

Pathogenicity, virulence and *in vitro* sensitivity of *Elsinoe perseae* (= *Sphaceloma perseae*) isolates to different fungicides

Patogenicidad, virulencia y sensibilidad *in vitro* de aislados de *Elsinoe perseae* (= *Sphaceloma perseae*) a diferentes fungicidas

Edna Esquivel-Miguel, José Luciano Morales-García*, Martha Elena Pedraza-Santos, Ana Tztzqui Chávez-Bárceñas, Facultad de Agrobiología Presidente “Juárez”, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Paseo Lázaro Cárdenas No. 2290, Colonia Emiliano Zapata, Uruapan, Michoacán, México, C. P. 60170; Soledad García-Morales, Unidad de Biotecnología Vegetal, CONACYT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Camino Arenero No. 1227, Zapopan, Jalisco, México, C. P. 45019; Samuel Pineda-Guillermo, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Carretera Morelia Zinapécuaro, Km. 9.5, Tarímbaro, Michoacán, México, C. P. 58880.

*Corresponding author: jose.morales@umich.mx

Received: February 10, 2023.

Accepted: August 29, 2023.

Esquivel-Miguel E, Morales-García JL, Pedraza-Santos ME, Chávez-Bárceñas AT, García-Morales S and Pineda-Guillermo S. 2023. Pathogenicity, virulence and *in vitro* sensitivity of *Elsinoe perseae* (= *Sphaceloma perseae*) isolates to different fungicides. Mexican Journal of Phytopathology 41(3): 460-478.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2302-3>

First DOI publication: August 31, 2023.

Primera publicación DOI: 31 de Agosto, 2023

Abstract. *Elsinoe perseae* (= *Sphaceloma perseae*) is the causal agent of the Mancha purpura or scab in avocado (*Persea americana*). In this study, the pathogenicity and virulence of *E. perseae* isolates from different agroecological

Resumen. *Elsinoe perseae* (= *Sphaceloma perseae*) es el agente causal de la enfermedad conocida como mancha púrpura o roña del aguacate (*Persea americana*). En este estudio se determinó la patogenicidad y virulencia de aislados de *E. perseae* procedentes de distintas áreas agroecológicas productoras de Michoacán, México. Se utilizaron plantas de vivero con frutos de aguacate de las variedades Flor de María y Méndez. Además, se evaluó la sensibilidad de los aislados *in vitro* a fungicidas químicos (azoxystrobin, tiabendazol, pyraclostrobin, cyprodinil+fludioxonil y azoxystrobin + propiconazol) y autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico (sulfato de cobre, gluconato de cobre, oxiclورو de cobre y el extracto vegetal *Larrea tridentata*). Los síntomas de mancha púrpura observados en los frutos inoculados coincidieron

producing areas of Michoacán, Mexico will be reduced. For this, nursery plants with avocado fruits of Flor de María and Méndez varieties were used. On the other hand, the *in vitro* sensitivity of chemical fungicides (azoxystrobin, thiabendazole, pyraclostrobin, cyprodinil + fludioxonil and azoxystrobin + propiconazole) and authorized for use in orchards with organic management (copper sulfate, copper gluconate, copper oxychloride and the plant extract *Larrea tridentata*). The observed symptoms of Mancha purpura in the inoculated fruits were corroborated with those described for *E. perseae* in avocado. Inoculated fruits Flor de María variety shows the highest susceptibility to the pathogen. The isolates of *E. perseae* presented different degrees of virulence. The isolates showed different *in vitro* sensitivity values to the fungicides evaluated in the experiment. The pathogen showed the most sensitivity *in vitro* to chemical fungicides: thiabendazole and azoxystrobin + propiconazole (100% inhibition), and to those authorized in orchards with organic management: *L. tridentata* and copper oxychloride (on average 58% inhibition).

Keywords: Mancha purpura, susceptibility, sensitivity, *Persea americana*.

Among the diseases that afflict avocado cultivation (*Persea americana*), economically significant conditions include anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), purple scab (*Elsinoe persea*), peduncle discoloration associated with phytopathological and nutritional issues, avocado decline (*Phytophthora cinnamomi*), and postharvest diseases. Collectively, these maladies can impact up to 40% of the yield and contribute to elevated production costs, necessitating up to six applications of fungicides per season for

con los descritos de *E. perseae* en aguacate. Las plantas variedad Flor de María inoculadas mostraron la mayor susceptibilidad al patógeno comparada con Méndez. Los aislados de *E. perseae* presentaron diferentes grados de virulencia. Los aislados seleccionados mostraron diferentes valores de sensibilidad *in vitro* a los fungicidas evaluados en la experimentación. El patógeno mostró mayor sensibilidad *in vitro* a los fungicidas químicos: tiabendazol y azoxystrobin + propiconazol (100% de inhibición), y a los autorizados en huertos con manejo orgánico: *L. tridentata* y oxiclóruo de cobre (en promedio un 58% de inhibición).

Palabras claves: Mancha púrpura, susceptibilidad, sensibilidad, *Persea americana*.

De las enfermedades que atacan al cultivo de aguacate (*Persea americana*), se consideran de importancia económica la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), la roña o mancha púrpura (*Elsinoe persea*), el anillamiento del pedúnculo asociado a problemas fitopatológicos y nutricionales, la tristeza del aguacatero (*Phytophthora cinnamomi*) y enfermedades postcosecha, afectando la cantidad y calidad de los frutos (CEDRSSA, 2017). En conjunto, estas enfermedades afectan hasta un 40% de la producción, considerándose un factor que incrementa los costos de producción, al requerir hasta seis aplicaciones de fungicidas por temporada para su control, acompañado de otras prácticas de manejo y labores culturales (Alfaro-Espino *et al.*, 2017).

La roña o mancha púrpura, se caracteriza por presentar manchas pequeñas color púrpura que conforme avanza la enfermedad se hacen más grandes y coalescen formando una mancha corchosa color café, que, aunque no llega a dañar la pulpa, afecta su calidad y es rechazada en el mercado internacional (Everett *et al.*, 2010; Morales, 2017),

management, alongside other handling practices and cultural tasks (Alfaro-Espino *et al.*, 2017).

Purple scab, also known as “sarna” or purple spot, manifests as small purple spots that enlarge and converge, resulting in corky brown patches as the disease progresses. While it does not harm the pulp directly, it impairs fruit quality and renders it unsuitable for the international market (Everett *et al.*, 2010; Morales, 2017), thereby diminishing production value by as much as 60% (Alfaro-Espino *et al.*, 2017).

The causal agent responsible for scab or purple spot is *Elsinoe perseae*. This microorganism exhibits significant morphological variability among its isolates. These isolates present a spectrum of colors, ranging from orange to light yellow, which gradually darken with age, ultimately taking on shades of red or reddish-brown. The growth rate of this fungus is rather slow, typically falling within the range of 29 to 35 mm/day. Its texture varies from viscous to cerebroid, and its shapes range from circular to irregular. A notable feature of *E. perseae* is its production of elsinochromes, pigments that come in red or orange hues and have the potential to become toxic to the host plant itself (Everett *et al.*, 2010; Morales, 2022).

In the context of *Elsinoe* species, elsinochromes play a pivotal role in influencing virulence. These pigments facilitate the invasion and colonization of the host, all while providing essential nutrients to the fungus (Chung, 2011). It has also been observed that pigment production correlates with susceptibility, potentially serving as a defense mechanism against certain antifungal products that could be detrimental to the fungus (Fuentes *et al.*, 2014).

A critical aspect of disease management involves the ability to distinguish the damage inflicted by *E. perseae* in the field from that caused by other factors, both biotic (pests) and abiotic (mechanical

afectando el valor de la producción hasta un 60% (Alfaro-Espino *et al.*, 2017).

El agente causal de la roña o mancha púrpura es *Elsinoe perseae* que se caracteriza por presentar gran variabilidad morfológica en sus aislados, variación en colores naranjas, amarillos claros, que con la edad se van oscureciendo, tornándose rojos o cafés rojizos. Este hongo presenta lento crecimiento, con una tasa de entre 29 a 35 mm/día, textura que va de viscosa a tipo cerebroide, formas de circular a irregular, y además producción de elsinocromos, que son pigmentos rojos o naranjas que llegan a ser tóxicos para la planta (Everett *et al.*, 2010; Morales, 2022).

Los elsinocromos en las especies del género *Elsinoe* influyen en su virulencia, ya que le permiten al hongo invadir al huésped, permanecer en el huésped y además le proporcionan nutrientes (Chung, 2011). La producción de estos pigmentos se ha relacionado con la sensibilidad, ya que pueden llegar a proteger al hongo de algunos productos antimicóticos (Fuentes *et al.*, 2014).

Parte importante en el control de esta enfermedad es diferencia en campo los daños ocasionados por *E. perseae* de los ocasionados por otros factores bióticos (plagas) y abióticos (daños mecánicos) que pueden provocar corchosis en el epicarpio del fruto como mecanismos de defensa de la planta y confundirse con el síntoma principal provocado por *E. perseae* (Morales, 2022). Esto para evitar el uso innecesario de fungicidas, ya que además de la antracnosis ocasionada por *C. gloeosporioides*, la roña es la enfermedad a la que se dirige el mayor número de aplicaciones de fungicidas para su prevención y control (Marroquín, 1999).

Los objetivos de este estudio fueron evaluar la patogenicidad y virulencia de aislados de *E. perseae* provenientes de diferentes áreas agroecológicas y determinar el producto más efectivo para su control *in vitro*, utilizando los fungicidas

damage). These factors can also trigger corkosis in the fruit epicarp, a defense mechanism that might be mistaken for the primary symptom caused by *E. perseae* (Morales, 2022). The accurate differentiation of these factors is crucial to prevent unnecessary fungicide application. This is especially pertinent given that, in addition to anthracnose stemming from *C. gloeosporioides*, scab receives a substantial portion of fungicide treatments for prevention and control (Marroquín, 1999).

The aims of this study encompassed an assessment of the pathogenicity and virulence of *E. perseae* isolates originating from diverse agroecological regions. Additionally, the research sought to identify the optimal product for *in vitro* control, focusing on a selection of chemical fungicides: azoxystrobin, thiabendazole, pyraclostrobin, cyprodinil+fludioxonil, as well as azoxystrobin + propiconazole. Concurrently, the study explored products sanctioned for employment in organic orchard management, specifically: copper sulfate, copper gluconate, copper oxychloride, and a plant extract derived from *Larrea tridentata*.

MATERIALS AND METHODS

Isolates of *E. perseae*. Five isolates of *E. perseae* were selected from a larger pool of 25, all collected from various agroecological zones within Michoacán. These isolates are stored in the Collection of Phytopathogenic Fungi at the Facultad de Agronomía “Presidente Juárez” of the Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, located in Uruapan, Michoacán.

To determine the isolates for examination, the sampling areas were categorized based on their

químicos: azoxystrobin, tiabendazol, pyraclostrobin, cyprodinil+fludioxonil y azoxystrobin + propiconazol y autorizados para uso en huertos con manejo orgánico: sulfato de cobre, gluconato de cobre, oxiclóruo de cobre y el extracto vegetal (*Larrea tridentata*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislados de *E. perseae*. Se utilizaron cinco aislados de *E. perseae*, de un total de 25 provenientes de distintas áreas agroecológicas de Michoacán, que se encuentran en la Colección de Hongos Fitopatógenos de la Facultad de Agronomía “Presidente Juárez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en Uruapan, Michoacán.

Para la selección de los aislados, se consideraron áreas agroecológicas de muestreo, que se dividieron con base a la altura en metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.). Se consideró la altura óptima para el desarrollo del cultivo del aguacate de 1200-2300 m.s.n.m., obteniendo un total de cinco áreas. De cada área se seleccionó al azar un aislado: 1; aislado de Cerro Colorado ECC (1200-1420 m.s.n.m.), 2; Zumpimito EZU (1421-1620 m.s.n.m.), 3; Zancandaro EZA (1621-1820 m.s.n.m.), 4; Ario de rosales EAR (1821-2080 m.s.n.m.) y 5; aislado de Canacuas ECA (2081-2300 m.s.n.m.). Debido al lento crecimiento (tasa de 0.29 a 0.35 mm por día) solo cinco aislados fueron evaluados en esta investigación.

Para realizar las pruebas *in vitro* y de patogenicidad, se reactivaron las cepas y se sembraron en medio de cultivo PDA (10 mL por caja). Las condiciones en las que se mantuvieron fueron a 28 °C y 80% de humedad. Se generaron un total de 60 réplicas (seis por área).

elevation in meters above sea level (m.a.s.l.). The altitude range of 1200-2300 m.a.s.l. was identified as optimal for avocado cultivation, leading to the identification of five distinct areas. Within each of these areas, a single isolate was randomly chosen as follows: 1) ECC isolate from Cerro Colorado (1200-1420 m.a.s.l.), 2) EZU isolate from Zumpimito (1421-1620 m.a.s.l.), 3) EZA isolate from Zacandaro (1621-1820 m.a.s.l.), 4) EAR isolate from Ario de Rosales (1821-2080 m.a.s.l.), and 5) ECA isolate from Canacuas (2081-2300 m.a.s.l.). Given their slow growth, with a rate of 0.29 to 0.35 mm per day, only these five isolates were considered for evaluation in this investigation.

To conduct *in vitro* and pathogenicity assessments, the strains were reactivated and introduced into Petri dishes containing Potato Dextrose Agar (PDA) culture medium, with each dish holding 10 mL of the medium. These cultures were kept under controlled conditions of 28 °C temperature and 80% humidity. The experimentation resulted in the creation of 60 replicates, with six replicates established for each of the specified areas.

***E. perseae* pathogenicity and virulence assays.**

One-year-old nursery avocado plants of the Flor de María and Méndez varieties were used. These plants bore 6-9 cm fruits, corresponding to the fruit filling stage. These varieties were chosen due to known susceptibility to this fungus from earlier research. Notably, the Méndez variety is owned by the Californian Brokaw nursery, while the Flor de María variety is undergoing registration for plant breeders' rights (Compean, 2020). The plants were housed at the nursery of the Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez."

One month before starting the experiment, the plants were treated with Switch® fungicide (1 g per liter of water) and Oleotech higuierilla

Ensayos de patogenicidad y virulencia de *E. perseae*. Se utilizaron plantas de aguacate de vivero de un año de edad de las variedades Flor de María y Méndez, con frutos de 6-9 cm (etapa de llenado de fruto). Estas variedades se seleccionaron ya que en estudios previos se observó su susceptibilidad a dicha hongo. La variedad Méndez, son propiedad del vivero californiano Brokaw y Flor de María está en proceso de registro de derechos de obtentor (Compean, 2020). Las plantas se mantuvieron en el vivero de la Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez". Un mes antes del inicio del experimento las plantas se trataron con el fungicida Switch® (1 g L⁻¹ de agua) y Oleotech higuierilla (0.35 mL L⁻¹ agua). Lo anterior para eliminar posibles patógenos. También se fertilizaron con fosfato monopotásico (2 g por planta) y se regaron cada tercer día con aproximadamente 2 L de agua por planta para mantenerlas sanas.

Se realizó una doble inoculación, primero, con un alfiler entomológico del número cero se realizaron de 8 a 10 punciones en el epicarpio del fruto de aguacate en un área de aproximadamente 1.5 cm de diámetro para facilitar la entrada del hongo. Posteriormente, sobre el área de las punciones, con ayuda de un sacabocados se colocó una porción (5 mm de diámetro) de medio de cultivo PDA con crecimiento de *E. perseae*. Por otro lado, se realizó otra inoculación, utilizando una porción de algodón que contenía suspensión de esporas a una concentración de 1 x 10⁶ conidios mL⁻¹. La edad del hongo al momento de inoculación fue de cinco meses. Posteriormente, cada fruto de aguacate se cubrió, durante tres días, con papel parafilm y con una bolsa de polietileno, la cual funcionó como cámara húmeda.

Para medir la virulencia, se consideraron los siguientes parámetros: días en los que se presentaron los primeros síntomas, número y tamaño de manchas y caída del fruto. Las observaciones se

(0.35 mL per liter of water) to eliminate potential pathogens. Additionally, the plants received 2 g monopotassium phosphate fertilizer each and were irrigated every third day with approximately 2 liters of water per plant to maintain health.

A double inoculation was carried out on avocado fruits. Firstly, 8-10 holes were created in an approximately 1.5 cm diameter area of the avocado's outer skin using a fine entomological pin (number zero). This was done to make it easier for the fungus to enter. Following this, a piece of PDA culture medium containing *E. perseae* growth, with a diameter of 5 mm, was placed on the punctured area using a punch tool.

In addition to this method, another type of inoculation was performed. This involved putting a piece of cotton soaked in a spore suspension with a concentration of 1×10^6 conidia mL⁻¹ onto the avocado fruit. The fungus used for inoculation was five months old. After inoculation, each avocado fruit was covered with parafilm paper and then enclosed in a polyethylene bag. This created a humid environment and was maintained for a period of three days.

To assess the virulence of the fungus, several parameters were monitored over a span of 150 days. These parameters included the number and size of spots that appeared on the fruit, the time it took for the first symptoms to show, and the rate of fruit drop. Observations were conducted every three days throughout this 150-day period.

The experimental design followed a complete randomization approach. This involved using five different isolates, with each isolate having three replicates. Additionally, there was an absolute control group with no inoculation. Each individual avocado fruit served as a replicate in this setup. To analyze the data, statistical methods were employed, including Tukey's test with a significance level set at $P < 0.05$.

realizaron cada tercer día durante en un periodo de 150 días.

El diseño experimental fue completamente al azar de los cinco aislados, con tres repeticiones más un testigo absoluto, sin inocular. Se contó cada fruto de la planta como una repetición. Se realizaron análisis estadísticos y pruebas de Tukey con $P < 0.05$.

Sensibilidad de aislados de *E. perseae* a diferentes fungicidas *in vitro*. Se utilizaron cinco fungicidas químicos (Azoxystrobin 25SC 0.4 mL PF/L agua, Tiabendazol 60WP 0.6 g PF/L, Pyraclostrobin 25CE 1.0 mL PF/L, Ciprodinil+Fludioxonil 62.5WG 1.0 g PF/L y Azoxystrobin+Propiconazol 20SE 0.4 mL PF/L) y cuatro productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico (Sulfato de cobre 1.0g PF/L, Gluconato de cobre 2.0 mL PF/L, Oxiclورو de cobre 1.0 g PF/L y extracto de *Larrea tridentata* 2.0 mL PF/L). Los productos fueron evaluados con los cinco aislados de *E. perseae*. En cada uno de estos compuestos se usó la dosis del producto formulado (PF). También se incluyó un tratamiento testigo sin fungicida. El diseño fue completamente al azar, para cada fungicida y aislamiento del hongo se tuvieron cinco repeticiones, una repetición fue representada por una caja Petri.

Para el bioensayo se utilizó medio de cultivo PDA. Después del proceso de esterilización del PDA, el medio se mantuvo a 50 °C en matraces Erlenmeyer y por cada matraz se agregó la dosis previamente mencionada de cada uno de los fungicidas y se vaciaron en cajas Petri y se dejó solidificar por 24 horas. Posteriormente se colocó en el centro y por separado, un disco agar (8 mm de diámetro) que contenía micelio de cada uno de los cinco aislados del patógeno. El testigo, fue cada aislado en medio de cultivo PDA sin fungicida. Se utilizó cinco cajas por fungicida.

Sensitivity of *E. perseae* isolates to different fungicides *in vitro*. Five chemical fungicides and four products approved for use in orchards following organic practices were employed in the study. The chemical fungicides consisted of Azoxystrobin 25SC (0.4 mL formulated product per liter of water), Thiabendazole 60WP (0.6 grams formulated product per liter), Pyraclostrobin 25CE (1.0 mL formulated product per liter), Cyprodinil+Fludioxonil 62.5WG (1.0 gram formulated product per liter), and Azoxystrobin+Propiconazole 20SE (0.4 mL formulated product per liter). On the other hand, the organic management products were Copper sulfate (1.0 gram formulated product per liter), Copper gluconate (2.0 mL formulated product per liter), Copper oxychloride (1.0 gram formulated product per liter), and *Larrea tridentata* extract (2.0 mL formulated product per liter). These fungicides and products were tested against the five different *E. perseae* isolates. Each compound was applied at its recommended dose as a formulated product. A control group without any fungicide was also included for comparison. The research was organized using a completely randomized design. Each fungicide-fungus combination, along with the control, was replicated five times. In this experimental setup, one Petri dish was used as one replication.

PDA culture medium was utilized for the bioassay. After sterilizing the PDA, it was maintained at a temperature of 50 °C in Erlenmeyer flasks. The designated amount of each fungicide was then introduced into each flask. The mixture was subsequently poured into Petri dishes and allowed to solidify over a 24-hour period. Following this, a round agar disc with a diameter of 8 mm, containing mycelium from each of the five pathogen isolates, was individually placed at the center of the dishes. The control group consisted of each isolate grown

El ensayo se mantuvo en una incubadora a 24 °C y 80% de humedad relativa en completa oscuridad. Después del inicio del experimento, cada semana se midió con un vernier el diámetro de crecimiento de cada uno de los aislamientos de *E. perseae*. Para los fungicidas autorizados para huertos con manejo orgánico (sulfato de cobre, gluconato de cobre, oxiclórico de cobre y el extracto vegetal *Larrea tridentata*) se tomaron mediciones durante un mes, para los fungicidas químicos (azoxystrobin, tiabendazol, pyraclostrobin, cyprodinil+fludioxonil y azoxystrobin + propiconazol) por tres meses, esto debido a la vida media de los productos orgánicos que son de 15 a 20 días máximo y los químicos pueden llegar hasta 90 o 120 días, además, por el lento crecimiento de *E. perseae*, el cual puede tardar hasta un año en llenar la caja Petri. El porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio (PIM) se obtuvo de acuerdo con la fórmula de Pandey *et al.* (1982).

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

Donde dc = diámetro de la colonia del testigo, dt = diámetro de los tratamientos. Los datos de PIM se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Se utilizó el programa JMP de SAS Institute.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los aislamientos de *E. perseae* evaluados produjeron manchas pequeñas de color púrpura que conforme avanzó la enfermedad, las manchas fueron más grandes y coalescieron formando corchosis a los 150 días. Estos síntomas se asociaron a la enfermedad de mancha púrpura o roña del aguacate en los

on PDA without any fungicide. In total, five dishes were prepared for each fungicide.

The experiment was conducted under conditions of 24 °C temperature and 80% relative humidity. Darkness was maintained throughout the duration of the assay. As the experiment commenced, the diameter of growth for each *E. perseae* isolate was measured weekly using a vernier caliper. For the fungicides approved for use in organic orchards (copper sulfate, copper gluconate, copper oxychloride, and *Larrea tridentata* extract), measurements were taken for a span of one month. In contrast, measurements for the chemical fungicides (azoxystrobin, thiabendazole, pyraclostrobin, cyprodinil+fludioxonil, and azoxystrobin + propiconazole) extended over a period of three months. This difference was due to the relatively shorter half-life of organic products (15-20 days) compared to chemicals (90-120 days). Moreover, the sluggish growth of *E. perseae*, which could take up to a year to fill a Petri dish, necessitated an extended observation period. The calculation of the Mycelial Growth Inhibition Percentage (MIP) was performed using the formula established by Pandey *et al.* (1982).

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

Where *dc* = diameter of the control colony, *dt* = diameter of the treatments. MIP data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and means were compared with Tukey's test ($P < 0.05$). The JMP program of SAS Institute was used.

RESULTS AND DISCUSSION

All the tested isolates of *E. perseae* exhibited the development of small purple spots. As the disease advanced, these spots grew in size and eventually

frutos (Figura 1). Los síntomas observados coincidieron con los descritos por Everett *et al.* (2011), Fan *et al.* (2017) y Morales (2017; 2022).

La variedad Flor de María fue la primera en presentar síntomas con un promedio aproximado de 41 días. Mientras que, Méndez presentó síntomas a los 91 días. Esta variedad también presentó mayor número y tamaño de manchas, con un promedio de 7-8 manchas y un tamaño promedio de 3 mm; y en el caso de la variedad Méndez presentó un promedio de 2-3 manchas y un tamaño promedio de 2 mm, esto al mes de haberse observado la presencia de síntomas (Figura 2).

De acuerdo con los parámetros evaluados, se observa la susceptibilidad variedad Flor de María con respecto a la variedad Méndez, lo que concuerda con lo expuesto por Morales (2022), quien reportó que en distintas variedades de aguacate inoculadas con *E. perseae*, la variedad Flor de María fue más susceptible, presentando síntomas más severos. Al contrario de lo que menciona Morales (2017) quien dio a conocer que existe una notable preferencia de *E. perseae* por atacar con mayor incidencia y severidad en campo al cultivar Méndez. Sin embargo, en campo se observa mayor superficie sembrada de variedad Méndez que de Flor de María, por lo cual es que no se ha detectado la susceptibilidad de esta variedad a dicha enfermedad.

Con respecto al grado de virulencia de los aislados de cada una de las áreas agroecológicas, se pudo observar que la variedad Flor de María, los frutos inoculados con los aislados de Cerro Colorado (ECC) de 1200-1420 m.s.n.m. y Canacuas (ECA) de 2081-2300 m.s.n.m., fueron los primeros en presentar síntomas a los 33 días, mientras en número de manchas fue estadísticamente significativo el aislado ECC con 15 manchas. En cuanto al tamaño de las manchas no hubo diferencias significativas (Figura 3).

En los aislados de Zacandaro (EZA) y Canacuas (ECA) fueron los primeros en mostrar síntomas en

merged together, resulting in the formation of corkosis within 150 days. These visual indications were linked to the occurrence of avocado purple blotch disease, as depicted in Figure 1. The observed symptoms aligned closely with the descriptions

la variedad Méndez a los 87 días. En cuanto al número de manchas, con el aislado EZA presentaron el mayor número de manchas en los frutos; mientras que, el tamaño de manchas no presentó diferencias significativas (Figura 4). El aislado ECC



Figure 1. Symptoms of purple blotch on avocado fruit produced in pathogenicity tests by isolates of *E. perseae*, on Flor de María (top) and Méndez (down) varieties. A) ECC (1,200-1,420 m.a.s.l.), B) EZU (1,421-1,640 m.a.s.l.), C) EZA (1,641-1,860 m.a.s.l.), D) EAR (1,861-2,080 m.a.s.l.), E) ECA (2,081- 2,300 m.a.s.l.).

Figura 1. Síntomas de mancha púrpura=roña en frutos de aguacate producidos en las pruebas de patogenicidad por los aislados de *E. perseae*, en variedad Flor de María (superior) y Méndez (inferior). A) ECC (1,200-1,420 m.s.n.m.), B) EZU (1,421-1,640 m.s.n.m.), C) EZA (1,641-1,860 m.s.n.m.), D) EAR (1,861-2,080 m.s.n.m.), E) ECA (2,081-2,300 m.s.n.m.).

provided by Everett *et al.* (2011), Fan *et al.* (2017), and Morales (2017; 2022).

Symptoms appeared on the Flor de María variety first, at an average of around 41 days. The Méndez variety exhibited symptoms after 91 days. Furthermore, the Flor de María variety displayed a larger number and size of spots, averaging 7-8 spots with an average size of 3 mm. In contrast, the Méndez variety exhibited an average of 2-3 spots with an average size of 2 mm. These observations

mostró el mayor grado de virulencia en la variedad Flor de María y el aislado EZA en variedad Méndez de acuerdo con los parámetros evaluados, seguidos del aislado ECA en ambas variedades.

El área agroecológica de donde provenían los aislados de *E. perseae* pudo influir en su virulencia, ya que hubo diferencia estadística significativa con respecto a la presencia de síntomas y número de manchas. De acuerdo con López (2006) se encontró que en aislados de *Histoplasma capsulatum* provenientes de

were made one month after the initial symptom manifestation (Figure 2).

Based on the assessed parameters, a notable difference in susceptibility between the Flor de María and Méndez varieties is evident. This observation aligns with the findings of Morales (2022), who noted that among different avocado varieties inoculated with *E. perseae*, the Flor de María variety exhibited higher susceptibility and more pronounced symptoms. This contrasts with Morales' (2017) report, which suggested a clear inclination of *E. perseae* to target the Méndez cultivar with greater frequency and severity in field conditions.

However, it's important to consider that the Méndez variety holds a larger share of cultivation in the field compared to the Flor de María variety. This greater prevalence might explain why the susceptibility of the Flor de María variety to this disease hasn't been as noticeable.

In terms of the virulence level of isolates from different agroecological regions, notable findings were observed. For the Flor de María variety, the fruits inoculated with isolates from Cerro Colorado

diversas regiones geográficas presentaron diferencias en virulencia, esto debido a que un organismo se encuentra en diferentes condiciones ambientales, por lo que puede cambiar su comportamiento (incidencia y severidad) de acuerdo con la condición en que se encuentren.

Productos autorizados para su uso en huertos con manejo orgánico. Todos los productos evaluados perdieron efecto con el paso del tiempo. Sin embargo *L. tridentata* y oxiclورو de cobre desde la primera semana mostraron el mayor porcentaje de inhibición de micelio de 58%. Mientras que el gluconato de cobre mostró muy baja inhibición del micelio desde la primera semana con un 22% (Cuadro 1).

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

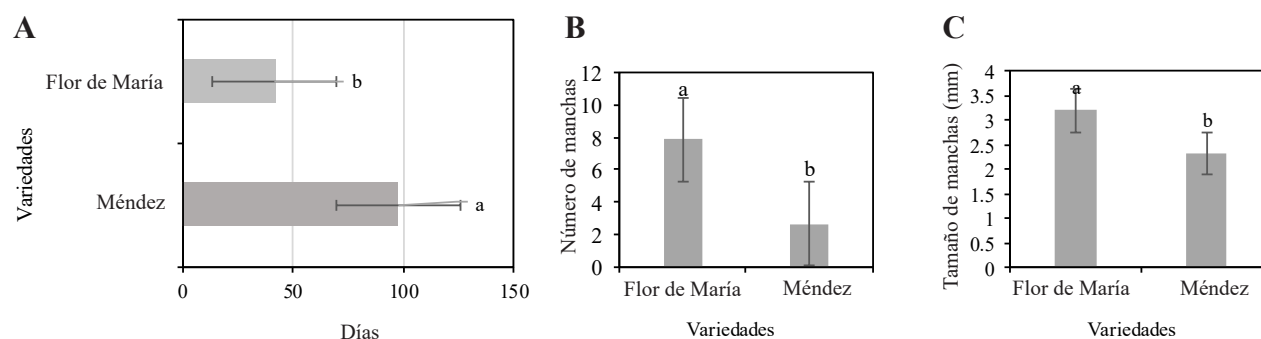


Figure 2. Comparison of Flor de María and Méndez varieties. A) Degree of damage, B) Presence of symptoms (days), C) number of spots and D) size of spots of cultivars Flor de María and Méndez. Mean values \pm standard deviation. Different letters indicate statistically significant differences according to Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

Figura 2. Comparación de dos variedades de aguacate de Flor de María y Méndez. A) Grado de daño, B) Presencia de síntomas (días), C) en número de manchas y D) tamaño de manchas de los cultivares flor de María y Méndez. Valores promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

(ECC) ranging from 1200 to 1420 meters above sea level and Canacuas (ECA) ranging from 2081 to 2300 meters above sea level, displayed symptoms earliest at 33 days. Among these isolates, the ECC strain stood out with a statistically significant count of 15 spots. However, there were no noteworthy variations in the size of the spots (Figure 3).

El efecto que mantuvo *L. tridentata* sobre los aislados de *E. perseae* inhibiendo el 58% del micelio del hongo (Cuadro 1), puede deberse a que este extracto contiene ácido nordihidroguaiaietico que según Arteaga *et al.* (2005), Gowan (2022), Vargas *et al.* (2006) y Lira (2003) tiene un alto potencial para el control de hongos productores de aflatoxi-

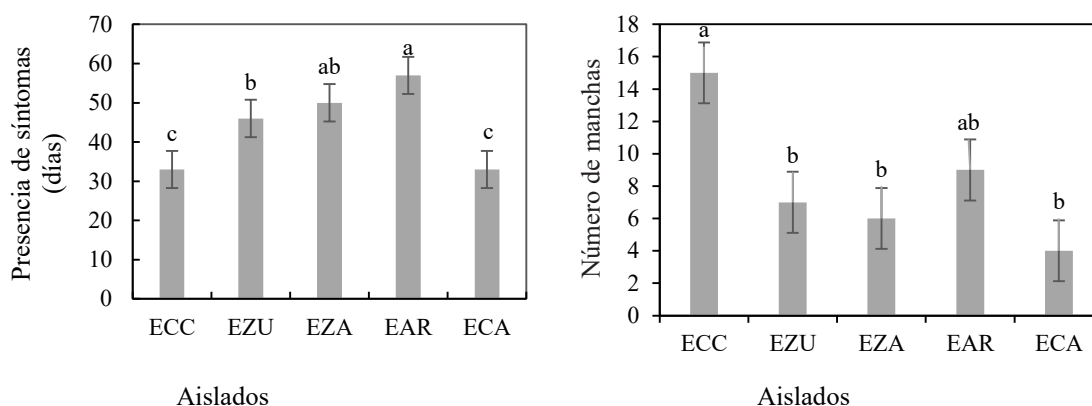


Figure 3. Comparison of presence of symptoms and number of spots of isolates from each agroecological area on Flor de María variety. Mean values \pm standard deviation. Different letters indicate statistically significant differences according to Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

Figura 3. Comparación de presencia de síntomas y número de manchas de los aislados de cada área agroecológica en variedad Flor de María. Valores promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Symptoms emerged on the Méndez variety at 87 days, with the Zacandaro (EZA) and Canacuas (ECA) isolates exhibiting the earliest signs. In terms of the number of spots, it was the EZA isolate that displayed the greatest count on the fruit. Meanwhile, variations in the size of the spots were not statistically significant (Figure 4). Based on the assessed criteria, the ECC isolate demonstrated the highest level of virulence in the Flor de María variety, whereas the EZA isolate exhibited the greatest virulence in the Méndez variety. Subsequently, the ECA isolate displayed intermediate virulence levels in both varieties.

nas. En este sentido *E. perseae* se caracteriza por producir elsinocromos que según Daub y Chung (2009) es un tipo de toxina similares a las del género *Aspergillus*.

El oxiclورو de cobre tuvo mayor inhibición (57.5%) de micelio de los aislados evaluados en comparación con los otros compuestos que contenían cobre. El sulfato de cobre presentó una inhibición de 42% y gluconato de cobre 21.8% (Cuadro 1). Esto puede deberse a la concentración que posee este producto (35-70% de cobre metálico) (Adama, 2021) y por su alto potencial de ionización al tener más cantidad de ion Cu^{2+} , que es la parte que tie-

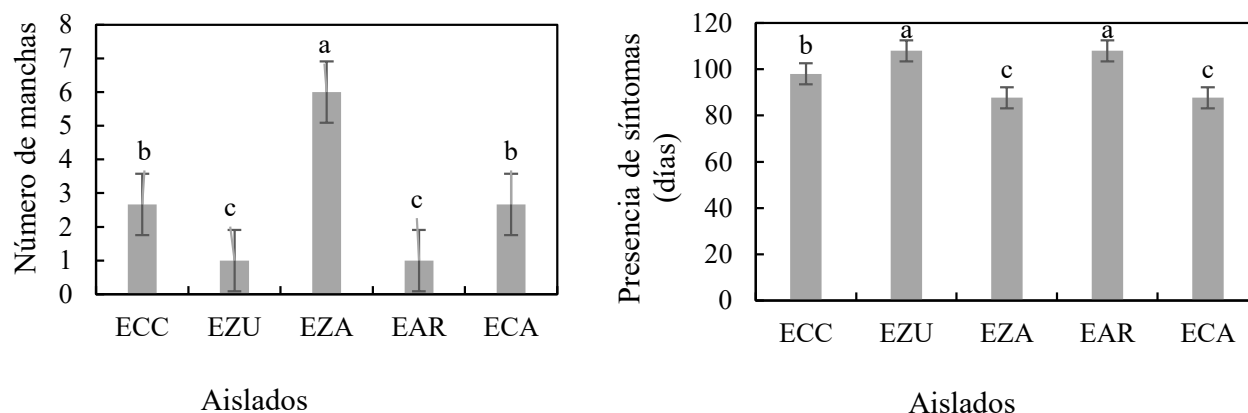


Figure 4. Comparison of presence of symptoms and number of spots of isolates from each agroecological area in Méndez variety. Mean values \pm standard deviation. Different letters indicate statistically significant differences according to Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

Figura 4. Comparación de presencia de síntomas y número de manchas de los aislados de cada área agroecológica en variedad Méndez. Valores promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

The origin of *E. perseae* isolates from distinct agroecological areas appears to have exerted an influence on their virulence. This inference is supported by a statistically significant disparity observed in the manifestation of symptoms and the count of spots. López (2006) documented variations in the virulence of *Histoplasma capsulatum* isolates across diverse geographic regions. This phenomenon can be attributed to the organism's adaptation to distinct environmental circumstances, leading to variations in its behavior, including incidence and severity, based on the prevailing conditions.

Products authorized for use in organically managed orchards. All the products evaluated lost effect with the passage of time. However, *L. tridentata* and copper oxychloride showed the highest mycelium inhibition percentage of 58% from the first week. While copper gluconate showed very low mycelial inhibition from the first week with 22% (Table 1).

ne la acción fungicida e inhibe la germinación de las esporas (TECAGR, 2013), más que el sulfato de Cu (25%) y gluconato de Cu (<9%) (Adama, 2021). Además, la solubilidad de oxicluro de cobre es más baja, esto significa que el cobre se libera más lentamente, por lo tanto, actúa por más tiempo (TECAGR, 2013). El cobre actúa sobre seis diferentes estructuras y/o procesos de la célula del hongo: núcleo, ribosoma, mitocondria, retículo endoplasmático liso y rugoso, membrana plasmática y cromatina, lo que uede favorecer la eficiencia (Adama, 2021).

La baja inhibición que tuvo el gluconato de cobre *in vitro* del 21.8% de inhibición sobre los aislamientos de *E. perseae* (Cuadro 1), se podría deber a que este producto interactúa con la planta ya que fue diseñado específicamente para mejorar la asimilación del cobre en el interior de la planta (ATEEC, 2022). Como argumentan Kirkby y Römheld (2007) el cobre ayuda a la planta en la fotosíntesis, respiración y desintoxicación de radicales superóxidos y también a la producción de

Table 1. Percent mycelial inhibition of *E. perseae* isolates with organic products at different post-inoculation times on avocado fruit.

Cuadro 1. Porcentaje de inhibición de micelio de aislamientos de *E. perseae* con productos orgánicos en diferentes tiempos post-inoculación en frutos de aguacate.

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

Values with different letters in the same column are significantly different ($p > 0.05$). / Valores con distinta letra, en la misma columna, son significativamente distintos ($p > 0.05$).

As outlined by IRET (2022), the average lifespan of a fungicide denotes the duration (measured in days) required for the conversion of 50% of the substance into other forms within various environmental components (namely water, air, soil, and biota). Additionally, TECAGR (2013) points out that the effectiveness of organic products diminishes within a span of 1 to 7 days. Nevertheless, the extent of this decline hinges on the product's formulation and prevailing environmental conditions.

The observed impact of *L. tridentata* on *E. perseae* isolates, leading to a 58% inhibition of fungal mycelium (as shown in Table 1), might be attributed to the presence of nordihydroguaiaretic acid within the extract. This notion finds support in the findings of Arteaga *et al.* (2005), Gowan (2022), Vargas *et al.* (2006), and Lira (2003), who attest to the compound's potential for curbing aflatoxin-producing fungi. In line with this, *E. perseae* is known for its synochrome production—a type of toxin akin to those originating from the *Aspergillus* genus—according to the insights of Daub and Chung (2009).

Copper oxychloride exhibited a higher level of inhibition (57.5%) against the mycelium of the tested

fitoalexinas que inhiben la germinación de esporas y el crecimiento de hongos y ligninas que forman una barrera mecánica como resistencia de la planta a enfermedades, por lo cual sería interesante probar su eficacia en campo.

Cada aislado evaluado de las diferentes áreas agroecológicas, presentó diferentes grados de sensibilidad, similar con lo reportado por Espinoza *et al.* (2017) que al evaluar la sensibilidad de 60 aislamientos *Colletotrichum acutatum* a los fungicidas tiofanato-metilo y azoxistrobina de dos regiones productoras de fresa, la dosis efectiva media DE_{50} de tiofanatometil varió de 0.3 a 9.7 mL L⁻¹ en el Valle de Maravatío ubicada a 2032 m.s.n.m. y de 1.4 a 3.0 mL L⁻¹ en el Valle de Zamora (a 1580 m.s.n.m) y para azoxistrobina varió de 0.04 a 0.36 mL L⁻¹ en Maravatío y de 0.07 a 0.99 mL L⁻¹ en Zamora, mostrando así diferentes grados de sensibilidad en cada zona.

Por otro lado, de acuerdo con Fuentes *et al.* (2014) las melaninas que producen los hongos pueden protegerlos de algunos productos antimicóticos, en el caso de *E. perseae* produce elsinocromos a partir del segundo mes.

El tratamiento con *L. tridentata* presentó el mayor porcentaje de inhibición (74%) en los ais-

isolates compared to the other copper-containing compounds. Copper sulfate displayed an inhibition rate of 42%, while copper gluconate exhibited 21.8% inhibition (Table 1). This difference in inhibition could be attributed to the concentration of copper oxychloride, which contains 35-70% metallic copper (Adama, 2021), and its higher ionization potential, resulting in a greater presence of Cu^{2+} ions. These ions are responsible for the fungicidal action and the inhibition of spore germination (TECAGR, 2013), surpassing the effects of copper sulfate (25%) and copper gluconate (<9%) (Adama, 2021). Furthermore, the lower solubility of copper oxychloride causes a slower release of copper ions, leading to a prolonged and sustained effect (TECAGR, 2013). Copper demonstrates its impact on six distinct structures or processes within the fungal cell: the nucleus, ribosome, mitochondrion, smooth and rough endoplasmic reticulum, plasma membrane, and chromatin. This multifaceted approach contributes to its enhanced efficiency (Adama, 2021).

The relatively low *in vitro* inhibition rate of copper gluconate at 21.8% against *E. perseeae* isolates (Table 1) might be attributed to its distinct interaction with the plant, as it was specifically formulated to enhance copper assimilation within plants (ATEEC, 2022). Kirkby and Römheld (2007) have pointed out that copper contributes to various plant processes, including photosynthesis, respiration, and the detoxification of superoxide radicals. Additionally, copper aids in the synthesis of phytoalexins that impede spore germination and fungal growth, as well as the formation of lignins that establish a physical barrier, bolstering plant resistance against diseases. Given these roles, evaluating its effectiveness in field conditions would be a worthwhile endeavor.

Each evaluated isolate from the various agroecological regions displayed distinct levels

lados de Zumpimito (EZU) y Canacuas (ECA) con 75% de inhibición, siendo el aislado de Zacandaro (EZA) donde tuvo menor efecto 34%. Oxícloruro de cobre en el aislado EZU logró un mejor control sobre el crecimiento con un 72% de inhibición, con diferencias significativas sobre el resto de los aislados. El sulfato de cobre tuvo la mayor inhibición del 60% en el aislado ECC, y en el aislado EAR registró menor efecto de inhibición (27%). Por otra parte, con el tratamiento de gluconato de cobre no existió diferencias significativas en el crecimiento del micelio de los aislamientos evaluados de las áreas agroecológicas (Cuadro 2).

Productos químicos. Los bioensayos con productos químicos se midieron tres meses en los cuales el primer mes todos los productos inhibieron por completo el crecimiento del micelio. En el segundo mes azoxistrobin+propiconazol, tiabendazol y azoxystrobin, no se observaron crecimiento micelial, por lo que se inhibió el crecimiento del micelio en un 100%, comparado con el testigo que creció 3 cm de diámetro. Cyprodinil + fludioxonil y pyraclostrobin perdieron efecto en el segundo mes de evaluación de los aislados mostrando un porcentaje de inhibición del 93%. Esto podría deberse al tiempo de eficiencia del producto por el tiempo de degradación que, de acuerdo con Syngenta (2022), para cyprodinil + fludioxonil es de 10 a 30 días, para pyraclostrobin de 2 a 36 días y para azoxystrobin es de 17 a 30 días, mientras que para propiconazol es de hasta 85 días y tiabendazol hasta de 120 días. Aunque según NPIC (2022) se ha encontrado una amplia variedad de vidas medias para el mismo fungicida bajo diferentes condiciones ambientales.

En el tercer mes los productos azoxistrobin+propiconazol y tiabendazol continuaron inhibiendo el crecimiento del micelio en un 100%, mientras que cyprodinil+fludioxonil y pyraclostrobin inhibieron 87.5 y 86.3%, respectivamente

of sensitivity, mirroring findings by Espinoza *et al.* (2017). When examining the sensitivity of 60 *Colletotrichum acutatum* isolates to fungicides thiophanate-methyl and azoxystrobin in two strawberry-producing regions, these researchers found notable variations. In the Maravatío Valley, situated at 2032 meters above sea level, the mean effective dose (DE_{50}) of thiophanate-methyl ranged from 0.3 to 9.7 mL L⁻¹, while in the Zamora Valley (at 1580 meters above sea level) it spanned from 1.4 to 3.0 mL L⁻¹. For azoxystrobin, the range was 0.04 to 0.36 mL L⁻¹ in Maravatío and 0.07 to 0.99 mL L⁻¹ in Zamora. This underscores the distinct sensitivity levels across different regions.

Conversely, as outlined by Fuentes *et al.* (2014), fungi-generated melanins can offer protection against certain antifungal agents. In the case of *E. perseeae*, it produces elsinocromos starting from the second month.

Treatment with *L. tridentata* exhibited the most pronounced inhibitory effect, registering a 74% growth reduction in the Zumpimito (EZU) isolate and 75% in the Canacuas (ECA) isolate. Conversely, the Zacandaro (EZA) isolate demonstrated a relatively milder impact, resulting in a 34% growth reduction. In the case of the EZU isolate, copper oxychloride showcased robust growth control, achieving a 72% inhibition rate that significantly outperformed the other isolates. Among them, copper sulfate demonstrated the highest inhibition rate at 60%, specifically in the ECC isolate. However, its inhibitory effect was least pronounced in the EAR isolate, registering a 27% reduction in growth. Conversely, when applying copper gluconate treatment, no notable distinctions in mycelial growth emerged among the evaluated isolates from the agroecological regions (Table 2).

y fue estadísticamente significativo comparado con azoxistrobin+propiconazol y tiabendazol. Aunque azoxystrobin perdió efecto inhibiendo solo el 93.3% no fue estadísticamente significativo con respecto a azoxistrobin+propiconazol y tiabendazol. Todos los productos tuvieron un porcentaje de inhibición de micelio significativo comparado con el testigo (Cuadro 3).

Con cyprodinil+fludioxonil y pyraclostrobin se presentaron diferencias significativas a los 60 y 90 días al presentar distintos porcentajes de inhibición de micelio en los aislamientos de las diferentes áreas agroecológica, resultando ser unos más sensibles que otros (Cuadro 4). Se observó menor susceptibilidad a estos productos del aislado ECA del 67%.

CONCLUSIONES

Los cinco aislados de *E. perseeae* de cada área agroecológica presentaron diferentes grados de virulencia en frutos de aguacate. Las plantas de vivero inoculadas en la variedad Flor de María, mostraron mayor susceptibilidad al patógeno bajo los parámetros evaluados (número de manchas, tamaño de manchas y días en los que se presentaron los síntomas). Los aislados de *E. perseeae* de las diferentes áreas agroecológicas mostraron diferentes valores de sensibilidad *in vitro* a los fungicidas evaluados (*Larrea tridentata*, Oxicloruro de cobre, sulfato de cobre, cyprodinil+fludioxonil y pyraclostrobin). *Larrea tridentata* y el oxicloruro de cobre inhibieron el 74.1 y 72.4% con el aislado EZU (1421-1640 m.s.n.m.), siendo los mejores productos comparado con gluconato de cobre al controlar un máximo de 37.7% de inhibición. El hongo presentó mayor sensibilidad *in vitro* (100%) a los fungicidas químicos:

Table 2. Percent mycelial inhibition of *E. perseae* isolates from different agroecological areas with fungicides at different post-inoculation times on avocado fruit.**Cuadro 2. Porcentaje de inhibición de micelio de aislamientos de *E. perseae* de diferentes áreas agroecológicas con fungicidas a diferentes tiempos de post-inoculación en frutos de aguacate.**

Tratamientos	Días	Inhibición del crecimiento del micelio (%)				
		ECC (1,200-1,420 m.s.n.m.)	EZU (1421-1640 m.s.n.m.)	EZA (1641- 1860 m.s.n.m.)	EAR (1861- 2080 m.s.n.m.)	ECA (2081-2300 m.s.n.m.)
<i>L. tridentata</i>	7	62.53b	78.95ab	60.15b	63.49b	87.93a
	15	44.82b	70.00a	45.00b	51.35b	70.00a
	30	57.37b	74.13a	34.04 c	50.00b	75.00a
Oxicloruro de cobre	7	47.31b	69.98ab	58.93ab	70.39ab	86.13a
	15	33.33b	52.00ab	40.00b	45.94ab	64.00a
	30	57.37b	72.41a	48.93 b	53.84 b	55.00b
Sulfato de cobre	7	76.67ab	72.67ab	55.24ab	41.40b	83.44a
	15	54.02a	54.00a	23.08bc	16.13c	62.00a
	30	60.65 a	32.75bc	37.5ab	27.02b	51.66 ab
Gluconato de cobre	7	44.04ab	8.075b	47.88a	31.46ab	34.99ab
	15	31.03 ab	6.00b	32.50 a	20.54 ab	27.50ab
	30	37.70a	8.27a	23.40a	26.15a	21.66a

Values with different letters in the same row are significantly different ($P > 0.05$). / Valores con distinta letra, en la misma fila, son significativamente distintos ($P > 0.05$).

Chemical products. The bioassays involving chemical agents were conducted over a span of three months. During the initial month, all products managed to completely inhibit the growth of mycelium. Moving into the second month, azoxystrobin+propiconazole, thiabendazole, and azoxystrobin achieved a remarkable outcome: there was an absence of mycelial growth, thus resulting in a 100% inhibition rate. In contrast, the control group exhibited a growth of 3 cm in diameter. Both cyprodinil + fludioxonil and pyraclostrobin displayed a decline in effectiveness during the second month of isolate evaluation, registering an inhibition rate of 93%. This trend might stem from the efficacy duration of the product, linked to its degradation timeline. According to Syngenta (2022), cyprodinil + fludioxonil remains effective for a period ranging from 10 to 30 days, pyraclostrobin from 2 to 36 days, and azoxystrobin

thiabendazol y azoxystrobin + propiconazol y a los autorizados en huertos con manejo orgánico: *L. tridentata* y oxicloruro de cobre un 58%.

~~~~~ Fin de la versión en Español ~~~~~

from 17 to 30 days. In contrast, propiconazole sustains its efficacy for up to 85 days, while thiabendazole remains effective for as long as 120 days. However, it's noteworthy, as stated by NPIC (2022), that fungicides may exhibit diverse half-lives under varying environmental conditions.

During the third month, the effectiveness of azoxystrobin+propiconazole and thiabendazole



products persisted at a 100% inhibition rate against mycelial growth. In contrast, cyprodinil+fludioxonil and pyraclostrobin achieved slightly lower inhibitions, at 87.5 and 86.3% respectively. These reductions were statistically significant when compared to the inhibitions achieved by azoxystrobin+propiconazole and thiabendazole. Notably, azoxystrobin's efficacy declined, resulting in a 93.3% inhibition rate, which, although lower, was not statistically distinct from azoxystrobin+propiconazole and thiabendazole. It's worth highlighting that all tested products exhibited a significant level of mycelium inhibition when compared to the control group (Table 3).

With cyprodinil+fludioxonil and pyraclostrobin, significant differences were observed at 60 and 90 days, with different percentages of mycelium inhibition in the isolates from the different agroecological areas, some being more sensitive than others (Table 4). A lower susceptibility to these products was observed for the 67% ECA isolate.

## CONCLUSIONS

The five *E. perseae* isolates from each agroecological area exhibited varying virulence levels on avocado fruit. Nursery plants with the Flor de María variety were more susceptible to the pathogen based on spot count, spot size, and symptom appearance time. *E. perseae* isolates from different agroecological areas showed varying *in vitro* sensitivity to tested fungicides (*Larrea tridentata*, copper oxychloride, copper sulfate, cyprodinil+fludioxonil, and pyraclostrobin). *Larrea tridentata* and copper oxychloride achieved 74.1% and 72.4% inhibition, respectively, against the EZU isolate (1421-1640 m.a.s.l.), outperforming copper gluconate, which controlled a maximum of 37.7% inhibition. The fungus displayed higher *in vitro* sensitivity (100%) to chemical fungicides thiabendazole and azoxystrobin + propiconazole, as well as to orchard-approved organic options: *Larrea tridentata* and copper oxychloride (58%).

**Table 3. Percent mycelium inhibition of *E. perseae* isolates with chemicals over different evaluation times.**

**Cuadro 3. Porcentaje de inhibición de micelio de aislamientos de *E. perseae* con productos químicos en diferentes tiempos de evaluación.**

| Tratamientos              | Inhibición del crecimiento del micelio (%) |         |         |
|---------------------------|--------------------------------------------|---------|---------|
|                           | 30 días                                    | 60 días | 90 días |
| Tiabendazol               | 100a                                       | 100a    | 100a    |
| Azoxystrobin+propiconazol | 100a                                       | 100a    | 100a    |
| Cyprodinil+fludioxonil    | 100a                                       | 93.70b  | 87.52bc |
| Pyraclostrobin            | 100a                                       | 93.18b  | 86.35c  |
| Azoxystrobin              | 100a                                       | 100a    | 93.34ab |
| Testigo                   | 0b                                         | 0c      | 0d      |

Values with different letters in the same column are significantly different ( $p > 0.05$ ). / Valores con distinta letra, en la misma columna, son significativamente distintos ( $p > 0.05$ ).

**Table 4. Percentage mycelial inhibition of *E. perseae* isolates (from different agroecological areas) with different fungicides at different post-inoculation times.****Cuadro 4. Porcentaje de inhibición de micelio de aislamientos de *E. perseae* (de diferentes áreas agroecológicas) con diferentes fungicidas en diferentes tiempos de post-inoculación.**

| Tratamientos                   | Días | Inhibición del crecimiento del micelio (%) |                                |                                 |                                 |                                |
|--------------------------------|------|--------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
|                                |      | ECC<br>(1,200-1,420<br>m.s.n.m.)           | EZU<br>(1421-1640<br>m.s.n.m.) | EZA<br>(1641- 1860<br>m.s.n.m.) | EAR<br>(1861- 2080<br>m.s.n.m.) | ECA<br>(2081-2300<br>m.s.n.m.) |
| Azoxystrobin                   | 30   | 100a                                       | 100a                           | 100a                            | 100a                            | 100a                           |
|                                | 60   | 100a                                       | 100a                           | 100a                            | 100a                            | 100a                           |
|                                | 90   | 99a                                        | 99.72a                         | 100a                            | 100a                            | 73.91b                         |
| Azoxystrobin +<br>propiconazol | 30   | 100a                                       | 100a                           | 100a                            | 100a                            | 100a                           |
|                                | 60   | 100a                                       | 100a                           | 100a                            | 100a                            | 100a                           |
|                                | 90   | 100a                                       | 100a                           | 100a                            | 100a                            | 100a                           |
| Cyprodinil<br>+ fludioxonil    | 30   | 100a                                       | 100a                           | 100a                            | 100a                            | 100a                           |
|                                | 60   | 98.07a                                     | 98.57a                         | 92.72a                          | 92.5a                           | 86.66b                         |
|                                | 90   | 95a                                        | 98.33a                         | 92.5a                           | 90.5a                           | 67.53b                         |
| Pyraclostrobin                 | 30   | 100a                                       | 100a                           | 100a                            | 100a                            | 100a                           |
|                                | 60   | 95.55a                                     | 98.57a                         | 91.36ab                         | 81.66b                          | 98.78a                         |
|                                | 90   | 91.75a                                     | 95.55a                         | 92.08a                          | 86a                             | 66.37b                         |
| Tiabendazol                    | 30   | 100a                                       | 100a                           | 100a                            | 100a                            | 100a                           |
|                                | 60   | 100a                                       | 100a                           | 100a                            | 100a                            | 100a                           |
|                                | 90   | 100a                                       | 100a                           | 100a                            | 100a                            | 100a                           |

Values with different letters in the same row are significantly different ( $p > 0.05$ ). / Valores con distinta letra, en la misma fila, son significativamente distintos ( $p > 0.05$ ).

## CITED LITERATURE

- Adama, 2021. <https://www.adama.com/mexico/es>. Consultada en septiembre de 2022.
- Alfaro EE, Morales GJL, Pedraza SME, Chávez BAT y Morales MKL. 2017. Hongos asociados al síndrome de la roña del aguacate en el estado de Michoacán, México. Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate. Ciudad Guzmán, Jalisco, México. 1: 114-125. [http://www.avocadosource.com/Journals/Memorias\\_VCLA/2017/Memorias\\_VCLA\\_2017\\_PG\\_181.pdf](http://www.avocadosource.com/Journals/Memorias_VCLA/2017/Memorias_VCLA_2017_PG_181.pdf).
- Arteaga S, Andrade CA, Cárdenas R. 2005. *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic. *Ethnopharmacol.* 3: 98. 10.1016/j.jep.2005.02.002.
- ATEEC (Antes todo esto era campo), 2022. Cómo utilizar gluconato de cobre en agricultura. <https://www.antestodoestoeracampo.net/gluconato-de-cobre/>. Consulta en septiembre 2022
- CEDRSSA (Centro de estudios para el desarrollo rural sustentable y la soberanía alimentaria) (2017) reporte caso de exportación: el aguacate palacio legislativo de San Lázaro. <http://www.cedrssa.gob.mx>. (Consulta octubre de 2021)
- Chung, KR. 2011. *Elsinoë fawcettii* y *Elsinoë australis*: los patógenos fúngicos que causan la sarna de los cítricos. *Patología vegetal molecular.* 12: 123-135. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00663.x>
- Daub ME, Herrero S, Chung KR. 2007. Cercosporin: A photoactivated toxin in plant disease. *Plant disease.* 38: 461-490. 10.1094/APSnetFeature/2007-0207
- Espinoza AD, Silva RHV, Leyva MSG, Marbán MN, Rebollar AÁ. 2017. Sensibilidad de aislados de *Colletotrichum acutatum* obtenidos de fresa a los fungicidas metil tiofanato y azoxystrobin. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 2: 34. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1612-4>
- Everett KR, Rees-George J, Pushparajah IPS, Manning MA y Fullerton RA. 2011. Molecular Identification of *Sphaceloma perseae* (Avocado Scab) and its Absence in

- New Zealand. Journal of Phytopathology, 2: 106-113. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2010.01739.x>
- Fan XL, Barreto RW, Groenewald JZ, Bazerra JDP, Preira OL, Cheewangkoon R, Mostert L, Tian CM y Crous PW. 2017. Phylogeny and taxonomy of the scab and spot anthracnose fungus *Elsinoe* (Myrangiiales Dothideomycetes) 2: 1-20. 10.1016/j.simyco.2017.02.001.
- Gowan Mexicana S.A.P.I de C.V. 2022. Org fung, ficha técnica. [www.gowanmexicana.com](http://www.gowanmexicana.com). Consulta septiembre 2022
- Henson JM, Butler MJ, & Day AW. 1999. The dark side of mycelium: melanins of phytopathogenic fungi. Annual review of phytopathology, 37: 447-471. 10.1146/annurev.phyto.37.1.447.
- IRET. Instituto Regional de Estudios de Sustancias Tóxicas. 2022. Manual de Plaguicidas de Centroamérica. Destino ambiental. <http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/destino-ambiental#:~:text=La%20vida%20media%20o%20DT,aire%2C%20suelo%2C%20biota>. Consulta septiembre de 2022.
- Jacobson ES. 2000. Pathogenic roles for fungal melanins. Clinical microbiology reviews, 13: 708-717. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.4.708>
- Kirkby EA and Römheld V. 2007. Micronutrients in plant physiology: functions, uptake and mobility. Proceedings 5: 43, The International Fertilizer Society, P.O. Box, York, YO32 5YS, United Kingdom. <https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/MicronutrientesenlaFisiologia.pdf>
- Lira RH. 2003. Estado Actual del Conocimiento sobre las Propiedades Biocidas de la Gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville]. Revista Mexicana de Fitopatología, 21(2), 214-222. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221217>
- López CE. 2006. Dimorfismo y patogenia de *Histoplasma capsulatum*. Revista Argentina de Microbiología: 1: 235-242. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=213016794012>
- Marroquín PFJ. 1999. Factores que favorecen la incidencia de roña (*Sphaceloma perseae* Jenkin.) en el cultivo del aguacate (*Persea americana* Mill.) "Hass", en tres regiones agroclimáticas de Michoacán. México. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 309-312. [https://www.avocadosource.com/WAC4/WAC4\\_p309.pdf](https://www.avocadosource.com/WAC4/WAC4_p309.pdf)
- Morales GJL. 2017. Estado actual de las enfermedades del fruto del aguacate en México: roña y antracnosis. 1: 118-121. Disponible en: Nuestro mexico.com, <http://www.nuestro-mexico.com/Michoacan-de-Ocampo/Ziracuaretiro/Areas-de-menos-de-500-habitantes/El-Copal/> consultada el 13 de Diciembre del 2021.
- Morales GJL. 2022. Esclarecimiento del agente causal del anillamiento del pedúnculo y roña del aguacate. Memorias del 15° Congreso Nacional del sistema producto aguacate. Uruapan Michoacán México. [http://www.conapavirtual.com/MODULAREvista\\_conapa/modulos/web/www2](http://www.conapavirtual.com/MODULAREvista_conapa/modulos/web/www2).
- National Pesticide Information Center (NPIC). 2022. ¿Qué pasa con los pesticidas liberados en el medio ambiente? <http://npic.orst.edu/index.es.html>. Consulta septiembre 2022.
- Pandey D, Tripathi N, Tripathi R, Dixit S. 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 1982; 89: 344-349. <https://www.jstor.org/stable/43214961>.
- Compean R. 2020. Propagación de plantas clonales de Aguacate, en vivero BlueDrop Nursery. <https://agronoticias.com.mx/2020/08/14/mexico-cuenta-con-el-primer-vivero-de-propagacion-clonal-de-plantas-de-aguacate/>. Consulta diciembre 2022.
- Syngenta, 2021. <https://www.syngenta.com.mx/> consultada en septiembre de 2021.
- TECAGR (Técnico agrícola), 2013. Tipos de cobres agrícolas. <https://www.tecnicoagricola.es/tipos-de-cobres-agricolas/#:~:text=Lo%20mejor%20es%20el%20OXICLORURO,la%20germinacion%20de%20la%20espora>. Consulta octubre 2022.