EN ÁRBOLES DE DURAZNO (*Prunus persica* L. Batsch) EN PUEBLA, MICHOACÁN, CHIHUAHUA Y ESTADO DE MÉXICO.

RESUMEN

Las enfermedades por hongos de la madera (FTD) se han convertido en una preocupación creciente en la fruticultura. Estas enfermedades están asociadas a cancro, gomosis y muerte de ramas. La intensificación agrícola y el estrés climático agravan su incidencia. Los patógenos pueden entrar por heridas y colonizar tejidos internos, incluso como endófitos latentes. El objetivo del capítulo fue identificar los agentes fúngicos causales de cancro en ramas de durazno en cuatro estados de México mediante caracterización morfológica, molecular y pruebas de patogenicidad. Se recolectaron muestras de ramas con cancro en los estados indicados. Se realizaron aislamientos en medios PDA y MEA, y se caracterizaron con microscopía y medición de conidios. La extracción de ADN y amplificación ITS permitió la secuenciación y comparación con bases de datos BLAST. También se cumplieron los postulados de Koch con reinoculación. Los resultados mostraron que los agentes causales provienen de 4 especies de hongos: *Cytospora leucostoma*, *Didymella glomerata*, *Nothophoma quercina*, y *Biscogniauxia mediterránea*. Cada uno mostró capacidad patogénica comprobada en durazno, afectando ramas mediante necrosis, gomosis y formación de estructuras reproductivas como picnidios.

Abstract

Wood-decaying fungal diseases (FTD) have become an increasing concern in fruit production. These diseases are associated with cankers, gummosis, and branch dieback. Agricultural intensification and climate stress have worsened their incidence. Pathogens can enter through wounds and colonize internal tissues, even as latent endophytes. The objective of this chapter was to identify the fungal agents responsible for cankers in peach branches in four Mexican states through morphological, molecular characterization and pathogenicity tests. Samples of cankered branches were collected from the mentioned states. Isolations were carried out on PDA and MEA media and characterized using microscopy and conidia measurements. DNA extraction and ITS amplification enabled sequencing and comparison with the BLAST database. Koch's postulates were also fulfilled through reinoculation. The results showed that the causal agents belong to four fungal species: *Cytospora leucostoma*, *Didymella glomerata*, *Nothophoma quercina*, and *Biscogniauxia mediterranea*. Each demonstrated confirmed pathogenic capacity on peach, affecting branches through necrosis, gummosis, and the formation of reproductive structures such as pycnidia.

3.1.INTRODUCCIÓN

La producción comercial de especies frutales y oleaginosas ha sido parte esencial de la agricultura desde hace cientos de años. Estos plantíos engloban una diversidad botánica que incluye desde especies arbóreas leñosas perennes, arbustos productivos, palmeras cultivables, trepadoras fructíferas, tallos no leñosos y vegetales, adaptados a diferentes condiciones agroecológicas (Martino *et al.*, 2024). De acuerdo con sus requerimientos climáticos se pueden agrupar a los cultivos frutales y de nueces, como templados, tropicales y subtropicales (Rieger, 2006). Los cultivos templados contienen frutas de hueso como (durazno, ciruela, y cereza) y de pepita, como (manzana y pera), algunas bayas como la vid y ciertos frutos secos. (Martino *et al.*, 2024).

Las enfermedades fúngicas por hongos (siglas en ingles FTD) representan cada vez más una amenaza a los árboles que se cultivan en plantaciones con interés agrícola (Gramaje *et al.*, 2016). Además, varios informes sugieren que hay una gran incidencia de FTD en frutales de hueso, de pepita, nueces, bayas y cítricos (Guarnaccia y Crous, 2017). Los factores abióticos están fuertemente implicados en las FTD. Para maximizar la producción se requieren altas densidades de plantación y el uso de los recursos de la tierra, entre estos factores y más dan lugar a plantas cultivadas estresadas (León *et al.*, 2020). Las FTD es uno de los de intereses principales que provocan preocupaciones en la industria frutícola, cabe considerar que su incidencia en los huertos genere pérdidas de producción, estos resultados son causas que provienen de las modificaciones en las prácticas culturales y el cambio climático (Doll *et al.*, 2013). Los patógenos de la madera provocan síntomas como cancro, gomosis, pudrición de la madera, tizón y muerte descendente (Gramaje *et al.*, 2012). Las enfermedades del cancro de los cultivos frutales son causadas por una amplia gama de hongos que infectan la madera

huésped, principalmente a través de diferentes tipos de heridas y la posterior colonización de los tejidos vasculares (Crous y Wingfield, 2018). Algunos de estos patógenos fúngicos viven como endófitos en los hospedantes después de entrar a través de heridas o aberturas naturales, y la propagación del patógeno se produce a través de material vegetal asintomático, plántulas y frutos, eludiendo con frecuencia las medidas de cuarentena de países y regiones (Slippers y Wingfield, 2007).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue desarrollar investigación de cancro detectados en huertas de estados como Michoacán, Chihuahua y Estado de México para obtener la identificación morfológica, molecular y pruebas de patogenicidad correspondientes.

3.2.MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Obtención de muestras

Se recolectaron muestras con canchros en ramas de durazno, en huertos de frutales en el municipio de Tepeyahualco, Puebla (19° 31' 32" N, 97° 31' 15" W, 1200 m de altitud), con clima templado húmedo y temperatura media anual de 18-20 °C); Ucaero, Zinapécuaro, Michoacán (Latitud: 19° 53' 44.56" N, Longitud: 100° 42' 6.19", 1940 m de altitud), con clima templado subhúmedo y temperatura media anual de 16-18° C; Casas grandes, Chihuahua (Latitud: 30° 19' 22.22" N, Longitud: -108° 3' 26.42" O, 1347 m de altitud), con clima templado y temperatura media anual de 16-18 °C; Temascaltepec de Gonzales, Estado de México (Latitud: 19° 2' 56.54" N, Longitud: 99° 58' 50.84" O, 2600 m de altitud), con clima templado y temperatura media anual de 13-15 °C. Dichas muestras se sometieron a una desinfección con alcohol al 75 % (v/v) por 1 min. Posteriormente, se enjuagaron 2 veces durante 2 min con agua destilada estéril; fragmentos (5 ×5 mm) de ramas con

aproximadamente 20 % de tejido sintomático y 80 % de tejido sano, se sembraron en cajas Petri con Agar Dextrosa y Papa (BD Bixion). Se incubaron a temperatura ambiente (26 ± 2 °C), para el aislamiento se empleó la técnica punta de hifa del hongo.

3.2.2. Identificación morfológica del patógeno y pruebas con diferentes medios de cultivo de medios de cultivo

A partir de las puntas de hifa el hongo se desarrolló en medios de cultivo de Agar Dextrosa y Papa (39 g) (BD Bixion) y agar extracto de malta (Extracto de malta (20 g), BD Bixion, Dextrosa anhidra polvo (20 g), J. T. Baker; Pectona de carne (1 g), Bioxon; Agar (20 g), SIGMA), para determinar las características morfológicas como: tamaño de los conidios (largo, ancho). Se midieron 100 conidios en un software (Motic Images Plus 3) para obtener el largo $\times$ ancho, se observaron los conidios con un microscopio (Nikon ECLIPSE Ni) y se tomaron fotos con una cámara (Nikon DS-Ri2) integrada, las fotos se capturaron en el software (NIS-Elements F 4.60). De los aislamientos desarrollados, se evaluaron la coloración de micelio y tipo de crecimiento del hongo, así mismo se evaluó el crecimiento micelial con los medios de cultivo PDA y extracto Malta con ayuda de un vernier digital.

3.2.3. Identificación molecular

Para llevar a cabo la caracterización molecular, se procedió a la extracción de ADN a partir del micelio previamente recolectado por raspado de las cajas de cultivo. El material fue macerado en presencia de nitrógeno líquido y posteriormente transferido a tubos de microcentrífuga de 1.5 mL, cada uno con 500 μ L de una solución tampón compuesta por Tris 100 mM, EDTA 10 mM, SDS al 2 % y proteinasa K a una concentración de 0.2 mg/mL. La mezcla se homogeneizó mediante agitación en vórtex y se incubó a 38 °C durante una hora.

Luego, se añadieron 70 μL de NaCl 5 M y 30 μL de CTAB al 10 %, agitando nuevamente durante 10 segundos. Esta preparación se incubó a 65 °C por una hora adicional. Finalizada la incubación, se agregó una fase orgánica (700 μL de una mezcla cloroformo:alcohol isoamílico en proporción 24:1), se mezcló brevemente en vórtex y se centrifugó a 13,000 g por 10 minutos en una centrífuga Eppendorf 5810 R (EE.UU.). El sobrenadante obtenido se transfirió cuidadosamente a un nuevo tubo de microcentrífuga, donde se adicionaron 640 μL de isopropanol y 60 μL de acetato de sodio 3 M. Esta solución fue mezclada por inversión suave (4 a 5 veces) y conservada a -20 °C durante 10 minutos para facilitar la precipitación del ADN.

Posteriormente, se realizó una nueva centrifugación a 13,000 g por 10 minutos. El pellet de ADN fue lavado con 500 μL de etanol al 70 %, seguido de otra centrifugación de 5 minutos. Tras eliminar el sobrenadante, los tubos se dejaron destapados sobre papel absorbente hasta la completa evaporación del alcohol. Finalmente, el ADN se resuspendió en 100 μL de agua estéril libre de nucleasas (Promega) y su concentración y pureza fueron determinadas mediante un espectrofotómetro Nanodrop Lite (Thermo Scientific®, EE.UU.). Las muestras purificadas se almacenaron a -20 °C.

Para la amplificación del espaciador transcrito interno 2 (ITS2), se utilizaron los cebadores ITS1 (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) e ITS4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC), según lo descrito por White y colaboradores (1990). La mezcla para PCR tuvo un volumen total de 50 μL , compuesta por buffer 1x, 2.5 mM de MgCl_2 , 0.2 mM de cada dNTP, 0.8 μM de cada iniciador, 0.04 U de ADN polimerasa (Promega, EE.UU.) y 4 ng de ADN genómico. Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador C-1000 (Bio-Rad, EE.UU.) bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 30 segundos, alineamiento a 55 °C por 30 segundos

y extensión a 72 °C durante 1 minuto, finalizando con una extensión terminal de 10 minutos a 72 °C.

La verificación de los productos de amplificación se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % preparado con tampón TAE 1X. Se aplicaron 5 µL del producto de PCR junto con 3 µL de buffer de carga, y la separación se efectuó a 90 V. Los resultados fueron visualizados en un transiluminador UV M-26X utilizando el sistema de documentación GelDoc-It™ 300 (UVP, EE.UU.).

Los fragmentos obtenidos mediante los cebadores ITS1 e ITS4 fueron purificados con el kit DNA Clean & Concentrator™-5 (Zymo Research, EE.UU.) y enviados para secuenciación a la empresa Macrogen® (Corea). Las secuencias fueron alineadas y comparadas con entradas disponibles en la base de datos del NCBI utilizando la herramienta BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), y se obtuvieron los respectivos números de acceso.

3.2.4. Postulados de Koch de las cepas obtenidas en durazno

Para los postulados de Koch se usaron ramas de durazno con un largo de 15 cm. Dichas ramas se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 10% durante 5 minutos, después se enjugaron 2 veces con agua destilada estéril. Con ayuda de una navaja se realizaron heridas para levantar la corteza y colocar el tampón con el hongo se tomó una caja Petri ya con el hongo purificado en medio de cultivo de malta, la colonia formada tenía una edad de 16 días, con ayuda de un sacabocados se hicieron tampones de 4 mm de diámetro, los cuales servirían como fuente de inóculo en ramas de durazno, dichas ramas se establecieron en una cámara húmeda en el laboratorio de micología en el departamento de Parasitología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Estado de México. Las heridas se cubrieron con algodón

húmedo y se protegieron con Parafilm (Pechiney Plastic Packaging, EE. UU.). También se inocularon ramas con tapones de agar estériles no colonizados como tratamientos de control. En este experimento se utilizó un diseño completamente al azar, después de 1 mes de incubación se midieron el largo y ancho de los síntomas provocados en las ramas. Se realizó un nuevo aislamiento de los síntomas para cumplir los postulados de Koch, y se verificaron las estructuras microscópicas, además se hizo un análisis de varianza con la finalidad de evaluar la severidad de las cepas.

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Caracterización morfológica y molecular de las cepas obtenidas en Michoacán

3.3.1.1. Caracterización morfológica cepas D1M y D2M

Los síntomas observados fueron necrosis vascular extendida a lo largo de las ramas como se muestra en la figura 3 y 4. De las cepas obtenidas se seleccionaron las dos más representativas (D1M y D2M). Las colonias tuvieron un color blanquecino al inicio, después se volvieron verde oliva a marrón oscuro. Los conidios fueron largos, elipsoides, hialinos o ligeramente pigmentados y unicelulares. El tamaño de los conidios para la cepa D1M osciló de 3.04 a 6.73 μm (promedio 5 μm) de largo, $\times$ 1.82 a 3.69 μm (promedio 2.67 μm) de ancho; mientras que la cepa D2M fluctuó de 4.35 a 6.95 μm (promedio 5.62 μm) de largo $\times$ 2.05 a 3.77 μm (promedio 2.73 μm) de ancho. El hongo compartió características morfológicas de *Didymella glomerata* (Corda) Q. Chen y L. Cai como lo describieron Boerema *et al.* (1993) y Chen *et al.* (2015) (Pan *et al.*, 2018)

3.3.1.2. Caracterización molecular cepas D1M y D2M

De las dos cepas obtenidas se obtuvieron secuencias de la región 5.8 S del RNA ribosomal, con un tamaño de 512 pb, al analizarlo con la herramienta BLASTn del NCBI, se encontró 100% de similitud con *Didymella glomerata* (número de acceso: LC375366), lo cual coincide con la caracterización morfológica.

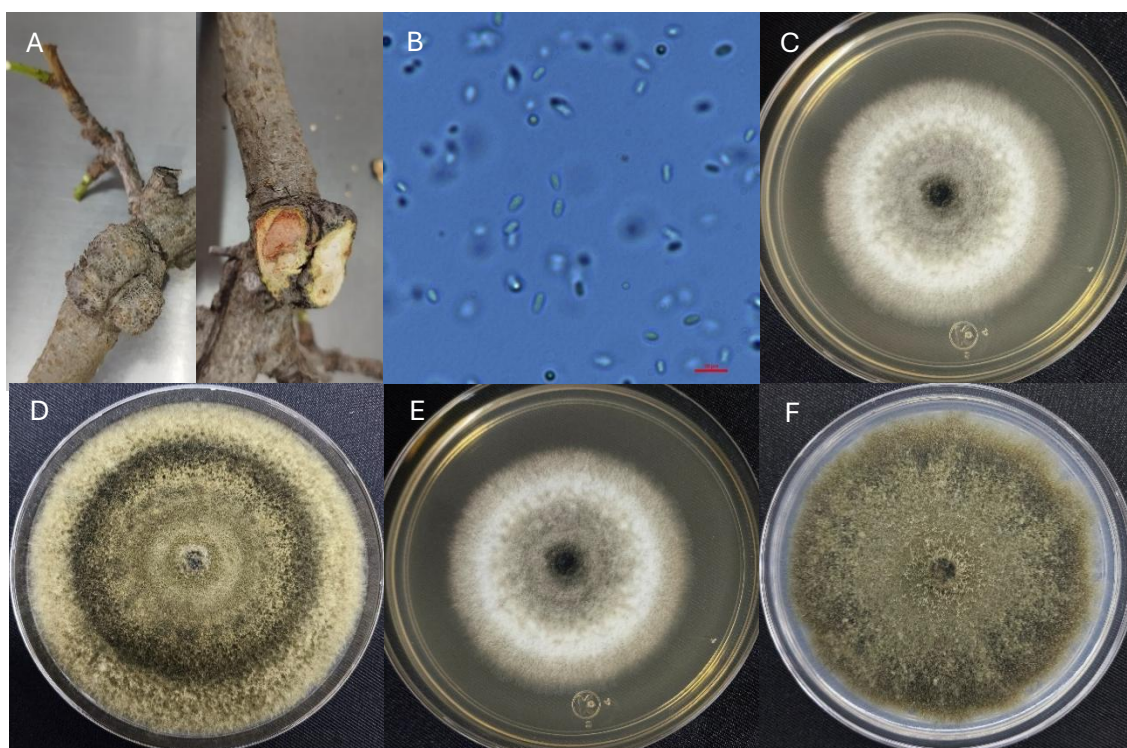


Figura 3.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Didymella glomerata* cepa 1. A) Cancro en muestras recolectadas, B) Conidios, C) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo Malta, D) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo Malta, E) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa, F) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa.

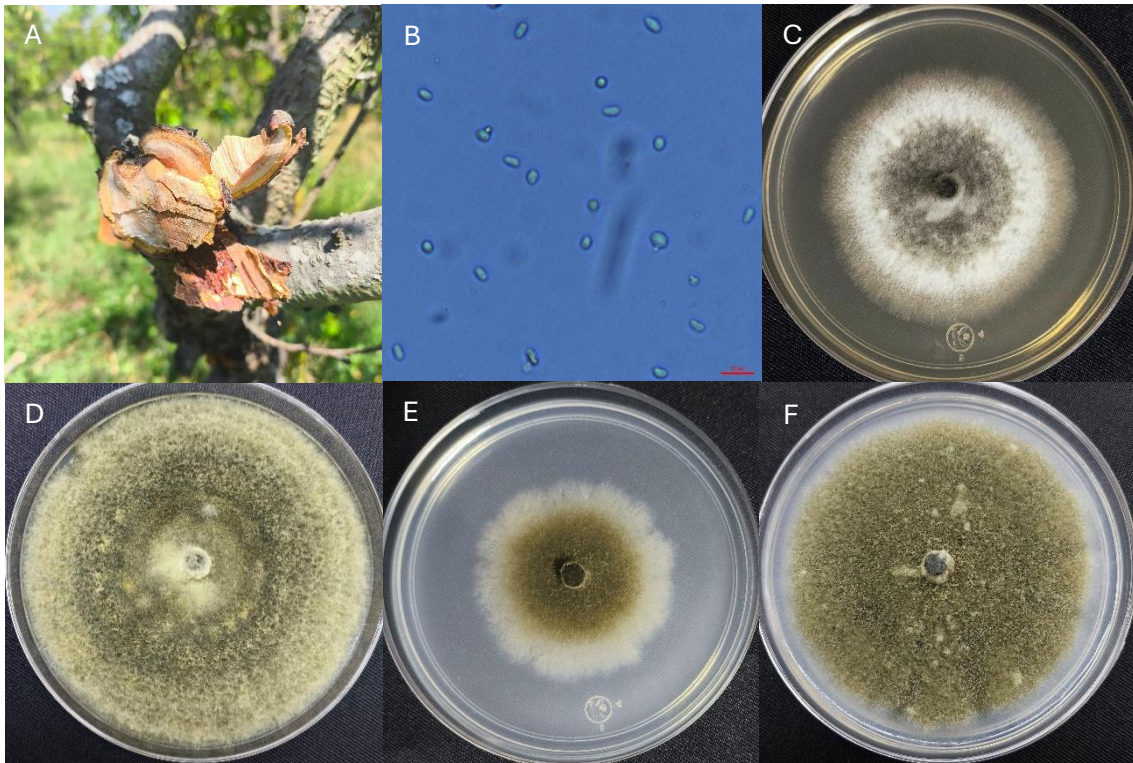


Figura 4.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Didymella glomerata* cepa 2. A) Cancro extendido vía vascular en ramas, B) Conidios, C) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo malta, D) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo malta, E) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa, F) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa.

3.3.2. Caracterización morfológica y molecular de las cepas obtenidas en Chihuahua

3.3.2.1. Caracterización morfológica cepas N1Ch y N2Ch

Se observaron cancro y gomosis de las muestras que se obtuvieron como se muestra en la figura 5 y 6, de estas se obtuvieron 4 cepas, dos de las cuales compartían características

(N1Ch, N2Ch). Las colonias de agar extracto de malta (MEA) tenían márgenes regulares y el micelio aéreo blanco a gris pálido cubría toda la colonia después de 14 días, teniendo segmentos de coloración verde oliva y algunas formas concéntricas. Los picnidios negros se dispersaron cerca del centro del medio a los 14 días. Los picnidios eran globosos, glabros, ostiolados. Los conidios eran subglobosos a ovalados, de paredes delgadas, lisos y aseptados, midiendo de 4.78 a 8.96 μm (promedio 6.18 μm) de largo $\times$ 3.03 a 5.11 μm (promedio 3.78 μm) de ancho para la cepa N1Ch, por otra parte, la cepa N2Ch midió de 3.21 a 6.81 μm (promedio 4.75) de largo $\times$ 2.04 a 3.71 μm (promedio 2.67 μm) de ancho. Estas características coinciden con *Nothophoma quercina* de acuerdo con los datos reportados por Jiao *et al.* (2017).

3.3.2.2. Caracterización molecular cepas N1Ch y N2Ch

Se obtuvieron secuencias de la región 5.8 S del RNA ribosomal, con un tamaño de 512 pb, al analizarlo con la herramienta BLASTn del NCBI, se encontró 100% de similitud con *Nothophoma quercina* (número de acceso: OQ555038), lo cual coincide con la caracterización morfológica.

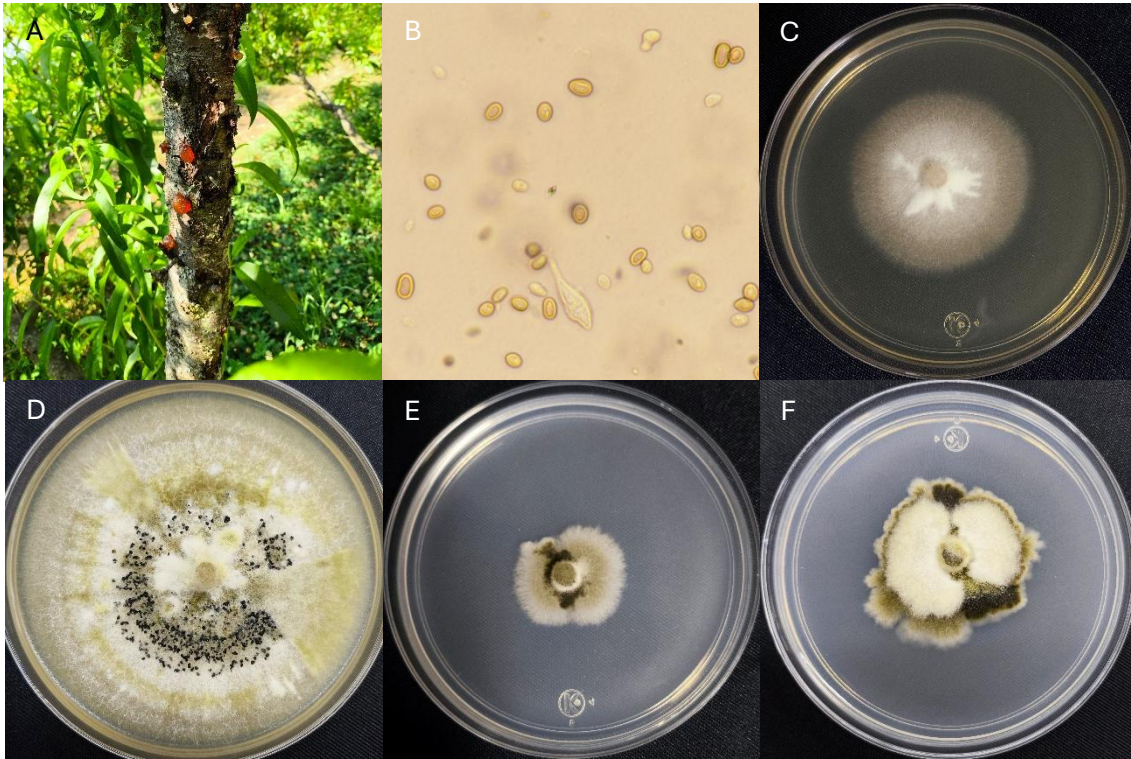


Figura 5.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Nothophoma quercina* cepa 1. A) Cancro y gomosis en tallos, B) Conidios, C) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo Malta, D) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo Malta, E) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa, F) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa.

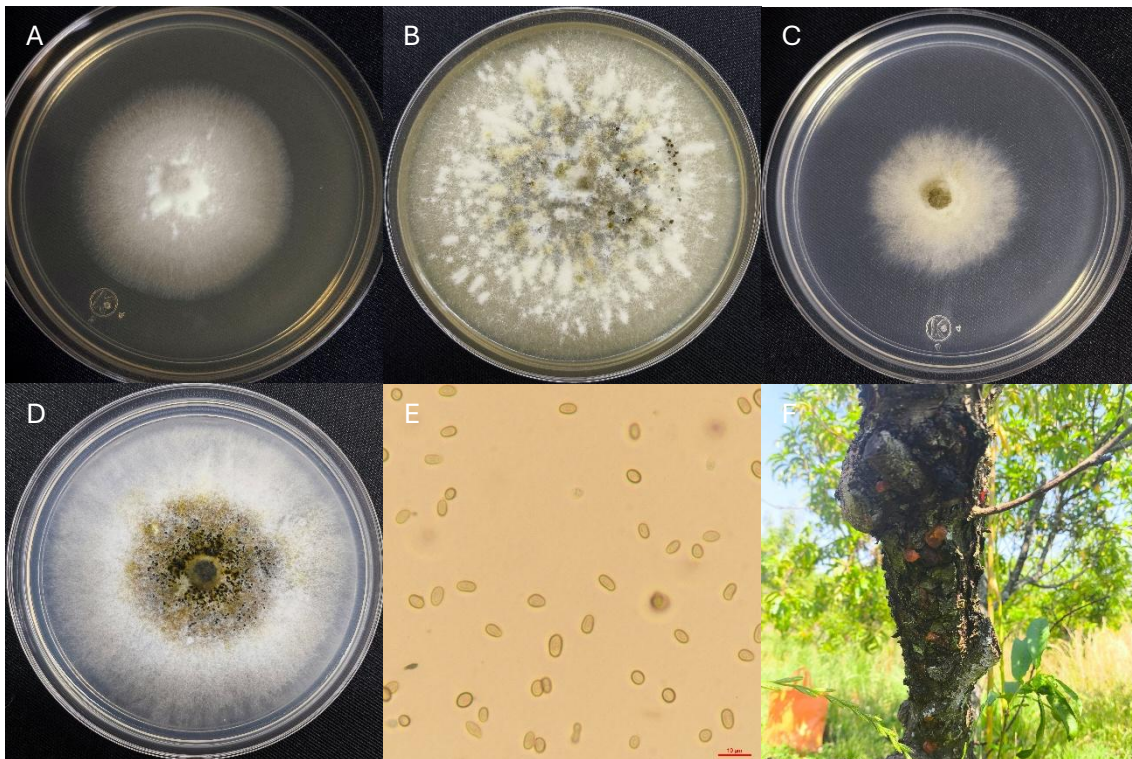


Figura 6.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Nothophoma quercina* cepa 2. A) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo malta, B) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo malta, C) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa, D) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa, E) Conidios, F) Cancro y gomosis en tallos.

3.3.2.3. Caracterización morfológica cepas B1Ch y B2Ch

Otras dos cepas fueron seleccionadas que compartían características de las muestras colectadas en Chihuahua (Figura 7 y 8), de las cuales se identificaron como B1Ch y B2Ch. La cepa B1Ch tenía conidios de largo 4.02 a 6.41 promedio 4.83, ancho 2.01 a 3.18 promedio 2.54 μm . Y la cepa B2Ch - Conidios largo 4.04 a 6.65 promedio 5.01, ancho 2.02 a 2.95

promedio 2.57 μm . La literatura describe a las ascosporas como ovoides, de color marrón negruzco, con extremos estrechos y redondeados, de 6,9 μm a 9,1 $\times$ 14,6 a 20,0 μm . Las colonias cultivadas en PDA a 25 °C durante 5 días eran grises vistas desde la parte superior y negras vistas desde la parte inferior de la placa. Las ascosporas eran ovoides, de color marrón negruzco, con extremos estrechos y redondeados, de 6,5 a 8,9 $\times$ 13,4 a 19,3 μm . Los tejidos sintomáticos sembrados en agar papa dextrosa (PDA) e incubados a 25 °C durante 7 días produjeron colonias grises vistas desde arriba y negras desde abajo (Rostamian *et al.*, 2016; Ragazzi *et al.*, 21012). Sin embargo, en la presente investigación no se pudieron observar ascosporas.

3.3.2.4. Caracterización molecular cepas B1Ch y B2Ch

Se obtuvieron secuencias de la región 5.8 S del RNA ribosomal, con un tamaño de 512 pb, al analizarlo con la herramienta BLASTn del NCBI, se encontró 100% de similitud con *Biscogniauxia mediterranea* (número de acceso: PQ611453), lo cual coincide con la caracterización morfológica.

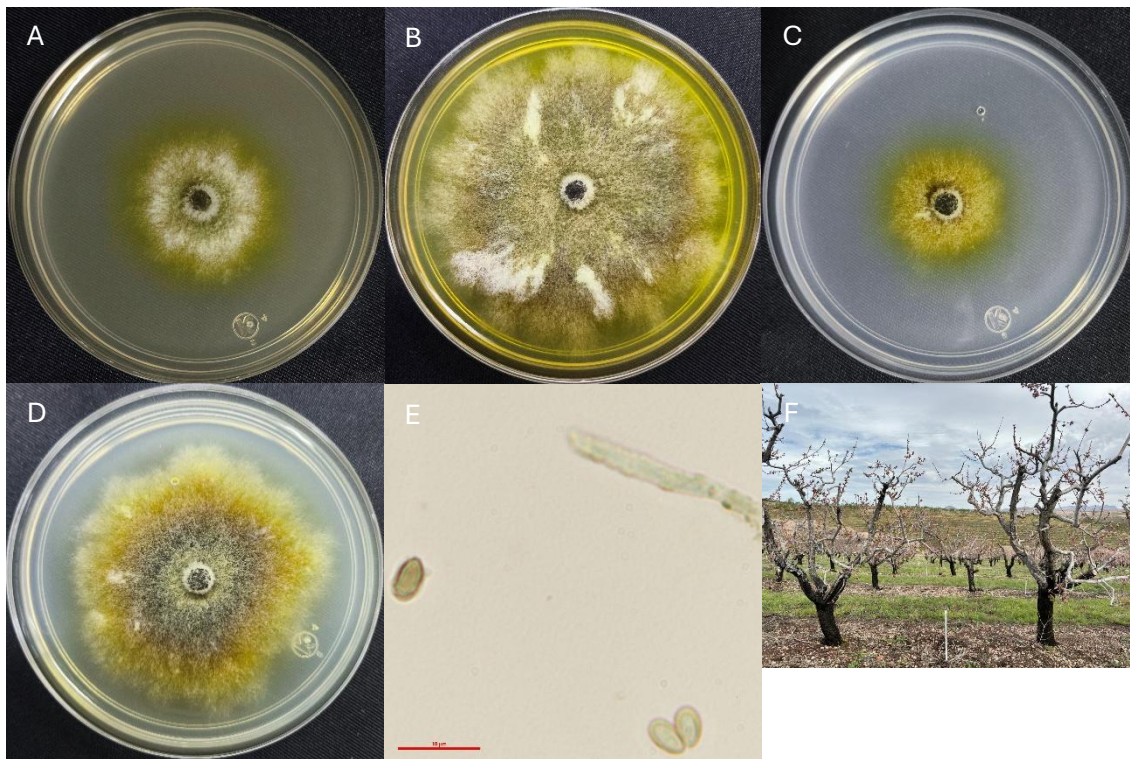


Figura 7.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Biscogniauxia mediterranea* cepa 1. A) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo malta, B) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo malta, C) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa, D) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa, E) Conidios, F) Cancro severo en huertas.

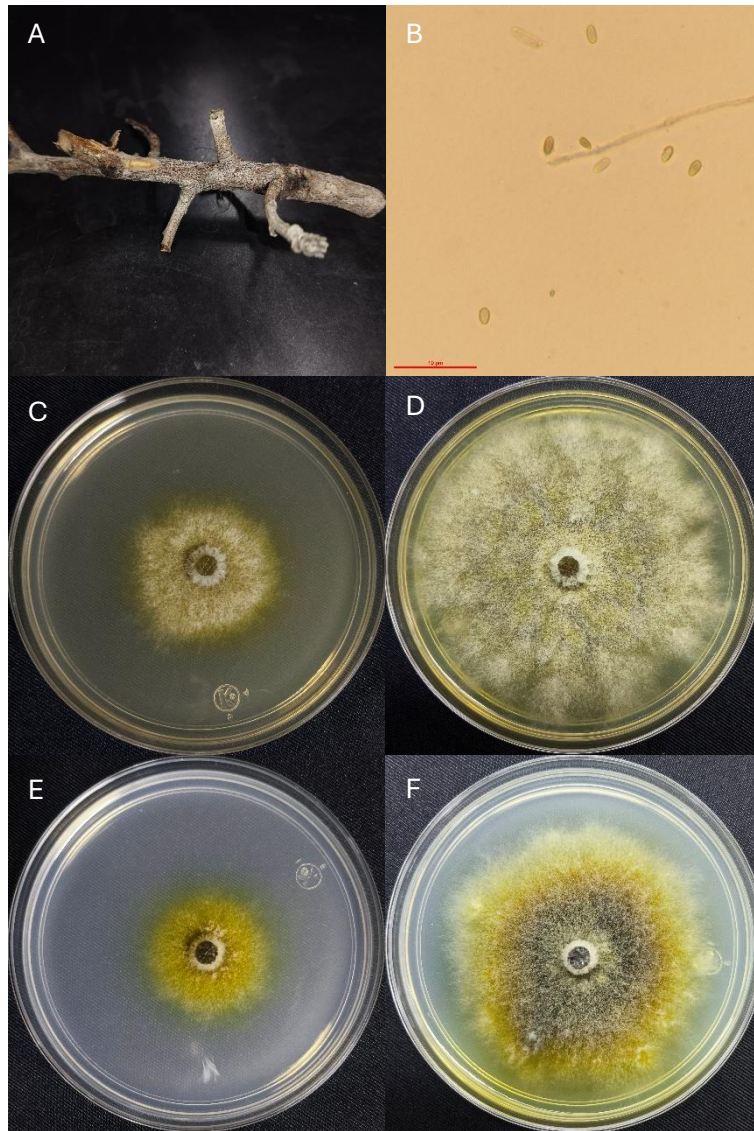


Figura 8.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Biscogniauxia mediterranea* cepa 2. A) Cancro en muestras recolectadas, B) Conidios, C) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo Malta, D) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo Malta, E) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa, F) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa.

3.3.2.5. Caracterización morfológica cepa C2Ch

En las ramas secundarias se encontraron síntomas internos de los canchros, los cuales se extienden vía vascular como se observa en la figura 9. De estas muestras se obtuvo la cepa C2Ch. Las colonias fueron inicialmente de color blanco, después de 3 días se tornó verde oliva, en 14 días ya tenía una tonalidad verde oliva más oscura. Los conidios fueron hialinos, alantoides y unicelulares, las medidas fueron de largo 3.31 a 5.1 μm (promedio 4.24 μm), $\times$ ancho 1.02 a 1.81 μm (promedio 1.36 μm), que fueron consistentes con las descripciones de *Cytospora leucostoma* (sinónimo *Valsa leucostoma*) en el informe de Zhang *et al.* (2014).

3.3.2.6. Caracterización molecular cepa C2Ch

Se obtuvieron secuencias de la región 5.8 S del RNA ribosomal, con un tamaño de 512 pb, al analizarlo con la herramienta BLASTn del NCBI, se encontró 100% de similitud con *Cytospora leucostoma* (número de acceso: JN792579), lo cual coincide con la caracterización morfológica.

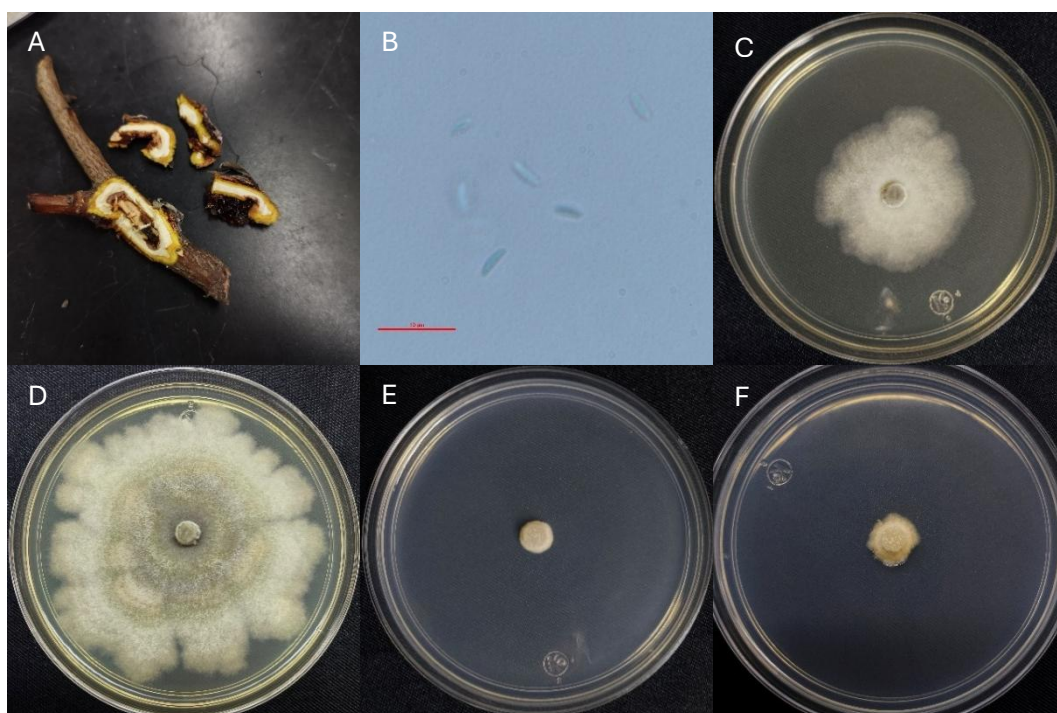


Figura 9.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Cytospora leucostoma* cepa 2. A) Cancro en muestras recolectadas, B) Conidios, C) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo Malta, D) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo Malta, E) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa, F) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa.

3.3.3. Caracterización morfológica y molecular de las cepas obtenidas en el Estado de México

3.3.3.1. Caracterización morfológica cepa C3EM

En el estado de México, se observaron cancro avanzados en los troncos y ramas como se puede ver en la figura 10. Se obtuvo una cepa (C3EM) con conidios largo 3.02 a 5.55 promedio 4.40 μm , ancho 1.01 a 1.97 promedio 1.27 μm . La colonia de este patógeno fue inicialmente de color blanco y se volvieron verde oliva en 3 días, a los 14 días ya tenía una tonalidad verde oliva más oscura. Los conidios procedentes en la colonia fueron hialinos, alantoides y unicelulares, las medidas fueron de largo 3.02 a 5.55 μm (promedio 4.40 μm), $\times$ ancho 1.01 a 1.97 μm (promedio 1.27 μm), que fueron consistentes con las descripciones de *Cytospora leucostoma* (sinónimo *Valsa leucostoma*) en el informe de Zhang *et al.* (2014).

3.3.3.2. Caracterización molecular cepa C3EM

Se obtuvieron secuencias de la región 5.8 S del RNA ribosomal, con un tamaño de 512 pb, al analizarlo con la herramienta BLASTn del NCBI, se encontró 100% de similitud con *Cytospora leucostoma* (número de acceso: JN792579), lo cual coincide con la caracterización morfológica.

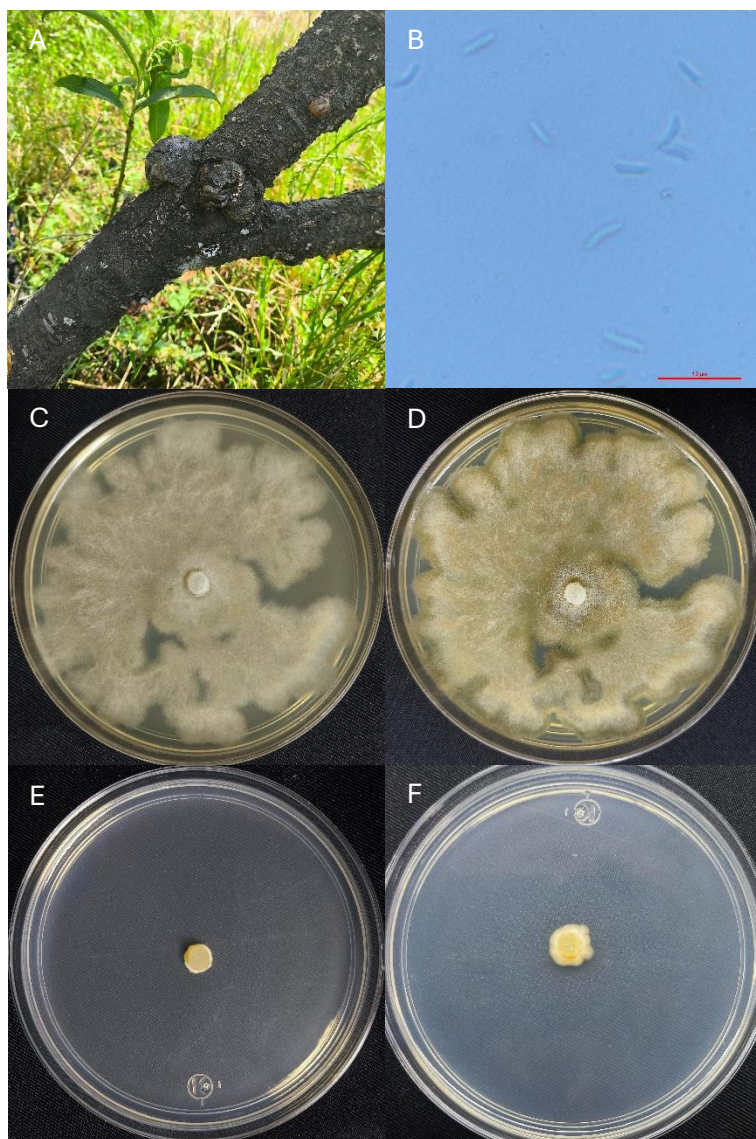


Figura 10.- Colonia, estructuras de reproducción y estructuras de resistencia de *Cytospora leucostoma* cepa 3. A) Cancro en ramas, B) Conidios, C) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo Malta, D) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo Malta, E) Crecimiento de la colonia a los 7 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa, F) Crecimiento de la colonia a los 14 días en medio de cultivo agar dextrosa de papa.

3.3.4. Postulados de Koch de diferentes cepas de cancro en durazno en laboratorio

Después de un mes en cámara húmeda, se confirmó la patogenicidad de todas las cepas obtenidas (Figura 11). La tabla de virulencia proporciona datos sobre las cepas estudiadas, mostrando diferencias significativas en sus medidas de ancho y largo, lo que puede estar relacionado con su capacidad patogénica o de colonización en el estudio de los postulados de Koch.

La mayor virulencia se encontró en la cepa B1Ch con un valor de 7.30 mm de ancho, y de 24.93 mm de largo siendo uno de los mayores, esto se puede interpretar que posee una mayor agresividad o desarrollo en las condiciones evaluadas. N1Ch también mostró valores altos en longitud (22.82 mm).

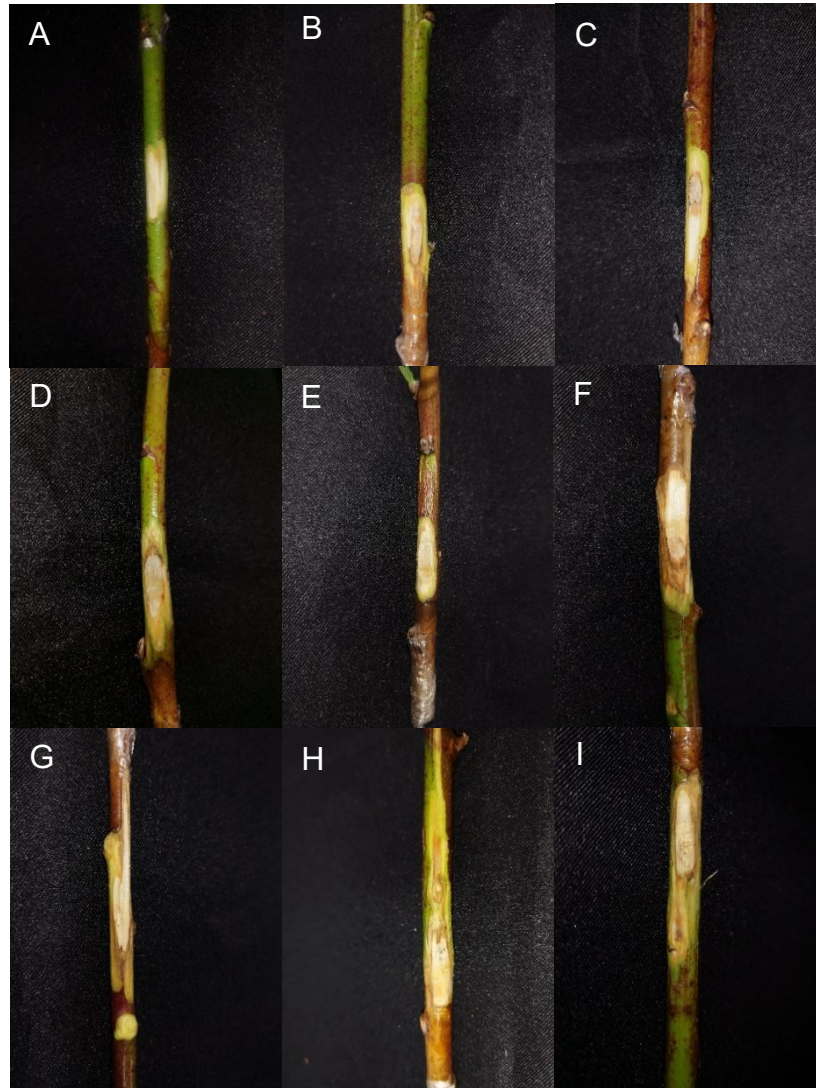


Figura 11.- Pruebas de patogenicidad en laboratorio. A) Testigo, B) D1M, C) D2M, D) N1Ch, E) N2Ch, F) B1Ch, G) B2Ch, H) C2Ch, I) C3Ch.

La menor severidad se encontró en la cepa C2Ch, ya que obtuvo el menor tamaño en ambas dimensiones (1.49 mm de ancho y 11.49 mm de largo), esto se entiende que posiblemente sea menos virulenta o que tiene una menor adaptación al medio de cultivo en el experimento. Las cepas intermedias son D2M, D3M, N2Ch, B2Ch y C3EM, donde hay valores que oscilan entre 4.15 mm y 5.41 mm de ancho, y 14.93 mm y 20.91 mm de largo, lo que apunta a un

crecimiento moderado respecto a colonización y crecimiento (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de la virulencia en ramas por las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México en laboratorio en 2024.

Cepa	Medias	
	Ancho	Largo
D2M	5.08 b*	20.91 ab
D3M	4.22 b	20.38 ab
N1Ch	5.41 b	22.82 a
N2Ch	5.15 b	15.20 ab
B1Ch	7.30 a	24.93 a
B2Ch	4.15 b	17.37 ab
C2Ch	1.49 c	11.49 b
C3EM	4.94 b	14.93 ab

* Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

3.3.5. Tasa de crecimiento con diferentes medios de cultivo

El medio de cultivo MEA favoreció la tasa de crecimiento de las cepas en ambos ensayos. Generalmente la mayoría de las cepas muestran tasas de crecimiento más altas en MEA que en PDA. Especialmente en el caso de C1P, cuya diferencia de crecimiento entre los medios es notable.

Tanto en el ensayo I y II, la mejor la cepa fue C1P ya que se observó una mayor tasa de crecimiento. Para el ensayo I, su tasa de crecimiento fue de 26.62 en el medio MEA, por otra parte, en PDA fue de 6.63. Ahora bien, en el ensayo II, su crecimiento en MEA fue 22.09, y en PDA apenas 1.07. De esta forma podemos interpretar que C1P crece significativamente mejor en MEA que en PDA. Por lo contrario, C2Ch (*Cytospora leucostoma*, Chihuahua) desarrolló la menor tasa de crecimiento para ambos ensayos. Ya que en el ensayo I, el

crecimiento en PDA fue de 1.50 y en el ensayo II, su tasa en PDA fue aún más baja, 0.93, manifestando una reducción con respecto al primer ensayo. Esto se puede interpretar que C2Ch tiene una baja adaptación en PDA.

Cuadro 3. Tasas de crecimiento de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con diferentes medios de cultivo in vitro (Ensayo I)

Medio	Cepa	Tasa de Crecimiento	Error Estándar	Prob.	R ²
MEA	C1P	26.62	2.13	<0.0001	0.95
MEA	D1M	7.58	0.12	<0.0001	0.99
MEA	D2M	6.59	0.08	<0.0001	0.99
MEA	N1Ch	6.54	0.14	<0.0001	0.98
MEA	N2Ch	5.98	0.19	<0.0001	0.96
MEA	B1Ch	4.95	0.12	<0.0001	0.97
MEA	B2Ch	4.99	0.12	<0.0001	0.97
MEA	C2Ch	4.41	0.08	<0.0001	0.99
MEA	C3EM	4.34	0.13	<0.0001	0.96
PDA	C1P	6.63	0.34	<0.0001	0.90
PDA	D1M	6.68	0.06	<0.0001	0.99
PDA	D2M	6.77	0.14	<0.0001	0.98
PDA	N1Ch	3.94	0.09	<0.0001	0.98
PDA	N2Ch	5.12	0.20	<0.0001	0.94
PDA	B1Ch	3.41	0.10	<0.0001	0.96
PDA	B2Ch	3.46	0.05	<0.0001	0.98
PDA	C2Ch	1.50	0.06	<0.0001	0.92
PDA	C3EM	6.08	0.12	<0.0001	0.98

C1P *Cytospora leucostoma* Puebla, D1M *Didymella glomerata* Michoacán, D2M *Didymella glomerata* Michoacán, N1Ch *Nothophoma quercina* Chihuahua, N2Ch *Nothophoma quercina* Chihuahua, B1Ch *Biscogniauxia mediterránea* Chihuahua, B2Ch *Biscogniauxia mediterránea* Chihuahua, C2Ch *Cytospora leucostoma* Chihuahua, C3EM *Cytospora leucostoma* Estado de México

En general, las tasas de crecimiento en MEA en el ensayo I son más altas que en el ensayo II, cabe mencionar algunas excepciones como la cepa N2Ch, que muestra un aumento en el segundo ensayo (5.98 a 6.78). De igual manera se encontraron comportamientos con inconsistencias en PDA, ya que algunas cepas experimentan descensos en su crecimiento en el segundo ensayo, como es el caso de C1P (6.63 a 1.07) y C2Ch (1.50 a 0.93), lo que podría revelar variaciones en las condiciones experimentales.

Los resultados de estos ensayos respecto a las tasas de crecimiento en medios de cultivo MEA y PDA concuerdan con tendencias observadas en estudios anteriores. En general, MEA ha sido reconocido como un medio más favorable para el crecimiento micelial en diversas especies. Por ejemplo, un estudio sobre *Ganoderma lucidum* encontró que el medio de cultivo extracto de malta agar (MEA) promovió un incremento óptimo en comparación con PDA, lo que indica que el medio MEA es rico en nutrientes, por lo que pueden ser más adecuado para ciertos hongos (Hernández & Sánchez, 2021). Asimismo, investigaciones sobre obtención de micelio han confirmado que la elección del medio de cultivo influye de manera significativa en la tasa de crecimiento (Rodríguez *et al.*, 2014).

Sabemos que estas investigaciones no se enfocan específicamente en las cepas de que estamos estudiando, pero los patrones observados en el análisis son consistentes con hallazgos previos en el área de microbiología. Lo ideal sería comparar reportes más precisos, que sean específicos a nuestras cepas de estudio en medios de cultivo MEA y PDA, aunque dicha información de estos medios es limitada para dichas cepas es limitada.

Cuadro 4. Tasas de crecimiento de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con diferentes medios de cultivo in vitro (Ensayo II)

Medio	Cepa	Tasa de crecimiento	Error Estándar	Prob.	R ²
MEA	C1P	22.09	0.86	25.44	0.98
MEA	D1M	6.91	0.17	40.27	0.97
MEA	D2M	6.95	0.18	37.17	0.98
MEA	N1Ch	5.96	0.19	30.36	0.96
MEA	N2Ch	6.78	0.05	136.7	0.99
MEA	B1Ch	5.45	0.07	71.97	0.99
MEA	B2Ch	5.32	0.09	56.35	0.98
MEA	C2Ch	5.98	0.31	18.79	0.90
MEA	C3EM	5.52	0.63	8.72	0.68
PDA	C1P	1.07	0.09	11.02	0.76
PDA	D1M	5.63	0.19	28.97	0.96
PDA	D2M	5.46	0.20	27.23	0.95
PDA	N1Ch	2.95	0.06	45.94	0.98
PDA	N2Ch	5.57	0.09	57.76	0.98
PDA	B1Ch	4.41	0.05	74.61	0.99
PDA	B2Ch	4.29	0.06	66.97	0.99
PDA	C2Ch	0.93	0.16	5.64	0.44
PDA	C3EM	1.22	0.20	5.89	0.66

C1P *Cytospora leucostoma* Puebla, D1M *Didymella glomerata* Michoacán, D2M *Didymella glomerata* Michoacán, N1Ch *Nothophoma quercina* Chihuahua, N2Ch *Nothophoma quercina* Chihuahua, B1Ch *Biscogniauxia mediterránea* Chihuahua, B2Ch *Biscogniauxia mediterránea* Chihuahua, C2Ch *Cytospora leucostoma* Chihuahua, C3EM *Cytospora leucostoma* Estado de México.

3.3.6. Comparación de análisis de medias relación medio de cultivo por día

Los análisis de cuadros de comparación de medias nos ayudan a identificar la cepa con mayor rendimiento en los diferentes días evaluados. En estos ensayos en la relación medios – días, la cepa CP1 destacó con un mayor crecimiento para la mayoría de los casos, logrando alcanzar valores altos en cada día evaluado, principalmente en el medio de cultivo MEA. Por otra parte, en PDA las cepas D1M y D2M también mostraron un desarrollo notorio, aunque

con fluctuaciones en algunos días.

Las diferencias entre cepas por ensayo y medio, por ejemplo, el medio MEA en el ensayo I la cepa C1P presenta los valores más altos de crecimiento, seguido de D1M y D2M. Por otra parte, el ensayo II, la cepa C1P siguió dominando, pero a su vez la cepa C3EM mostró un comportamiento atrayente en las últimas evaluaciones, acercándose en crecimiento.

El medio PDA en el ensayo I, la cepa C1P mantiene una ventaja en crecimiento, no obstante, D1M y D2M estuvieron cerca, especialmente en días posteriores, para el ensayo II, la cepa D1M y D2M exhiben los valores más altos, mostrando que el medio PDA les beneficia en términos de crecimiento.

Las cepas de la categoría Ch (como N1Ch, N2Ch, B1Ch, B2Ch y C2Ch) presentan un menor crecimiento en comparación con C1P y D1M/D2M, aunque algunas muestran incrementos significativos en días específicos.

Hay diferencias clave entre ambos ensayos, especialmente en el aumento del crecimiento.

En el medio MEA, dichos valores de crecimiento tienden a ser mayores en el ensayo II, se podría considerar que tal vez hubo mejores condiciones externas para dicho ensayo o una mejor adaptación de las cepas al medio. Ahora bien, el medio PDA, algunas cepas presentaron mejor rendimiento en el segundo ensayo, pero otras mantienen su crecimiento estable en ambos ensayos. El ensayo II se percibe con un crecimiento más uniforme y estable, con poca variabilidad durante los días evaluados. Esto muestra que factores experimentales pueden haber intervenido en el desarrollo de las cepas, como condiciones ambientales o la forma en que se aplicó el medio de cultivo.

Cuadro 5. Crecimiento micelial de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con medio MEA in vitro durante trece días de evaluación (Ensayo I)

CEPA	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
C1P	32.56 a***	85.85 a					
D1M	14.35 bc	29.44 b	41.42 a	57.23 a	71.66 a		
D2M	12.94 bc	26.65 bc	39.74 ab	54.22 ab	67.45 ab	76.95 a	
N1Ch	9.43 bc	20.45 d	31.67 c	44.68 bc	57.08 bc	70.27 abc	
N2Ch	10.72 bc	22.31 cd	32.91 bc	46.57 bc	58.87 bc	71.60 ab	79.98 a
B1Ch	14.42 bc	21.85 cd	32.83 bc	38.63 c	51.28 cd	63.18 bcd	72.70 ab
B2Ch	14.96 b	19.59 d	30.75 c	39.24 c	50.72 cd	62.81 bcd	71.99 ab
C2Ch	9.38 bc	19.90 d	30.02 c	37.67 c	44.19 d	55.17 d	62.80 b
C3EM	8.72 c	24.37 bcd	33.11 bc	43.60 c	50.94 cd	57.53 cd	63.33 b
Prob.*	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
DSH**	5.80	5.15	7.99	9.76	10.63	13.07	14.47

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

Cuadro 6. Crecimiento micelial de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con medio PDA in vitro durante trece días de evaluación (Ensayo I)

CEPA	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
C1P	10.86 cd***	21.960ab	41.11 a	63.08 a	77.86 a	79.37 a	81.07 a
D1M	11.34 bc	25.707a	38.55 a	51.59 b	66.62 b	75.91 ab	
D2M	10.15 cd	25.783a	38.47 a	53.28 b	68.54 b	76.42 ab	
N1Ch	7.03 e	10.81 c	15.45 c	25.31 ef	33.17 d	43.02 d	51.70 b
N2Ch	10.43 cd	20.74 b	29.12 b	39.48 cd	50.83 c	61.28 c	74.06 a
B1Ch	13.31 ab	20.06 b	25.87 b	31.37 ef	39.13 d	46.48 d	55.11 b
B2Ch	14.24 a	19.05 b	26.65 b	32.98 de	39.22 d	48.80 d	54.57 b
C2Ch	7.44 e	10.05 c	11.45 c	14.07 g	16.93 e	20.86 e	27.26 c
C3EM	9.00 de	17.65 b	28.80 b	43.81 c	57.48 c	70.31 b	75.13 a
Prob.*	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
DSH**	2.25	5.15	5.70	7.39	7.87	7.48	14.47

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

Cuadro 7. Crecimiento micelial de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con medio MEA in vitro durante trece días de evaluación (Ensayo II)

CEPA	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
C1P	17.43 a***	59.84 a					
D1M	11.24 b	26.76 c	46.35 b	59.76 b	71.51 abc	80.88 a	
D2M	11.95 b	27.28 c	44.94 b	60.25 b	72.39 ab	80.81 a	
N1Ch	8.626 d	20.01 d	36.69 bc	49.81 bc	61.67 bcde	70.01 bc	74.69 a
N2Ch	11.17 b	24.27 cd	37.83 bc	52.87 bc	65.84 bcd	78.54 ab	
B1Ch	10.49 bc	20.51 d	30.08 c	41.08 c	53.49 e	65.35 c	73.52 a
B2Ch	11.52 b	23.26 cd	32.35 c	43.40 c	55.60 de	66.38 c	74.28 a
C2Ch	6.99 d	18.71 d	38.43 bc	51.49 bc	61.32 cde	69.38 c	76.69 a
C3EM	7.60 d	49.15 b	73.620 a	76.13 a	77.86 a	81.62 a	
Prob.*	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
DSH**	1.99	5.73	10.25	14.18	10.97	8.57	11.01

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

Cuadro 8. Crecimiento micelial de las cepas causantes de cancro obtenidas de huertas en Michoacán, Chihuahua y del Estado de México con medio PDA in vitro durante trece días de evaluación (Ensayo II)

CEPA	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
C1P	6.19 d***	7.64 f	11.00 d	12.80 d	14.14 d	15.64 d	20.89 e
D1M	10.04 b	25.33 a	38.75 a	51.80 a	64.28 a	70.66 a	75.34 a
D2M	11.34a	24.01 a	38.95 a	49.63 a	60.23 a	68.91 a	83.32 a
N1Ch	8.24 c	15.07 d	22.94 c	28.12 c	33.42 c	38.62 c	73.61 d
N2Ch	9.02 bc	21.49 b	34.52 b	46.46 a	57.41 a	67.76 a	73.61 ab
B1Ch	9.54 bc	17.17 c	25.18 c	35.09 b	44.21 b	53.14 b	61.12 bc
B2Ch	9.45 bc	18.59 c	26.41 c	36.31 b	45.60 b	53.15 b	60.01 c
C2Ch	6.45 d	7.75 f	8.55 d	9.99 d	12.78 d	15.16 d	17.54 e
C3EM	6.02 d	9.74 e	10.53 d				
Prob.*	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
DSH**	1.75	1.59	3.99	6.81	10.65	12.97	12.62

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

El medio MEA es más efectivo para el crecimiento de las cepas estudiadas, especialmente para *Cytospora leucostoma* (C1P). En cambio, PDA muestra tasas de crecimiento más bajas en la mayoría de los casos, con C2Ch como la cepa menos adaptada. Las diferencias entre ensayos pueden deberse a factores experimentales o ambientales que influyeron en la variabilidad de crecimiento (Cuadro 5 y 6). Esto resalta la importancia de realizar estudios adicionales para determinar las condiciones óptimas de cada cepa en diferentes medios.

De acuerdo con los resultados analizados, C1P se posiciona como la cepa con mejor desempeño en el medio MEA, especialmente en ambos ensayos. En el medio PDA, D1M y D2M muestran el mayor crecimiento, lo que sugiere una preferencia de estas cepas por las condiciones que ofrece este medio. Se observa que el Ensayo 2 presenta un crecimiento más homogéneo y estable, lo que podría estar relacionado con optimización en las condiciones experimentales (Cuadro 7 y 8).

3.4. CONCLUSIÓN

Se logró identificar diversos hongos asociados con cancro en ramas de durazno en cuatro estados de México. En Puebla y Estado de México se aisló *Cytospora leucostoma* como agente causal. En Michoacán, se identificó *Didymella glomerata*, mientras que en Chihuahua se aislaron tres especies distintas: *Cytospora leucostoma*, *Nothophoma quercina* y *Biscogniauxia mediterranea*, lo que evidencia una mayor diversidad fúngica para esta región.

Las pruebas de patogenicidad revelaron que *Cytospora leucostoma* provocó lesiones más extensas en ramas inoculadas, lo que sugiere una alta virulencia. Sin embargo, se requiere un estudio comparativo directo con otras especies identificadas para confirmar su agresividad relativa frente a patógenos como *Didymella glomerata*, *Nothophoma quercina* o *Biscogniauxia mediterranea*.

En cuanto al crecimiento in vitro, todas las cepas mostraron un mayor desarrollo micelial en el medio de extracto de malta (MEA), en comparación con el medio de papa dextrosa agar (PDA), indicando que este medio favorece su velocidad de crecimiento.

Estos hallazgos permiten comprender mejor la distribución regional de los hongos fitopatógenos asociados a cancro en el cultivo de durazno, destacando la importancia de *Cytospora leucostoma* y otros patógenos emergentes. Además, la diversidad fúngica hallada en Chihuahua indica la necesidad de una vigilancia fitosanitaria continua.

3.5.LITERATURA CITADA

- Boerema, G. H. "Contributions towards a monograph of Phoma (Coelomycetes)—II. Section peyronellaea." *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 15.2 (1993): 197-221.
- Chen, Q., et al. "Resolving the Phoma enigma." *Studies in mycology* 82 (2015): 137-217.
- Crous P.W., Wingfield M.J., 2018. Fungi infecting woody plants: emerging frontiers. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 40: i–iii.
- Doll D., Michailides T., Rolshausen P., 2013. Botryosphaeriaceae associated with almond trunk cankers: A threat to the almond industry? *Phytopathology* 103: S3.12.
- Gramaje D., Agustí-Brisach C., Pérez-Sierra A., Moralejo E., Olmo D., ... Armengol J., 2012. Fungal trunk pathogens associated with wood decay of almond trees on Mallorca (Spain). *Persoonia Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 28: 1–13.
- Gramaje D., Baumgartner K., Halleen F., Mostert L., Sosnowski M.R., ... Armengol J., 2016. Fungal trunk diseases: a problem beyond grapevines? *Plant Pathology* 65: 355–356.
- Guarnaccia V., Crous P.W., 2017. Emerging citrus diseases in Europe caused by species of *Diaporthe*. *IMA fungus* 8: 317–334
- Hernández-Rosas, J. C., & Sánchez Meraz, J. A. (2021). Evaluación del cultivo in vitro de una cepa mexicana de *Ganoderma lucidum*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 23(2), 36-40.
- Jiao, W. L., Zhou, R. J., Fu, J. F., Xu, H. J., & Hao, N. (2017). First report of *Nothophoma quercina* causing leaf spot disease of *Phellodendron amurense* in China. *Plant*

- Disease*, 101(10), 1820.
- León, M., Berbegal, M., Rodríguez-Reina, J. M., Elena, G., Abad-Campos, P., Ramón-Albalat, A., ... & Armengol, J. (2020). Identification and characterization of *Diaporthe* spp. associated with twig cankers and shoot blight of almonds in Spain. *Agronomy*, 10(8), 1062.
- Martino, I., Spadaro, D., & Guarnaccia, V. (2024). Fungal trunk pathogens of fruit and nut tree crops: identification, characterization, detection and perspectives for a critical global issue. *Plant Disease*, (ja).
- Pan, H., Chen, M. Y., Deng, L., Wang, Z. P., Li, L., & Zhong, C. H. (2018). First report of *Didymella glomerata* causing black spot disease of kiwifruit in China. *Plant disease*, 102(12), 2654-2654.
- Ragazzi, A., Ginetti, B., & Moricca, S. (2012). First report of *Biscogniauxia mediterranea* on English ash in Italy. *Plant Disease*, 96(11), 1694-1694.
- Rieger, M. (2006). Introduction to Fruit Crops. CRC Press.
<https://doi.org/10.1201/9780367807801>
- Rodríguez Arteaga, N., López Sánchez, C., Palma Cruz, F. de J., & León Enríquez, B. L. (2014). *Establecimiento de dos sistemas de producción de Ganoderma lucidum K. con fines medicinales*. Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. https://www-optica.inaoep.mx/~tecnologia_salud/2014/1/memorias/Resumenes/MyT2014_81_E.pdf

- Slippers, B., and Wingfield, M. J. (2007). Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: Diversity, ecology and impact. *Fungal Biology Reviews*, 21(2–3), 90–106. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.06.002>
- Zhang, M. X., Zhai, L. F., Xu, W. X., Hong, N., & Wang, G. P. (2014). First Report of *Valsa leucostoma* Causing Valsa Canker of *Pyrus communis* (cv. Duchess de'Angouleme) in China. *Plant Disease*, 98(3), 422-422.