



Nota Fitopatológica

Agentes fúngicos causales de la enfermedad de la Mancha Negra en cactus (*Opuntia ficus-indica*) en Colima, México

Zoila Lizbeth Chavarría-Cervera, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, Autopista Colima-Manzanillo km 40, C.P. 28930, Tecomán, México; **Andrés Quezada-Salinas**, Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), km 37.5 Carretera Federal México-Pachuca, Av. Centenario de la Educación, Col. Santa Ana, C.P. 55740, Tecámac, Estado de México, México; **Pedro Valadez-Ramírez**, **Wilberth Chan-Cupul**, **Jesús Enrique Castrejón-Antonio**, **Juan Carlos Sánchez-Rangel***, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, Autopista Colima-Manzanillo km 40, C.P. 28930, Tecomán, México.

*Autor de
correspondencia:

Juan Carlos Sánchez-Rangel
jsanchez4@ucol.mx

Sección:
Edición periódica

Recibido:
18 Enero, 2024

Aceptado:
06 Marzo, 2024

Publicado:
02 Abril, 2024

Cita:

Chavarría-Cervera ZL,
Quezada-Salinas A, Valadez-Ramírez P, Chan-Cupul W, Castrejón-Antonio JE y Sánchez-Rangel JC.
2024. Agentes fúngicos causales de la enfermedad de la Mancha Negra en cactus (*Opuntia ficus-indica*) en Colima, México. Revista Mexicana de Fitopatología 42(2): 20. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2401-2>



RESUMEN

Objetivo/Antecedentes: El nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) es una planta de importancia económica, social y cultural en México, sin embargo, una de las enfermedades recurrentes a esta especie vegetal es la Mancha Negra (MN), la cual se genera por el ataque de diferentes hongos fitopatógenos, de ahí que la identificación de los agentes causales de la MN en los cultivos comerciales de nopal sea una etapa relevante para el manejo agronómico eficiente de la MN. El objetivo de este estudio fue identificar los hongos fitopatógenos causales de la MN en plantaciones de nopal verdura en el estado de Colima, México.

Materiales y métodos: Se recolectaron 50 cladodios de 50 plantas con síntomas de MN en plantaciones comerciales de Colima, de los hongos aislados se comprobó la patogenicidad de ellos mediante los postulados de Koch, así mismo se identificaron molecularmente aquellos hongos que generaron los síntomas más severos de MN.

Resultados: Se aislaron 35 hongos de plantas sintomáticas de MN, de los cuales 20 presentaron un crecimiento micelial distinto. Solo seis hongos generaron síntomas de MN; siendo tres de ellos los responsables de generar síntomas severos en cladodios: *Alternaria alternata*, *Corynespora cassiicola*, and *Neoscytalidium dimidiatum*.

Conclusión: La MN es generada por diferentes hongos fitopatógenos, pero este es el primer reporte de *C. cassiicola* y *N. dimidiatum* como agentes causales de la MN en nopal verdura.

Palabras clave: *Corynespora*, *Neoscytalidium*, *Alternaria*, patogenicidad, ITS.

INTRODUCCIÓN

México es el principal productor mundial de nopal verdura (*Opuntia* spp.) con 13 mil hectáreas de tierra cultivada, alcanzando una producción de 869,956 t y generando ganancias de 2,962 millones de pesos en 2021. Los estados de Morelos, Ciudad de México y Estado de México contribuyen aproximadamente con el 75.6% a la producción nacional (SIAP, 2022). Esta verdura tiene un consumo per cápita anual de 6.3 kg y sirve como una fuente rica de carbohidratos (3-7%), fibra (1-2%), lípidos (0.2%), vitamina C (10-15 mg/100 g), proteínas (0.5-1%) y minerales (1-2%) (Martins *et al.*, 2023). Las plantaciones de nopal enfrentan desafíos originados por enfermedades causadas por diversos hongos, siendo la Mancha Negra (MN) una de las más comunes (Hernández-Sánchez *et al.*, 2014). La MN genera la pérdida total de la cosecha y se caracteriza por síntomas que se manifiestan de dos maneras: manchas circulares y patrones como mapas. La primera comienza con la aparición de pequeñas manchas verdes, que, después de una semana, se tornan verdosas rojizas a marrón oscuro y aumentan de tamaño, formando manchas circulares de 3 a 4 cm de diámetro. Posteriormente, estas manchas circulares se tornan negras con márgenes amarillos, atravesando el cladodio del nopal y causando desecación en las áreas afectadas (Quezada-Salinas *et al.*, 2006). Por otro lado, la expresión de síntomas en forma de mapa se caracteriza por la invasión parcial o total del cladodio con manchas de formas irregulares, exhibiendo síntomas similares a los de la forma circular (Quezada-Salinas *et al.*, 2013). Varios hongos han sido reportados como agentes causales de MN en diferentes especies de la familia Cactaceae. Por ejemplo, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium lunatum*, *Alternaria alternata* y *Curvularia lunata* en plantaciones de *Opuntia* en Tlalnepantla, Morelos, México (Flores-Flores *et al.*, 2013); *Pseudocercospora opuntiae* en plantaciones en el estado de Jalisco, México (Ochoa *et al.*, 2015); *Alternaria longipes*, *Colletotrichum fructicola*, *Lasiodiplodia euphorbicola*, *L. iraniensis*, *L. jatrofiphicola*, *Neofusicoccum batangarum*, *N. hyalinum*, *N. batangarum*, *Neopetalotiopsis* sp., y *Nigrospora* en *Nopalea cochenillifera* en Brasil (Conforto *et al.*, 2019; Feijo *et al.*, 2019). En este contexto, la identificación de hongos causantes de enfermedades en cultivos de importancia económica, incluidas las plantaciones de *Opuntia*, es crucial para desarrollar estrategias efectivas de manejo y control, mejorando así la productividad y sostenibilidad del cultivo. En Colima, México, la MN sigue siendo un desafío importante para el cultivo de nopal verdura, sin embargo, los agentes fúngicos causales permanecen sin identificar. Esta brecha en el conocimiento específico impide la optimización del rendimiento y la creación de estrategias efectivas

de manejo de patógenos. Consecuentemente, este estudio tiene como objetivo aislar, evaluar e identificar las especies fúngicas responsables de MN en plantaciones de nopal.

En abril y mayo de 2021, se llevó a cabo la recolección de cladodios de nopal en plantaciones comerciales de nopal verdura (*O. ficus-indica*) ubicadas en cinco comunidades del estado de Colima: Agua Dulce (19°17'85.2"N, 103°52'10.7"W), Juluapan (19°18'41.2"N, 103°49'94.2"W), La Limonera (19°18'50.0"N, 103°49'17.2"W), El Espinal (10°16'17.9"N, 103°47'51.1"W) y Las Guásimas (19°07'83.8"N, 103°43'27.4"W). La incidencia de la enfermedad se determinó visualmente en cada plantación calculando el porcentaje de plantas sintomáticas del total analizado. Para esta evaluación, se seleccionaron 10 plantas que mostraban síntomas de MN, recolectando un cladodio sintomático de cada una para el análisis. Estos cladodios se colocaron individualmente en bolsas de plástico y se transportaron al laboratorio en una nevera dentro de las primeras 24 h después de la recolección. Los cladodios se lavaron con agua de la llave y se secaron con toallas de papel. Posteriormente, se cortaron de cinco a seis fragmentos (0.5 cm²) de tejido sintomático, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1.5% (v/v) durante 1.5 min, se enjuagaron tres veces por un minuto cada una con agua destilada estéril y se secaron con toallas de papel estériles en una campana de flujo laminar (Labconco Inc., EE.UU.). Para evaluar la eficacia de la desinfección, se tomaron 100 µL del último lavado, se colocaron en agar dextrosa de papa (PDA, MCD Lab, México) y se incubaron durante siete días. De los fragmentos desinfectados, se obtuvieron otros seis fragmentos y se distribuyeron en una placa de Petri con PDA suplementado con cloranfenicol (500 mg L⁻¹) (Quezada-Salinas *et al.*, 2006; Alonso-Díaz *et al.*, 2007); estos últimos se incubaron a 25 °C en la oscuridad de cinco a siete días y se observaron a intervalos de 24 h. De cada colonia fúngica emergente, se tomó una muestra, se colocó en el centro de una placa de Petri con PDA y se incubó bajo las mismas condiciones. Se realizó una prueba de patogenicidad con cada cepa fúngica aislada para confirmar si eran agentes causales de la MN en nopal. Para esto, se recolectaron cladodios sin síntomas de la enfermedad de plantaciones comerciales y se desinfectaron siguiendo el procedimiento reportado por Quezada-Salinas *et al.* (2006). Se hicieron incisiones (cinco por cladodio) en las superficies de los cladodios con un bisturí estéril, y se inocularon discos de micelio de 5 mm de cada cepa fúngica con siete días de crecimiento en estas heridas. Como tratamiento de control, el disco de micelio se reemplazó con un disco de PDA. Cada disco se cubrió con algodón humedecido con agua estéril durante 24 h, los cladodios se colocaron dentro de una bolsa de plástico para retener la humedad y se mantuvieron a 25 °C con observaciones realizadas a intervalos de 24 h. De los cladodios que mostraban síntomas de MN, se realizó el reaislamiento de la cepa fúngica para verificar los postulados de Koch (Volcy, 2008; Flores-Flores *et al.*,

2013). Las pruebas de patogenicidad se realizaron por triplicado. La identificación molecular de los hongos causantes de los síntomas más severos de la enfermedad se llevó a cabo utilizando los cebadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') para amplificar un fragmento de 500 bp de la región ITS del rDNA. Las condiciones de PCR fueron las siguientes: una desnaturalización inicial a 95 °C por 3 min, seguida de 25 ciclos a 58 °C por 30 s (hibridación), 72 °C por 2 min (extensión), 95 °C por 30 s (desnaturalización) y una extensión final a 72 °C por 10 min (White *et al.*, 1990). Los productos PCR amplificados fueron secuenciados utilizando el método de secuenciación de Sanger en el Analizador Genético 3130 (Applied Biosystems) en el Laboratorio de Diagnóstico Integral de Sanidad Vegetal (LADIFIT) (<https://www.colpos.mx/posgrado/fitosanidad/ladifit.php>) en el Estado de México, México. Para la identificación, las secuencias fúngicas se compararon con la base de datos depositada en GenBank NCBI (Centro Nacional de Información Biotecnológica).

Entre las plantaciones analizadas, El Espinal mostró la incidencia más alta de MN con el 60% de las plantas afectadas, seguido por Agua Dulce (40%), La Limonera (35%), Las Guásimas (20%) y Juluapan (10%) (Figura 1). De los cladodios recolectados, se aislaron 35 hongos, 20 de los cuales exhibieron característi-

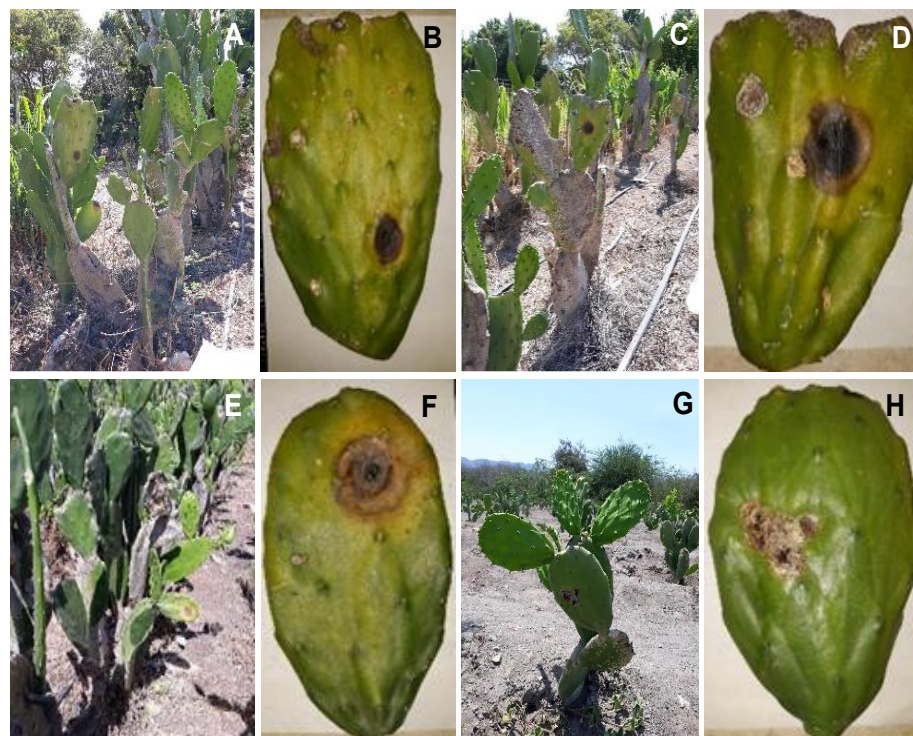


Figura 1. Plantas y cladodios con síntomas de Mancha Negra en cultivos de nopal verdura (*O. ficus-indica*) en diversas plantaciones en el estado de Colima, México. A) El Espinal, B) Agua Dulce, C) Las Guásimas, D) Juluapan.

cas morfológicas distintas en términos de color, textura y presencia de anillos. La mayoría de los aislados mostraron un crecimiento circular, márgenes completos, textura algodonosa y elevación plana (Figura 2). También hubo variación en el tiempo de crecimiento de la colonia; 14 hongos cubrieron la superficie de la placa de Petri dentro de los primeros cinco días, mientras que los restantes lo hicieron después de 10 días. En las pruebas de patogenicidad, solo seis de los 20 aislados indujeron síntomas asociados con MN, y tres de estos causaron síntomas severos de la enfermedad en los cladodios de nopal. Esto incluyó el ablandamiento de los cladodios y el desarrollo de manchas negras circulares e irregulares a lo largo del tejido de la planta. En general, los cladodios exhibieron lesiones de hasta 5 cm de longitud 10 días después de la infección fúngica. Los hongos que indujeron síntomas más severos de MN fueron identificados como *Alternaria alternata* (ID de GenBank: OP038904), *Corynespora cassiicola* (OP038906) y *Neoscytalidium dimidiatum* (OP038907) (Figura 3).

La MN en el nopal es una enfermedad causada por diversos hongos, lo que hace que la identificación del agente causal sea un paso crucial para implementar estrategias de control apropiadas. Este es el primer informe sobre hongos causantes de MN en plantaciones comerciales de nopal en Colima. Las especies fúngicas *A. alternata*, *C. cassiicola* y *N. dimidiatum* fueron identificadas como las que causan el daño más severo a los cladodios de nopal. En este estudio, se recolectaron 50 cladodios con síntomas aparentes de MN y se aislaron 20 hongos, mostrando diferencias en color, textura y presencia de anillos. Este número es menor que el reportado por Conforto *et al.* (2019), quienes obtuvieron 50 aislamientos de 180 cladodios. La discrepancia en el número de cladodios analizados puede explicar la diferencia en el número de hongos aislados en ambos estudios. Respecto a los hongos identificados en cladodios con MN, Oliveira *et al.* (2018) reportaron diversas especies de *Colletotrichum* (*C. siamense*, *C. fructicola* y *C. karstii*) en *N. cochenillifera* en Brasil; sin embargo, estos autores no evaluaron la patogenicidad de los hongos. Quezada-Salinas *et al.* (2006) aislaron e identificaron a *C. gloeosporioides* en cladodios de *O. ficus-indica* con síntomas de la MN en México; no obstante, este hongo no indujo la enfermedad en plantas sanas de nopal. Por otro lado, los hongos *C. gloeosporioides*, *A. alternata*, *F. lunatum*, *C. lunata* (Flores-Flores *et al.*, 2013) y *Pseudocercospora* sp. aislados de cladodios sintomáticos sí indujeron la enfermedad en plantas sanas (Quezada-Salinas *et al.*, 2006; Ochoa *et al.*, 2015), lo que significa que son agentes causales de la MN. De estas especies, solo *A. alternata* coincide con uno de los hongos aislados en las plantaciones de Colima, mientras que *C. cassiicola* y *N. dimidiatum* no han sido reportados como agentes causales de la MN en plantaciones de nopal. Souza *et al.* (2010) analizaron la diversidad de hongos causantes de enfermedades en palma forrajera (*O. ficus-indica*) cultivada en regiones áridas del noreste de Brasil. Basados en la caracterización morfológi-

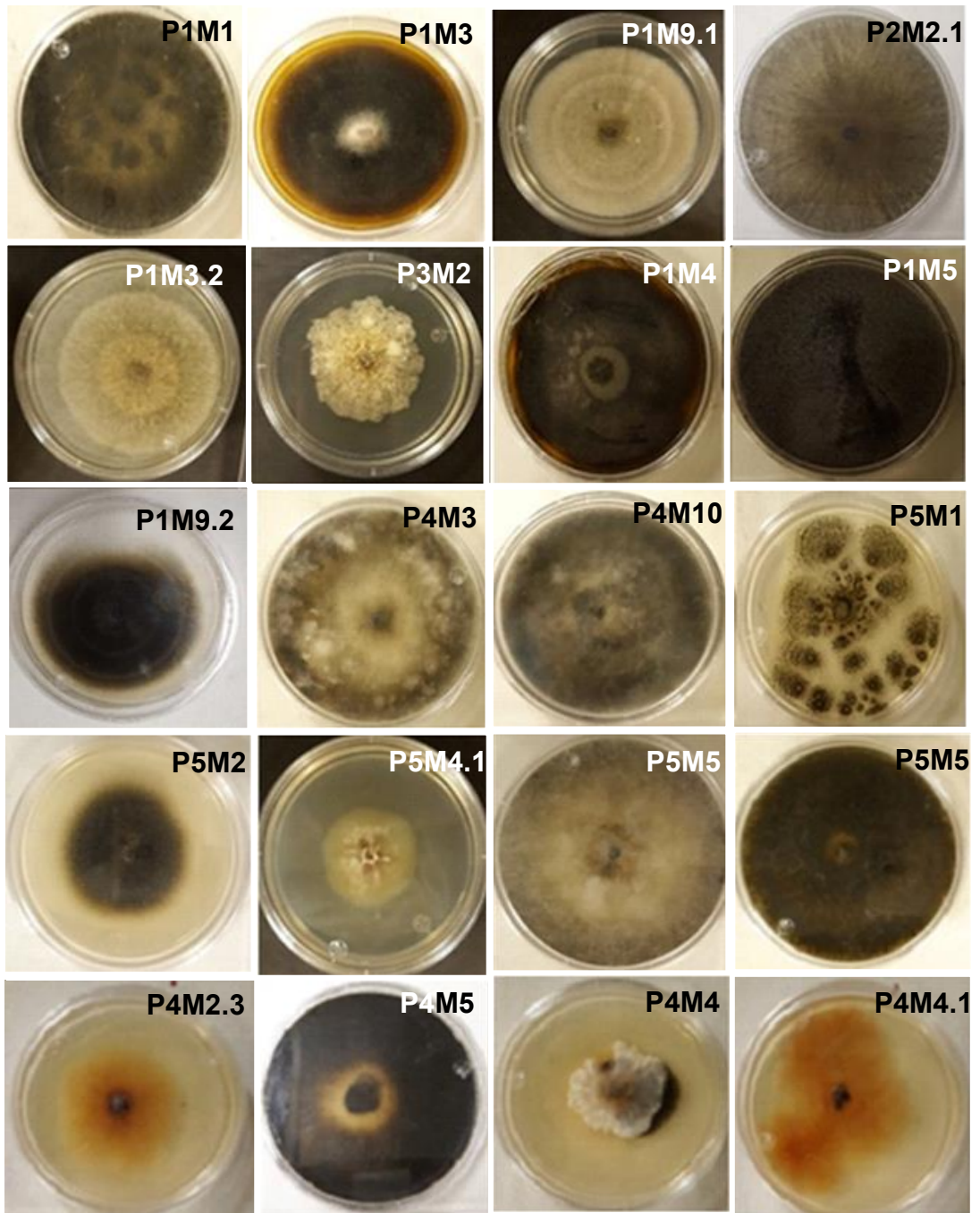


Figura 2. Hongos aislados de los cladodios de nopal verdura con síntomas de Mancha Negra. Los aislamientos se encuentran depositados en la colección micológica de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Colima para una caracterización morfológica y molecular posterior.

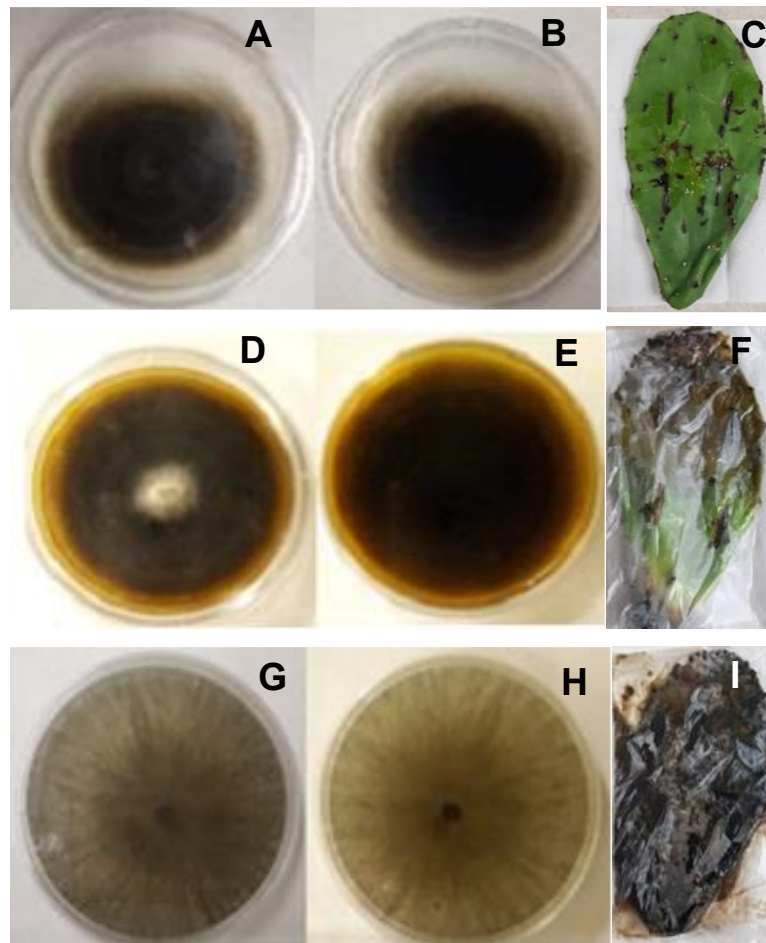


Figura 3. Hongos aislados de cladodios con síntomas de Mancha Negra que indujeron lesiones severas en la prueba de patogenicidad. Crecimiento en PDA de *Alternaria alternata* (anverso, A; reverso, B) y síntomas inducidos en el cladodio (E), *Corynespora cassiicola* (D, E, F), y *Neoscytalidium dimidiatum* (G, H, I).

ca, estos autores encontraron que *Scytalidium lignicola*, *Alternaria tenuis*, *Macrophomina phaseolina*, *Cladosporium cladosporioides*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *opuntiarum*, *C. lunata*, *Aspergillus niger*, *Nigrospora sphaerica*, *C. gloeosporioides*, *Exserohilum turcicum*, *Pestalotia pitospora*, *Rhizopus stolonifer*, *Rhizoctonia solani* y *Sphaceloma protearum* son los hongos más comunes en plantas con síntomas de enfermedad. Recientemente, Conforto *et al.* (2019) identificaron a *Alternaria tenuissima*, *A. longipes*, *C. gloeosporioides*, *C. fruticicola*, *C. siamense*, *F. lunatum*, *F. verticillioides*, *F. incarnatum*, *F. iraniensis*, *L. euphorbicola*, *L. pseutheobromae*, *L. theobromae*, *N. batangarum*, *Neopestalotiopsis australis*, *N. protearum*, *N. sphaerica* y *N. hainanensis* como agentes causales de la MN en *N. cochenillifera*. Entre estos hongos, los del género *Alternaria*

fueron los más comunes en cladodios con síntomas de enfermedad, mientras que *L. iraniensis* y *F. lunatum* causaron el daño más severo. A diferencia de hallazgos previos, la investigación actual identifica a *A. alternata*, *C. cassiicola* y *N. dimidiatum* como los hongos responsables de los síntomas más severos en cladodios de nopal. Estas diferencias pueden deberse a la especie de planta estudiada. Además, la diversidad de especies fúngicas identificadas como agentes causales de la MN puede atribuirse a diferentes factores como (i) diferencias ambientales en el área de estudio, (ii) actividades implementadas en cada zona para el rendimiento de la plantación, y (iii) la aplicación de fertilizantes y agroquímicos (Rodríguez, 2001; Pacasa-Quisbert *et al.*, 2017). Asimismo, el grado de patogenicidad de los agentes causales puede atribuirse a la producción de una variedad de proteínas, ácidos orgánicos y metabolitos secundarios con actividad citotóxica y fitotóxica. Por ejemplo, las especies de *Alternaria* producen toxinas específicas del huésped (es decir, AK, AAL y AF), que determinan la patogenicidad de estos hongos (Castaldi *et al.*, 2023). Específicamente, las toxinas AK y AF tienen como objetivo la membrana plasmática, lo que lleva a la pérdida de electrolitos y daño de la membrana en plantas susceptibles (Nakashima *et al.*, 1985; Otani *et al.*, 1995). También se ha informado que *C. cassiicola* produce fitotoxinas conocidas como cassiicolinas, terpenoides, poliquétidos y metabolitos nitrogenados que son relevantes para la patogénesis del hongo (Yang *et al.*, 2022). En conclusión, este estudio identifica a *A. alternata*, *C. cassiicola* y *N. dimidiatum* como los principales hongos responsables de la enfermedad MN en plantaciones comerciales de nopal en Colima, siendo el primer informe de *C. cassiicola* y *N. dimidiatum* en este contexto. A pesar de hallazgos previos de diversos hongos asociados con MN en diferentes regiones y especies de plantas, estos tres hongos causaron los síntomas más severos en las plantaciones estudiadas. Esta discrepancia destaca el impacto de distintos factores en la prevalencia y severidad de la enfermedad. La identificación de estos agentes causales es crucial para desarrollar estrategias de manejo dirigidas a mitigar la MN en nopales.

LITERATURA CITADA

- Alonso-Díaz MA, García L, Galindo-Velasco E, Lezama-Gutiérrez R, Ángel-Sahagún CA, Rodríguez-Vivas RI and Fragoso-Sánchez H. 2007. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for the control of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on naturally infested cattle in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology* 147(3-4): 336-340. <https://doi.org/10.1016/j.vepar.2007.03.030>.
- Castaldi S, Zorrilla JG, Petrillo C, Russo MT, Ambrosino P, Masi M, Cimmino A and Istitato R. 2023. *Alternaria alternata* isolated from infected pears (*Pyrus communis*) in Italy produces non-host toxins and hydrolytic enzymes as infection mechanisms and

- exhibits competitive exclusion against *Botrytis cinerea* in co-infected host Fruits. *Journal of Fungi* 9: 326. <https://doi.org/10.3390/jof9030326>.
- Colegio de Postgraduados. 2022. Laboratorios de diagnóstico integral fitosanitario (LADIFIT). <https://www.colpos.mx/posgrado/fitosanidad/ladifit.php>.
- Conforto C, Lima NB, Araújo FJ, Saraiva MP, Maharachchikumbura S and Michereff SJ. 2019. Characterization of fungal species associated with cladode brown spot on *Nopalea cochenillifera* in Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 155(4): 1179-1194. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01847-3>.
- Feijo F, Silva M, Nascimento A, Infante N, Ramos R, Assunção I and Lima GS. 2019. *Botryosphaeriaceae* species associated with the pickly pear cactus *Nopalea cochenillifera*. *Tropical Plant Pathology* 44(5): 452-459. <https://doi.org/10.1007/s40858-019-00299-8>.
- Flores-Flores R, Velázquez-del Valle MG, León-Rodríguez R, Flores-Moctezuma HE and Hernández-Lauzardo AN. 2013. Identification of fungal species associated with cladode spot of prickly pear and their sensitivity to chitosan. *Journal of Phytopathology* 161(7-8): 544-552. <https://doi.org/10.1111/jph.12104>.
- Hernández-Sánchez E, Mora-Aguilera G, Tlapal B, Rodríguez-Leyva E and Alvarado D. 2014. Effect of initial disease intensity of cactus black spot (*Opuntia ficus-indica*) in the temporal and spatial characterization. *Revista Mexicana de Fitopatología* 32(2): 132-146. https://www.smf.org.mx/rmf/Vol3222014/AR/32-2_05.pdf.
- Martins M, Ribeiro MH and Almeida CMM. 2023. Physicochemical, nutritional, and medicinal properties of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. and its main agro-industrial use: A review. *Plants (Basel)* 3012(7): 1512. <https://doi.org/10.3390/plants12071512>.
- Nakashima T, Ueno T, Fukami H, Taga T, Masuda H, Osaki K, Otani H, Kohmoto K and Nishimura S. 1985. Isolation and Structures of AK-Toxin I and II, Host-specific phytotoxic metabolites produced by *Alternaria alternata* japanese pear pathotype. *Agricultural and Biological Chemistry* 49: 807-815. <https://doi.org/10.1271/BBB1961.49.807>.
- Ochoa MJ, Rivera LA, Arteaga-Garibay RI, Martínez-Peña D, Ireta J and Portillo L. 2015. Black spot caused by *Pseudocercospora opuntiae* in cactus pear productive systems of Jalisco, Mexico. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 17: 1-12. <https://doi.org/10.56890/jpacd.v17i.58>.
- Oliveira LF, Feijó FM, Mendes AL, Neto JD, Netto MS, Assunção IP and Lima GS. 2018. Identification of *Colletotrichum* species associated with brown spot of cactus prickly pear in Brazil. *Tropical Plant Pathology* 43(3): 247-253. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0215-3>.
- Otani H, Kohmoto K and Kodama M. 1995. *Alternaria* toxins and their effects on host plants. *Botany* 73, 453-458. <https://doi.org/10.1139/B95-282>.
- Pacasa-Quisbert F, Loza-Murguía MG, Bonifacio-Flores A, VINO-Nina L and Serrano-Canaviri, T. 2017. Comunidad de hongos filamentosos en suelos del Agroecosistema de K'iphak'iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha. *Journal of the Selva Andina Research Society* 8(1): 2-25. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-92942017000100002
- Quezada-Salinas A, Sandoval-Islas JS, Alvarado-Rosales D and Cárdenas-Soriano E. 2006. Etiología de la mancha negra del nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill) en Tlalnepantla, Morelos, México. *Agrociencia* 40(5): 641-653. <https://www.redalyc.org/pdf/302/30240509.pdf>.
- Quezada-Salinas A, Sandoval JS, Alvarado D and Moreno M. 2013. Histopatología y patogénesis de *Pseudocercospora opuntiae* en nopal. *Revista Mexicana de Micología* 38: 9-18. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802013000200003.
- Rodríguez MDP. 2001. Biodiversidad de los hongos fitopatógenos del suelo de México. *Acta Zoológica Mexicana* (1): 53-78. <https://doi.org/10.21829/azm.2001.8401846>.

- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2022. Panorama Agroalimentario www.gob.mx/siap/.
- Souza AEF, Nascimento LC, Araújo E, Lopes EB and Souto FM. 2010. Ocorrência e identificação dos agentes etiológicos de doenças em palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.) no semiárido Paraibano. *Biotemas* 23(3): 11-20. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2010v23n3p11>.
- Volcy C. 2008. Génesis y evolución de los postulados de Koch y su relación con la fitopatología. Una revisión. *Agronomía Colombiana* 26(1): 107-115. <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v26n1/v26n1a13.pdf>.
- White TJ, Bruns T, Lee S and Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, and White TJ. (Eds.). *Protocols: a guide to methods and applications* (pp. 315-322). New York: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>.
- Yang X, Guo Z, Yang Y, Abulaizi A, Xiong Z, Zhang S, Li B and Huang G. 2022. Isolation and identification of secondary metabolites produced by phytopathogenic fungus *Corynespora cassiicola* from *Hevea brasiliensis*. *Molecules* 27: 7360. <https://doi.org/10.3390/molecules27217360>.