



Reconocimiento y métodos de diagnóstico de la muerte descendente

ocasionada por *Lasiodiplodia* spp.
en cultivos de aguacate
del departamento de Santander

AGROSAVIA
EDITORIAL

Reconocimiento y métodos de diagnóstico de la muerte descendente

ocasionada por *Lasiodiplodia* spp. en cultivos
de aguacate del departamento de Santander

Claudia María Holguín Aranzazu
Yeirme Yaneth Jaimes Suárez
Leonardo Villalba Campos
Donald Adrián Galvis Neira
Sergio Andrés Marchant Rojas



SECRETARÍA DE
AGRICULTURA

Reconocimiento y métodos de diagnóstico de la muerte descendente ocasionada por *Lasiodiplodia* spp. en cultivos de aguacate del departamento de Santander. / Claudia María Holguín Aranzazu [y otros cuatro] - Mosquera (Colombia): AGROSAVIA, 2025.

70 páginas (Colección Alianzas AGROSAVIA)
Incluye gráficos y tablas.

ISBN: 978-958-740-789-1

ISBN e-Book: 978-958-740-790-7

1. *Persea americana* 2. Cultivo 3. Enfermedades de las plantas 4. Marchitez 5. Mortalidad 6. Aislamiento genético 7. Patogenicidad 8. Santander (Colombia) I. Holguín Aranzazu, Claudia María II. Jaimes Suárez, Yeirme Yaneth III. Villalba Campos, Leonardo IV. Galvis Neira, Donald Adrián V. Marchant Rojas, Sergio Andrés.

Palabras clave normalizadas según Tesouro Multilingüe de Agricultura - Agrovoc
Catalogación en la publicación - Biblioteca Agropecuaria de Colombia

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

Sede Central, kilómetro 14 vía Mosquera-Bogotá, Mosquera, Cundinamarca. Código postal 250047, Colombia.

Centro de Investigación La Suiza, kilómetro 32 vía al mar, vereda Galápagos, Rionegro, Santander. Código postal 687511, Colombia.

Esta publicación forma parte de los resultados del proyecto "Fortalecimiento de las capacidades en ciencia, tecnología e innovación del centro de investigación La Suiza para el desarrollo de proyectos en fitosanidad y agroindustria en sistemas de producción priorizados en el departamento de Santander", con código BPIN 2020000100462, financiado por el Sistema General de Regalías y desarrollado por AGROSAVIA.

Colección: Alianzas AGROSAVIA

Tipología: Manual

Fecha de recepción: 5 de diciembre de 2023

Fecha de evaluación: 24 de enero de 2024

Fecha de aceptación: 5 de septiembre de 2024

Primera edición: 300 ejemplares

Impreso en Bogotá, Colombia, marzo de 2025

Autoría

Claudia María Holguín Aranzazu

Yeirme Yaneth Jaimes Suárez

Leonardo Villalba Campos

Donald Adrián Galvis Neira

Sergio Andrés Marchant Rojas

Preparación editorial

Editorial AGROSAVIA

editorial@agrosavia.co

Líder editorial: Astrid Verónica Bermúdez Díaz

Edición: Verónica Barreto Riveros

Corrección de estilo: Andrés Castillo Brievea

Diseño: Mónica Cabiati Daza

Diagramación: Janduy Barreto Páez

Impresión: DGP Editores

Citación sugerida: Holguín, C. M., Jaimes-Suárez, Y. Y., Villalba-Campos, L., Galvis-Neira, D. A., & Marchant, S. (2025). *Reconocimiento y métodos de diagnóstico de la muerte descendente ocasionada por Lasiodiplodia spp. en cultivos de aguacate del departamento de Santander*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

<https://doi.org/10.21930/agrosavia.manual.7407907>

Cláusula de responsabilidad: AGROSAVIA no es responsable de las opiniones ni de la información recogidas en el presente texto. Los autores asumen de manera exclusiva y plena toda responsabilidad sobre su contenido, ya sea este propio o de terceros, y declaran, en este último supuesto, que cuentan con la debida autorización de terceros para su publicación; igualmente, declaran que no existe conflicto de interés alguno en relación con los resultados de la investigación propiedad de tales terceros. En consecuencia, los autores serán responsables civil, administrativa o penalmente, frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros relativa a los derechos de autor u otros derechos que se hubieran vulnerado como resultado de su contribución.

Línea de atención al cliente: 018000 121515
atencionalcliente@agrosavia.co
www.agrosavia.co



https://co.creativecommons.org/?page_id=13



Foto: Claudia M. Holguín

Contenido

7	Agradecimientos
8	Introducción
11	Capítulo I. Importancia del cultivo de aguacate
12	Generalidades del cultivo en Colombia
14	Generalidades del cultivo de aguacate en el departamento de Santander
17	Capítulo II. Importancia de <i>Lasiodiplodia</i> en aguacate
21	Capítulo III. Reconocimiento de los síntomas en aguacate
22	Descripción de síntomas en fruto
23	Descripción de síntomas en ramas
25	Descripción de síntomas en tronco
26	Descripción de síntoma de muerte descendente
27	Capítulo IV. Aislamiento de <i>Lasiodiplodia</i> spp. en tejido de aguacate (<i>Persea americana</i> L.)
28	Colecta de muestra
29	Proceso para el aislamiento
30	Descripción macroscópica
31	Descripción microscópica

33 **Capítulo V. Prueba de patogenicidad**

34 Producción de inóculo

35 Material vegetal

36 Inoculación y seguimiento de síntomas

39 **Capítulo VI. Detección molecular
de especies de *Lasiodiplodia***

41 Obtención de biomasa

42 Extracción de ADN

44 Amplificación de ADN por PCR

49 Análisis de datos e identificación de especies

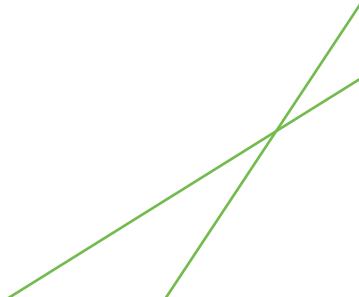
57 **Capítulo VII. Caracterización integral
de especies de *Lasiodiplodia***

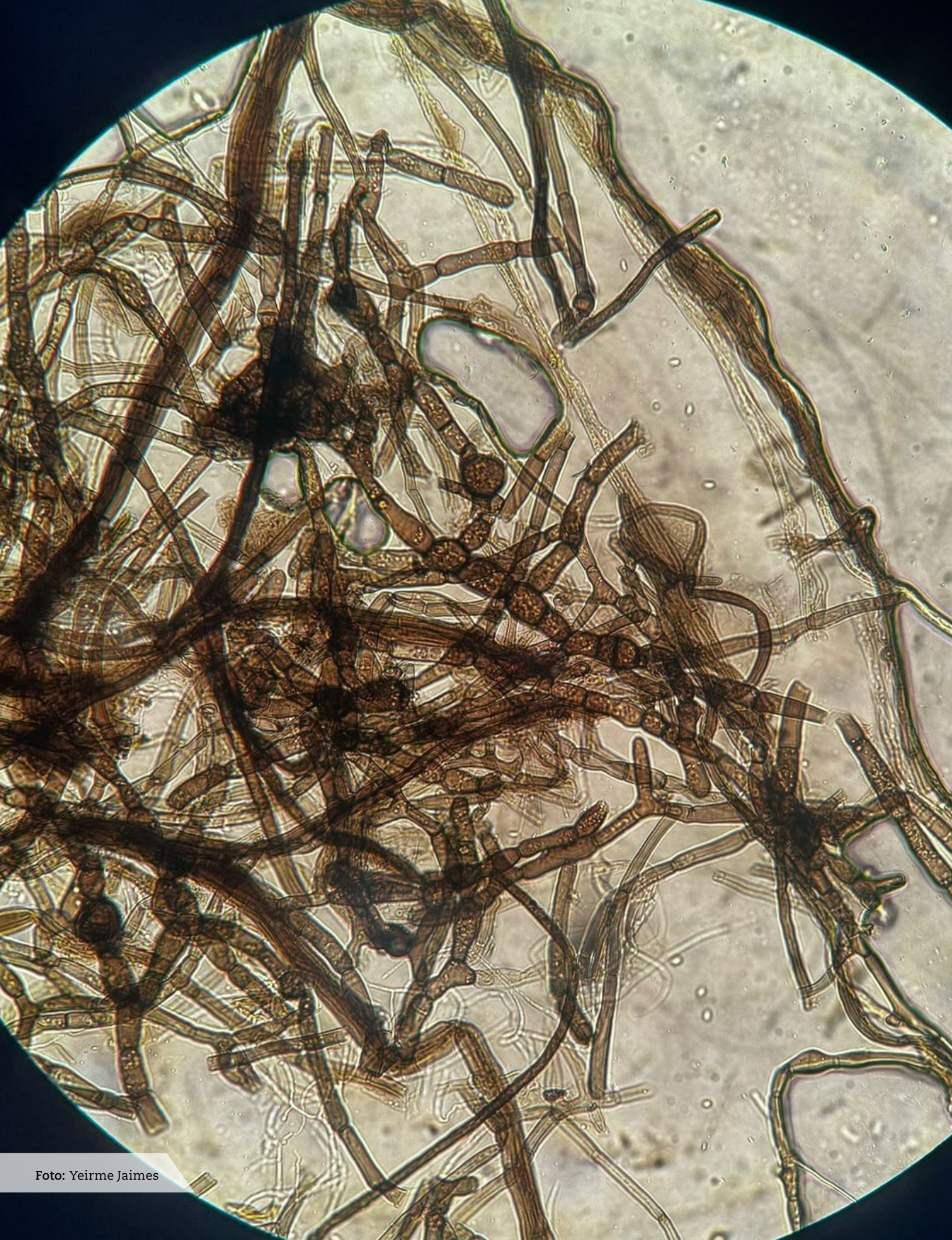
60 **Conclusiones y recomendaciones**

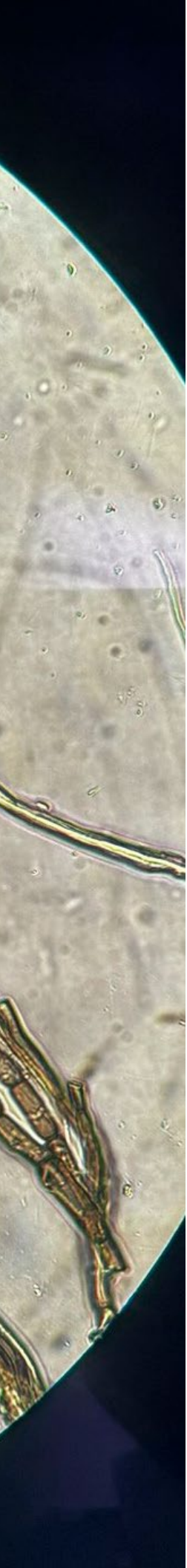
62 **Glosario**

64 **Referencias**

70 **Autoría**





A vertical strip on the left side of the page shows a microscopic view of plant tissue, likely a root or stem, with various cellular structures visible. The image is in grayscale with some color highlights, showing a cross-section of the tissue.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Sistema General de Regalías de Santander por la financiación a través del proyecto “Fortalecimiento de las capacidades en Ciencia, Tecnología e Innovación del Centro de Investigación (C. I.) La Suiza para el desarrollo de proyectos en fitosanidad y agroindustria en sistemas de producción priorizados en el departamento de Santander”, con código BPIN 2020000100337.

Introducción

El departamento de Santander es el principal productor de aguacates criollos y antillanos en Colombia. Según datos del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR), este departamento alcanzó una producción de 30.500 toneladas en 4.850 hectáreas cosechadas durante 2021. Pese a liderar la producción de estas variedades, Santander se posiciona en el sexto lugar a nivel nacional en producción total de aguacate y el séptimo en área cosechada, con un rendimiento promedio de ocho toneladas por hectárea, inferior al de otros departamentos productores como Caldas (11 t/ha) y Valle del Cauca (10 t/ha) (MADR, 2021).

La producción de aguacates criollos en Santander se concentra en los municipios de El Carmen de Chucurí, San Vicente de Chucurí y Rionegro (MADR, 2021; MADR, 2023). En estos municipios, el cultivo de aguacate tiene una larga tradición y representa una de las principales fuentes de ingresos para los productores. Los sistemas productivos se caracterizan por áreas de producción pequeñas, con predominio de cultivos en ladera, árboles de porte alto (mayores de 20 metros) asociados con cacao, y un manejo agronómico deficiente (Holguín, 2022; MADR, 2021).

En los últimos años, se ha observado una preocupante mortalidad de las plantaciones de aguacate en estos municipios, especialmente en El Carmen de Chucurí y áreas cercanas de otros municipios como Simacota. Esta problemática ha afectado negativamente la producción y el rendimiento del cultivo en la región. Para 2017, El Carmen de Chucurí fue el mayor productor de aguacate del departamento de Santander con 1.545 hectáreas sembradas, un área cosechada de 1.305 hectáreas y 4.568 toneladas de producción (MADR, 2022). Sin embargo, para 2022, se presentó una disminución en el área sembrada del 40 % (960 hectáreas), en el área cosechada del 31 % (915 hectáreas) y en la producción de la fruta del 21 % (3.660 toneladas) (MADR, 2023).

Los síntomas en las plantaciones de aguacate de esta región se caracterizan por la marchitez parcial o total de la parte aérea del árbol, amarillamiento y defoliación de las hojas, lesiones necróticas y chancros en ramas y tronco, pudrición de frutos y raíces, y finalmente, la muerte regresiva o descendente de los árboles. Ante esta situación, la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA, en colaboración con la Universidad Industrial de Santander (UIS), ha llevado a cabo proyectos de investigación desde 2020 para identificar el agente causal de esta mortalidad y establecer estrategias de manejo efectivas. Las investigaciones han identificado a *Lasiodiplodia* spp., un hongo fitopatógeno cosmopolita, como el agente causal de la muerte descendente de los aguacates criollos en estas áreas productivas. Este hongo patógeno afecta a una amplia gama de plantas y causa pérdidas económicas considerables en diferentes cultivos, del 30 % y mayores en cultivos como marañón y limón Tahití (Coutinho et al., 2004; Picos-Muñoz et al., 2015).

En este contexto, el presente manual tiene como objetivo proporcionar información actualizada y relevante sobre la enfermedad causada por *Lasiodiplodia* spp. en el cultivo de aguacate. Se abordarán aspectos como la importancia de la problemática, el reconocimiento de los síntomas en campo, los métodos de aislamiento y diagnóstico del patógeno en laboratorio, como resultado del proyecto “Fortalecimiento de las capacidades en Ciencia, Tecnología e Innovación del centro de investigación La Suiza para el desarrollo de proyectos en fitosanidad y agroindustria en sistemas de producción priorizados en el departamento de Santander”, financiado por el Sistema General de Regalías de Santander (BPIN 2020000100462).

Se espera que la información proporcionada sea una herramienta valiosa para personal de laboratorios y académicos en la identificación y diagnóstico del patógeno implementando diferentes métodos, así como para productores y asistentes técnicos en el reconocimiento temprano de los síntomas de la enfermedad. El objetivo final es contribuir al desarrollo de estrategias efectivas para el manejo de esta enfermedad y la recuperación de la producción de aguacate en el departamento de Santander y otras regiones productoras del país.



Foto: Claudia M. Holguín

Capítulo I

Importancia del cultivo de aguacate

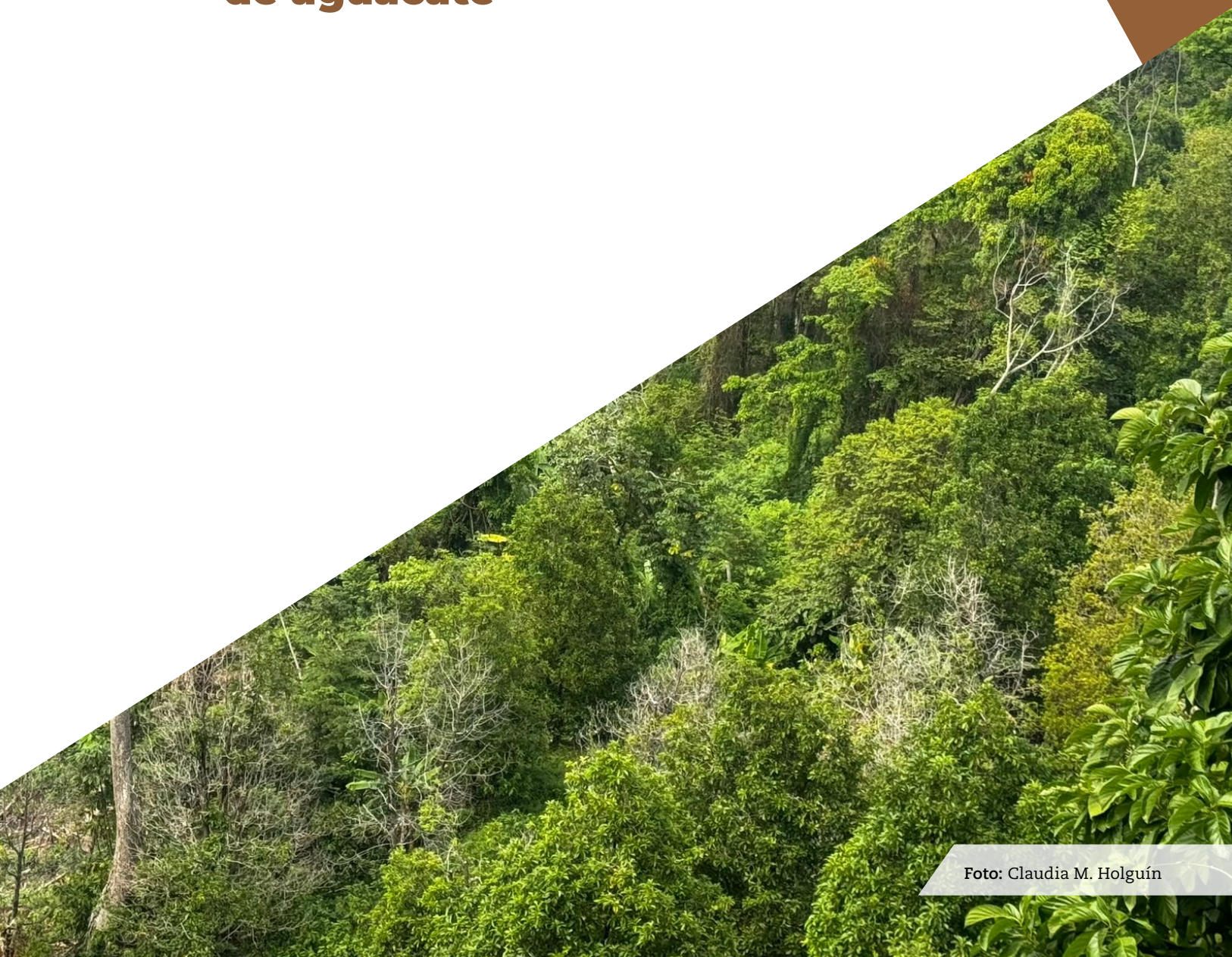


Foto: Claudia M. Holguín

Generalidades del cultivo de aguacate en Colombia

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es un cultivo de gran importancia mundial, apreciado por su sabor, versatilidad culinaria y valor nutricional (Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura [Intagri], 2018). Originario de México y Centroamérica (Purseglove et al., 1968), este fruto de la familia Lauraceae se cultiva en regiones tropicales y subtropicales, y alcanzó una producción global de más de ocho millones de toneladas en 2021 (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2023). América y el Caribe lideran la producción mundial con cerca del 70 %, seguidos por África (14 %), Asia (12 %), Oceanía (2 %) y Europa (2 %) (FAO, 2023). México, Colombia y Perú son los principales productores, con un aporte de 28,11 y 9 % de la producción mundial, respectivamente (FAO, 2023).

Colombia es el segundo país productor, al participar en 2021 con 979.618 toneladas en 94.111 hectáreas de la producción mundial (FAO, 2023). La producción se concentra principalmente en los departamentos de Antioquia (155.279 t), Caldas (108.014 t), Tolima (91.479 t), Meta (35.485 t), Valle del Cauca (34.611 t) y Santander (30.515 t), los cuales representan el 73 % del área cultivada. Caldas y Valle del Cauca se destacan con los mayores rendimientos, 11 y 10 t/ha, respectivamente (MADR, 2021). Las variedades comerciales cultivadas en Colombia incluyen Hass, papelillos verdes y variedades criollas y antillanas (MADR, 2021). El 66 % del área sembrada corresponde a variedades verdes, criollas o antillanas, y el 34 % restante al cultivar (cv.) Hass (MADR, 2021) (figura 1). El aguacate cv. Hass se cultiva principalmente en la zona occidente-Eje Cafetero y zona centro; los papelillos verdes en la zona centro, occidente-Eje Cafetero y sur, y las variedades criollas y antillanas, en los Santanderes y Costa Atlántica (MADR, 2021).

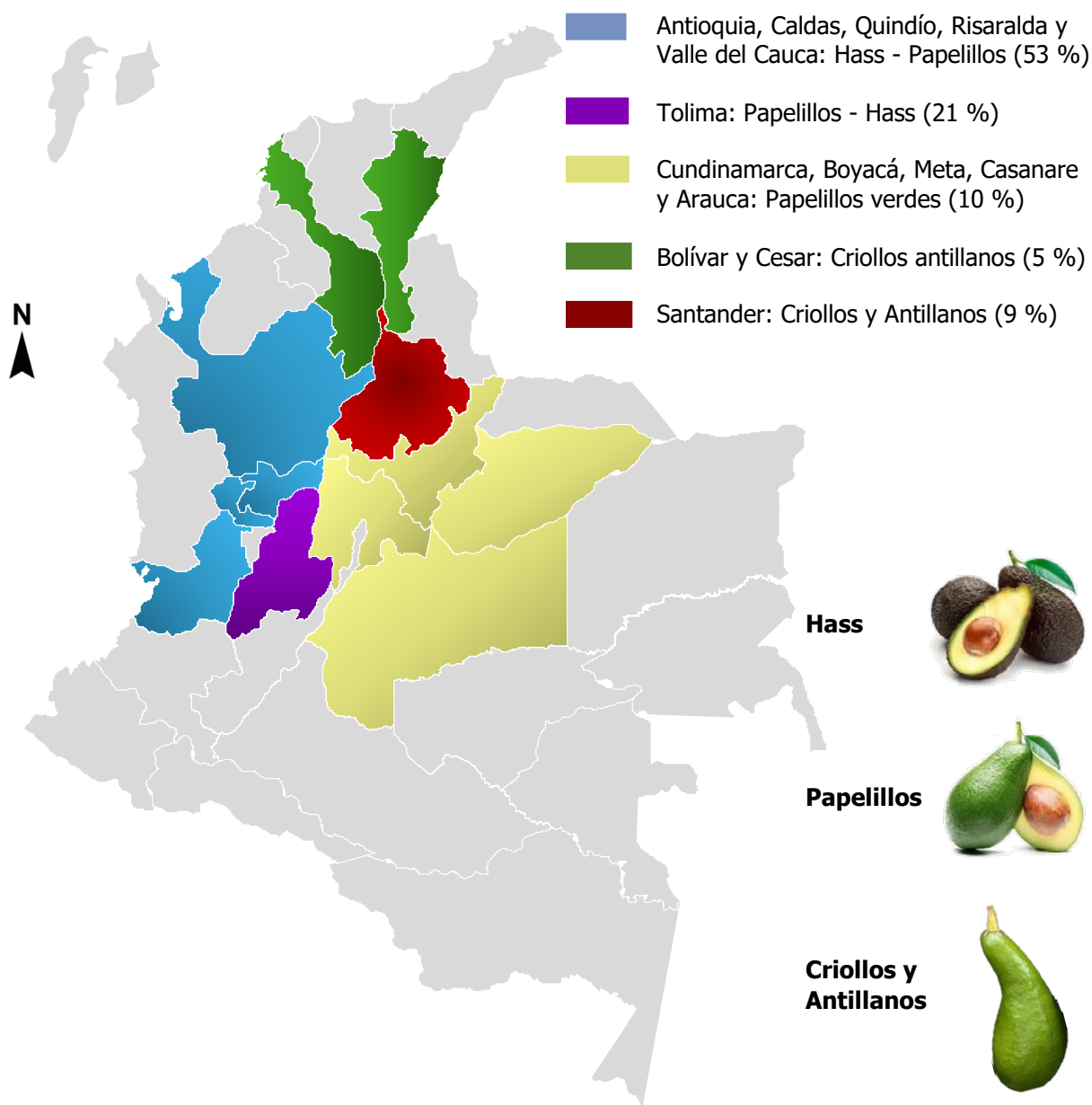


Figura 1. Mapa de Colombia con las regiones productoras de las diferentes variedades.

Fuente: Elaboración propia

En el mercado interno, los aguacates criollos, comunes y papelillos verdes son preferidos por tradición y sabor, mientras que el cv. Hass, con un contenido de aceite del 27 %, domina el mercado internacional por su sabor y valor nutricional, en comparación con otras variedades que presentan porcentajes de 10 a 12 % (Sistema de Información de Gestión y Desempeño de Organizaciones de Cadenas [SIOC], 2017). A pesar de su tradición y mayor área de siembra, la producción de variedades para consumo interno ha sido empírica, impulsada por la tradición y con sistemas de producción poco tecnificados, lo que ha resultado en rendimientos inferiores a los obtenidos con Hass (MADR, 2021).

Generalidades del cultivo de aguacate en el departamento de Santander

El departamento de Santander lidera la producción de aguacates criollos y antillanos en Colombia, junto con Bolívar y Cesar en la Costa Atlántica (MADR, 2021). A nivel nacional, ocupa el sexto lugar en producción y el séptimo en área cosechada (MADR, 2021), con 30.515 toneladas producidas en 4.850 hectáreas en 2021 (MADR, 2021). La producción se concentra en diez municipios, entre los cuales se destaca San Vicente de Chucurí con 9.502,5 toneladas (633,5 ha cosechadas), seguido por Rionegro con 4.857,89 toneladas (1.428,79 ha cosechadas), Landázuri con 3.780 toneladas (540 ha cosechadas) y El Carmen de Chucurí con 3.615 toneladas (905 ha cosechadas) (MADR, 2023). Otros municipios como Lebrija, El Playón, Curití, Villanueva, Florián, Tona y Piedecuesta también contribuyen a la producción total del departamento, aunque en menor medida. Cabe resaltar que a pesar de que Rionegro tiene la mayor área sembrada y cosechada, su rendimiento (3,4 t/ha) es considerablemente menor al de San Vicente de Chucurí (15 t/ha) (tabla 1).

Municipio	Área sembrada (ha)	Área cosechada (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t/ha)
Rionegro	1.448,79	1.428,79	4.857,89	3,40
El Carmen de Chucurí	925,00	905,00	3.615,00	3,99
San Vicente de Chucurí	661,50	633,50	9.502,50	15,00
Landázuri	560,00	540,00	3.780,00	7,00
Lebrija	200,00	190,00	1.140,00	6,00
El Playón	175,00	167,00	1.336,00	8,00
Curití	150,00	140,00	1.680,00	12,00
Villanueva	129,00	129,00	1.290,00	10,00
Florián	125,35	125,35	877,45	7,01
Tona	111	110	220	2,00
Piedecuesta	86,3	76,3	763	10,00

Fuente: MADR (2023)

La producción de variedades criollas y antillanas se concentra en los municipios de El Carmen de Chucurí, San Vicente de Chucurí y Rionegro, mientras que los papelillos de piel verde se cultivan principalmente en los municipios de El Carmen de Chucurí, Florián, Rionegro y Landázuri (MADR, 2021).

A pesar de su liderazgo en la producción de aguacates criollos, el departamento de Santander presenta rendimientos promedio bajos (8 t/ha) y sistemas de producción poco tecnificados. En El Carmen de Chucurí, principal productor de aguacates criollos, el cultivo se realiza mayoritariamente en laderas, con árboles de porte alto (más de 20 m), distribuidos de manera aleatoria en arreglos agroforestales en asocio principalmente con cacao, con un manejo agronómico deficiente y poca tecnificación (figura 2) (Holguín et al., 2022). Los productores son principalmente pequeños y medianos, y la comercialización se centra en el producto fresco (MADR, 2021).

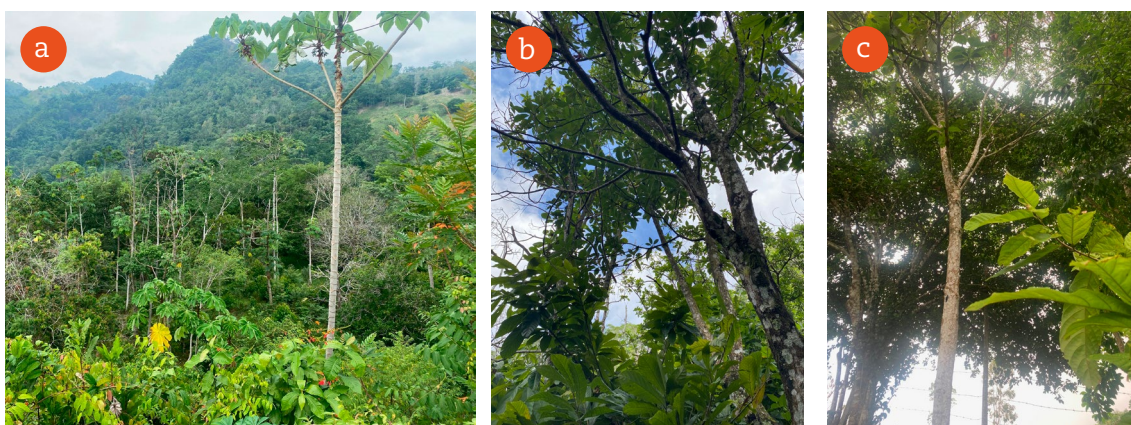


Figura 2. Sistema de producción de aguacates criollos en El Carmen de Chucurí, Santander. a. Arreglo agroforestal aguacate-cacao; b y c. Árboles de aguacates criollos con alturas superiores a 20 m.

Fotos: Claudia M. Holguín

Esta región se ha visto afectada por problemas fitosanitarios que han llegado a ocasionar la mortalidad de las plantaciones. En El Carmen de Chucurí y Simacota, según censo realizado por entidades locales de El Carmen de Chucurí en 2019, se presentó mortalidad de las plantaciones desde 2017, la cual inició con una marchitez parcial o total de la parte aérea del árbol, seguida en la mayoría de los casos por una muerte descendente o regresiva de los árboles. En investigaciones realizadas por AGROSAVIA desde 2020 se identificó principalmente al hongo *Lasiodiplodia* spp. asociado con la muerte regresiva de las plantas de aguacate, con síntomas como cánceres o chancros en ramas y troncos, relacionados con secreciones o exudados blanquecinos, tizones foliares, pudrición de fruto y posterior muerte regresiva o descendente (Holguín et al., 2022).

Capítulo II

Importancia de *Lasiodiplodia* en aguacate



Foto: Claudia M. Holguín

El género *Lasiodiplodia* Ellis y Everh (1896), perteneciente a la familia Botryosphaeriaceae, orden Botryosphaeriales, es un hongo distribuido en varias regiones del mundo, presente en regiones tropicales y subtropicales, y recientemente ha aumentado su distribución en regiones templadas (Slippers & Wingfield, 2007; Jayawardena et al., 2019). Los hongos de este género y de la familia Botryosphaeriaceae son comúnmente endófitos, es decir, son microorganismos que permanecen en tejidos sanos de las plantas sin causar daño, y se vuelven patógenos cuando la planta hospedera se expone a condiciones de estrés o se debilita (Slippers & Wingfield, 2007; Picos-Muñoz et al., 2015; Avenot et al., 2023).

Este género afecta un amplio rango de plantas monocotiledóneas, dicotiledóneas y gimnospermas (Rathnayaka et al., 2023), ocasionando una enfermedad conocida como “la muerte regresiva” o “muerte descendente”, principalmente en cultivos perennes como aguacate, mango, cacao, entre otros (Alves et al., 2008). El patógeno ocasiona síntomas en las plantas como pudrición de raíces, cánceres o chancros en ramas y troncos asociados a secreciones o exudados blanquecinos, tizones foliares, pudrición de fruto y muerte regresiva o descendente del árbol (Rodríguez-Gálvez et al., 2021; Picos-Muñoz et al., 2015).

Actualmente, se reconocen más de 30 especies de *Lasiodiplodia* (Ko et al., 2023). En aguacate (*Persea americana* L.), *Lasiodiplodia theobromae* es una de las especies más importantes en términos de impacto económico en la producción de la fruta a nivel mundial (Alves et al., 2008). Esta especie ha sido reportada en aguacate en Italia (Garibaldi et al., 2012), Chile (Valencia et al., 2019), China (Qiu et al., 2020), España (Arjona-Girona et al., 2019), Nigeria (Onaebi et al., 2019), Kenya (Wanjiku et al., 2020) y Perú (Alama et al., 2006; Rodríguez-Gálvez et al., 2021). Predomina en regiones tropicales y subtropicales, y por esta razón es considerada una amenaza para el cultivo de aguacate y otros cultivos, ya que la propagación de este patógeno en regiones templadas puede ser alta a través de material vegetal (Salvatore et al., 2020).

El impacto económico de esta enfermedad es considerable. Las pérdidas en la producción pueden variar dependiendo de la severidad de la infección, la susceptibilidad de la variedad de aguacate y las condiciones ambientales. En casos graves, la enfermedad provoca la muerte de árboles jóvenes y reduce significativamente la producción en árboles adultos (Ramírez-Gil, 2018). Además de las pérdidas directas en la producción, la enfermedad también puede afectar la calidad de la fruta, lo que reduce su valor comercial.

La problemática causada por las especies de *Lasiodiplodia* en el cultivo de aguacate se ha intensificado en los últimos años debido a diversos factores, como la expansión geográfica del cultivo, el aumento del comercio internacional de plantas y frutos, y la intensificación de los sistemas de producción (Burbano-Figueroa et al., 2018). Estos factores han facilitado la dispersión del patógeno y han creado condiciones favorables para su desarrollo.

Además de los factores mencionados, la variabilidad y el cambio climático también están contribuyendo al incremento de especies de *Lasiodiplodia* como un patógeno de importancia en el aguacate (Puig et al., 2021). Las altas temperaturas y los periodos de sequía prolongada, cada vez más frecuentes por el cambio climático, debilitan los árboles y los hacen más susceptibles a la infección (Salvatore et al., 2020), lo que ocasiona pérdidas extensivas en una gran área. Los hongos patogénicos de la familia Botryosphaeriaceae, entre estos los pertenecientes al género *Lasiodiplodia*, pueden afectar un número amplio de plantas leñosas a través de las lenticelas, pero infectan principalmente a través de heridas en tejidos con podas recientes o con daños mecánicos causados tanto por el viento como por insectos, e invaden los vasos del xilema (Avenot et al., 2023).

En Colombia, la especie *L. theobromae* ha sido reportada en el departamento de Antioquia, asociada a la marchitez de las plantaciones de aguacate cv. Hass en tejido de raíces, tallos y hojas (Ramírez-Gil & Peterson, 2019). Igualmente, en el departamento del Cauca se reportó a *Lasiodiplodia* spp. asociada a pudriciones de fruto también en aguacate cv. Hass (Ángel-García et al., 2023).

En Santander, se identificó a las especies *L. theobromae*, y *L. brasiliensis* asociadas a síntomas de cánceres en tronco y ramas, y daño en haces vasculares, y en árboles de aguacates criollos se relacionaron con defoliación severa y muerte descendente, en municipios productores como El Carmen de Chucurí y Simacota (Holguín, 2022, 2024), lo que afectó la producción y el rendimiento de la fruta en el departamento.



Capítulo III

Reconocimiento de los síntomas en aguacate

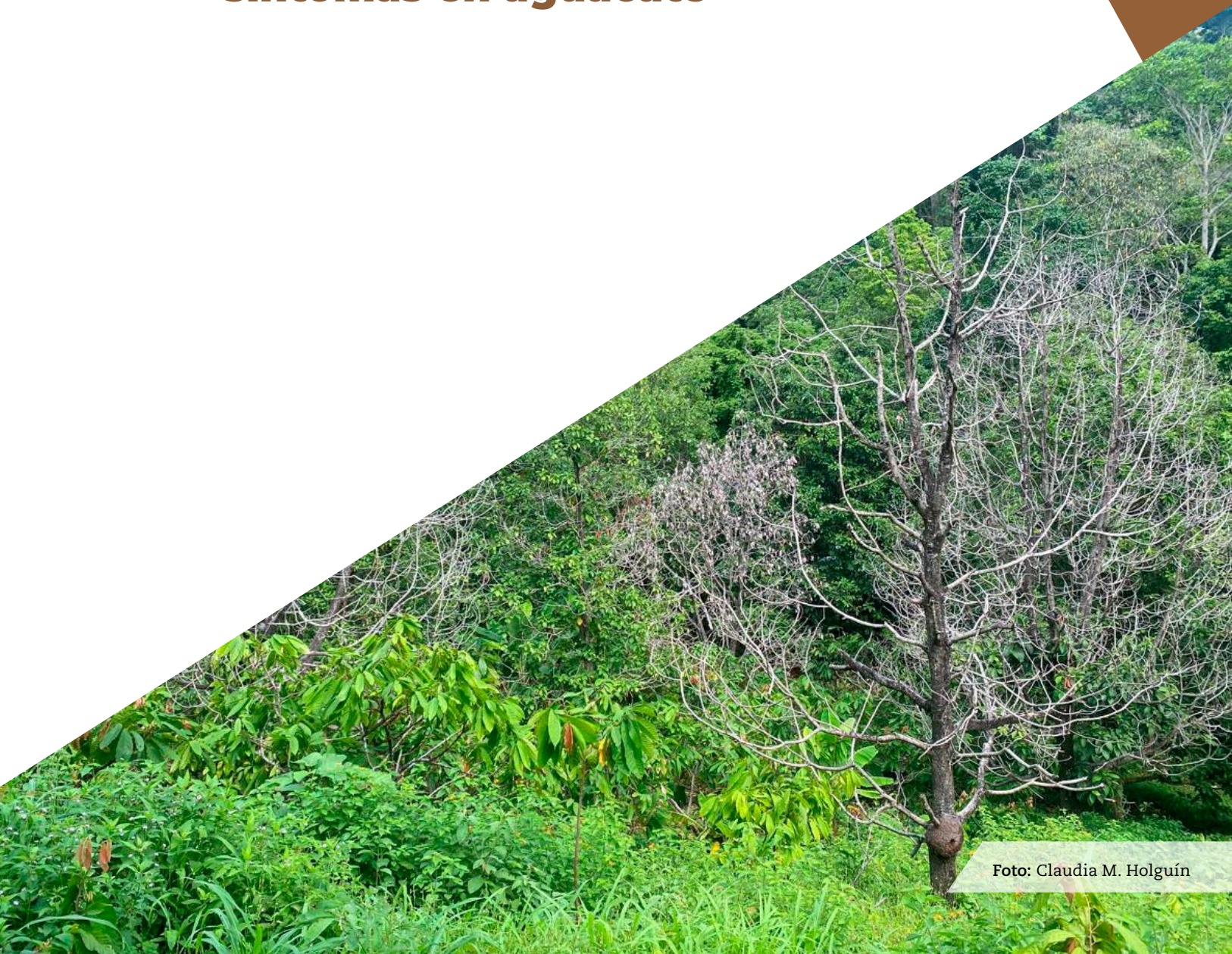


Foto: Claudia M. Holguín

La enfermedad causada por el hongo *Lasiodiplodia* en el cultivo de aguacate se manifiesta de forma sistémica, ya que afecta a todas las partes del árbol, desde las raíces hasta los frutos. Los síntomas iniciales, que pueden pasar desapercibidos, incluyen marchitez, amarillamiento y defoliación progresiva del árbol, hasta causar la muerte descendente del árbol si no se controla la infección. En ramas y tronco, la enfermedad se manifiesta como lesiones necróticas y chancros, los cuales interrumpen el flujo de savia y nutrientes, y esto a su vez debilita la estructura del árbol y compromete su desarrollo. En los frutos, la infección causa pudrición y caída prematura, mientras que en las raíces se observa pudrición, lo que afecta la absorción de agua y nutrientes esenciales para la planta (Rodríguez-Galvez et al., 2021; El-Ganainy, 2022).

Entre los síntomas reportados con más frecuencia se encuentran los cánceres en ramas, lesiones necróticas que pueden exudar sustancias blanquecinas y causar la muerte regresiva de la parte afectada. La pudrición del fruto se presenta tanto en campo como en poscosecha, e inicia generalmente en el área del cáliz y provoca su desprendimiento. La pudrición de tallo y ramas se presenta como lesiones necróticas que pueden extenderse a lo largo de la estructura del árbol, con lo cual se compromete la estabilidad y supervivencia. También puede ocurrir la muerte descendente, un síntoma avanzado y devastador que se caracteriza por la defoliación progresiva y la muerte de ramas, y que comienza desde la copa del árbol y avanza hacia abajo. A continuación, se describen en detalle los síntomas observados en cada parte del árbol.

Descripción de síntomas en fruto

La pudrición de frutos de aguacate causada por *Lasiodiplodia* spp. se puede presentar tanto en condiciones de campo como durante la poscosecha. Los síntomas iniciales aparecen en el extremo del pedúnculo, específicamente en el área que rodea el cáliz del fruto (también conocido como extremo estilolar) (figura 3) (Navarro et al., 2021). El primer signo visible es el ablandamiento del pedúnculo, que causa su desprendimiento. Aunque es menos frecuente, la pudrición también puede ocurrir en frutos inmaduros antes de la cosecha. Sin embargo, es más común que se desarrolle durante la poscosecha, cuando los frutos inician su proceso de maduración debido al aumento de la tasa de respiración y la producción de etileno (Valencia et al., 2019). Durante

el almacenamiento, las lesiones iniciales se expanden y adquieren una coloración marrón oscura a negra. En condiciones ambientales favorables, se observa el desarrollo de micelio (masa de filamentos del hongo) y picnidios (estructuras reproductivas) en el extremo del pedúnculo (Navarro et al., 2021).



Figura 3. Frutos de aguacate con síntomas de pudrición en el área del cáliz causada por especies del género *Lasiodiplodia*.

Foto: Donald Adrián Galvis Neira

Descripción de síntomas en ramas

En las ramas, la infección por *Lasiodiplodia* spp. se manifiesta principalmente como cánceres, caracterizados por áreas necróticas en la corteza (figura 4). La corteza afectada se vuelve friable (se desmenuza fácilmente) y a menudo presenta exudados duros y blanquecinos de perseitol, un alcohol de azúcar característico de los aguacates. Internamente, el tejido leñoso se torna marrón rojizo (figura 5), lo que evidencia el avance de la enfermedad (Avenot et al., 2023).

La infección inicial en la corteza permite que *Lasiodiplodia* spp. penetre y colonice los tejidos vasculares, tanto en el xilema, responsable del transporte de agua y nutrientes, como en el floema, encargado de la translocación de los fotoasimilados (productos de la fotosíntesis). Al obstruir estos tejidos, el patógeno interrumpe el flujo vital de sustancias en la planta, lo que provoca un debilitamiento progresivo y la muerte regresiva de la rama (Valencia et al., 2019). Este proceso de deterioro se manifiesta externamente como marchitez y secado de las hojas, seguidos por la muerte de la rama.

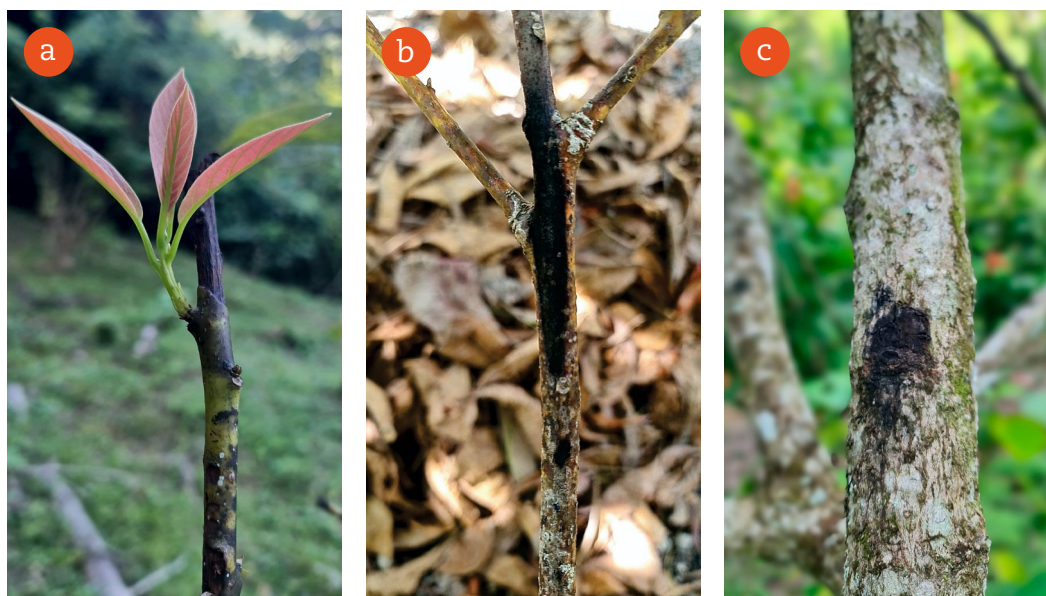


Figura 4. Síntomas ocasionados por *Lasiodiplodia* spp. en tejidos de *Persea americana* L. a. Pudrición de ramas terminales; b. Tizón en ramitas; c. Cáncer en troncos.

Fotos: Donald Adrián Galvis Neira



Figura 5. Síntomas ocasionados por especies del género *Lasiodiplodia* en tejidos de *Persea americana* L. a. Necrosis en la corteza del tejido externo; b. Coloración marrón-rojiza en tejido interno.

Fotos: Donald Adrián Galvis Neira

Descripción de síntomas en tronco

En el tronco, la infección se manifiesta como cánceres (figura 4c), caracterizados por lesiones necróticas que exudan savia, inicialmente rojiza y luego de color blanco a *beige*, a medida que se seca. Al igual que en las ramas, la corteza afectada se vuelve friable y se hunde, mostrando un agrietamiento longitudinal con decoloración externa oscura (figura 6). Internamente, el tejido de la madera se torna marrón rojizo, con decoloraciones características en forma de cuña que se extienden a través del xilema, el tejido conductor de agua y nutrientes (Fiorenza et al., 2023). Esta alteración en la estructura y función del xilema compromete el transporte de agua y nutrientes a las partes superiores del árbol, lo que contribuye al deterioro general de la planta.



Figura 6. Agrietamiento longitudinal con decoloración externa oscura en tronco de *Persea americana* L., ocasionado por especies del género *Lasiodiplodia*.

Fotos: Donald Adrián Galvis Neira

Descripción de síntoma de muerte descendente

En casos de alta cantidad de inóculo, *Lasiodiplodia* spp. puede colonizar ampliamente el xilema. Esta colonización masiva interrumpe el flujo de agua y nutrientes hacia las partes superiores de la planta, lo que se manifiesta inicialmente como marchitez de las ramas y hojas que permanecen adheridas al árbol en un primer momento (Fiorenza et al., 2023). A medida que la infección progresa, se desarrolla el síntoma de muerte regresiva, caracterizado por la defoliación, es decir, el desprendimiento de las hojas marchitas. Simultáneamente, se produce la necrosis y muerte de ramitas y ramas, al principio en la copa del árbol para después extenderse progresivamente hacia abajo. Las plantas afectadas presentan un aspecto general de decaimiento, con ramas secas, necrosis externa en ramitas y marchitez generalizada de hojas e inflorescencias (figura 7) (Hernández et al., 2023). La muerte regresiva es el síntoma más grave de la enfermedad causada por especies del género *Lasiodiplodia*, ya que puede comprometer la supervivencia del árbol y causar pérdidas significativas en la producción de aguacate.



Figura 7. Árboles de aguacate con muerte regresiva causada por especies del género *Lasiodiplodia* en plantación ubicada en Simacota (Santander, Colombia).

Fotos: Yeirme Yaneth Jaimes y Claudia M. Holguín

Capítulo IV

Aislamiento de *Lasiodiplodia* spp. de tejido de aguacate (*Persea americana* L.)



Foto: Juan Nicolás Pastrana Sánchez

Para un manejo adecuado de problemas fitosanitarios, como los ocasionados por hongos a cultivos de aguacate, es fundamental realizar un diagnóstico preciso, lo que implica la identificación del agente causal de la enfermedad. Entre los métodos convencionales para la detección de hongos fitopatógenos cultivables, como las especies del género *Lasiodiplodia*, se encuentra el aislamiento en medio de cultivo. Este método permite examinar inicialmente las características morfológicas del hongo, tanto a nivel macroscópico como microscópico. Cabe indicar que para el caso específico de especies de este género y otros miembros de la familia Botryosphaeriaceae, dado su amplio rango de morfología conidial, la caracterización morfológica no se considera informativa (García et al., 2021). Para facilitar la correcta identificación de los aislamientos obtenidos, se requiere realizar la caracterización mediante técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (ver capítulo VI. Detección molecular de especies de *Lasiodiplodia*).

A continuación, se describe el proceso de aislamiento de *Lasiodiplodia* spp. a partir de tejido vegetal de aguacate y se detallan las características macro- y microscópicas que se pueden observar.

Colecta de muestra

Para el aislamiento de especies de *Lasiodiplodia*, se deben seleccionar árboles de aguacate al azar en una plantación, incluidos árboles sintomáticos (que presenten signos visibles de la enfermedad) y asintomáticos (aparentemente sanos). De cada árbol seleccionado, se toman muestras de tejido de ramas, tronco y frutos, preferiblemente de zonas que presenten síntomas característicos de la enfermedad, como lesiones necróticas, chancros o pudriciones. El material vegetal colectado se dispone en bolsas plásticas con cierre hermético, evitando incluir material húmedo para prevenir la descomposición y contaminación de las muestras. Es fundamental mantener las muestras refrigeradas durante el transporte al laboratorio, donde se procesan para el aislamiento del hongo.

Proceso para el aislamiento

En el laboratorio, las muestras colectadas se someten a un proceso de limpieza y desinfección para eliminar cualquier material contaminante y asegurar la obtención de cultivos puros de *Lasiodiplodia* spp. Inicialmente, las muestras se sumergen en una solución con detergente durante 15 minutos, seguida de un lavado con agua corriente para eliminar el exceso de solución. Luego, se secan cuidadosamente con papel toalla estéril. A continuación, se obtienen fragmentos de tejido de 0,5 cm² de hojas, pecíolos, pedúnculos y frutos, o de 0,4 cm de longitud de tronco y ramas, con un bisturí estéril. Estos fragmentos se desinfectan sumergiéndolos secuencialmente en una solución de hipoclorito de sodio al 1 % durante 2 minutos, etanol al 70 % durante 2 minutos y agua estéril por 3 minutos.

Después de la desinfección, los fragmentos de tejido se secan con papel toalla estéril bajo la corriente de aire de una cabina de flujo laminar y se colocan sobre las superficies de cajas petri que contienen medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) (figura 8). Las cajas petri se incuban a 25 °C durante 3 a 5 días, tiempo durante el cual se espera que las colonias de *Lasiodiplodia* spp. crezcan y se desarrollen, permitiendo su posterior identificación y estudio.



Figura 8. Proceso de obtención de fragmentos de tejido vegetal para el aislamiento de especies del género *Lasiodiplodia*.

- a. Fragmento de tejido vegetal de aguacate de aproximadamente 5 mm;
- b. Fragmento de tejido vegetal desinfectado dispuesto sobre medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA);
- c. Caja petri con muestra de tejido vegetal dispuesta en medio PDA para incubar.

Fotos: Laura Valentina Laverde Arias

Descripción macroscópica

Para describir la morfología de las colonias de *Lasiodiplodia* spp. aisladas, se deben cultivar en medio PDA a 27 °C. Inicialmente, las colonias presentan un micelio aéreo esponjoso de color blanco. A medida que el cultivo envejece, el color cambia gradualmente a oliva y finalmente a gris oscuro o negro (figura 9). Además, se observa un pigmento negro característico en el reverso de la caja petri.

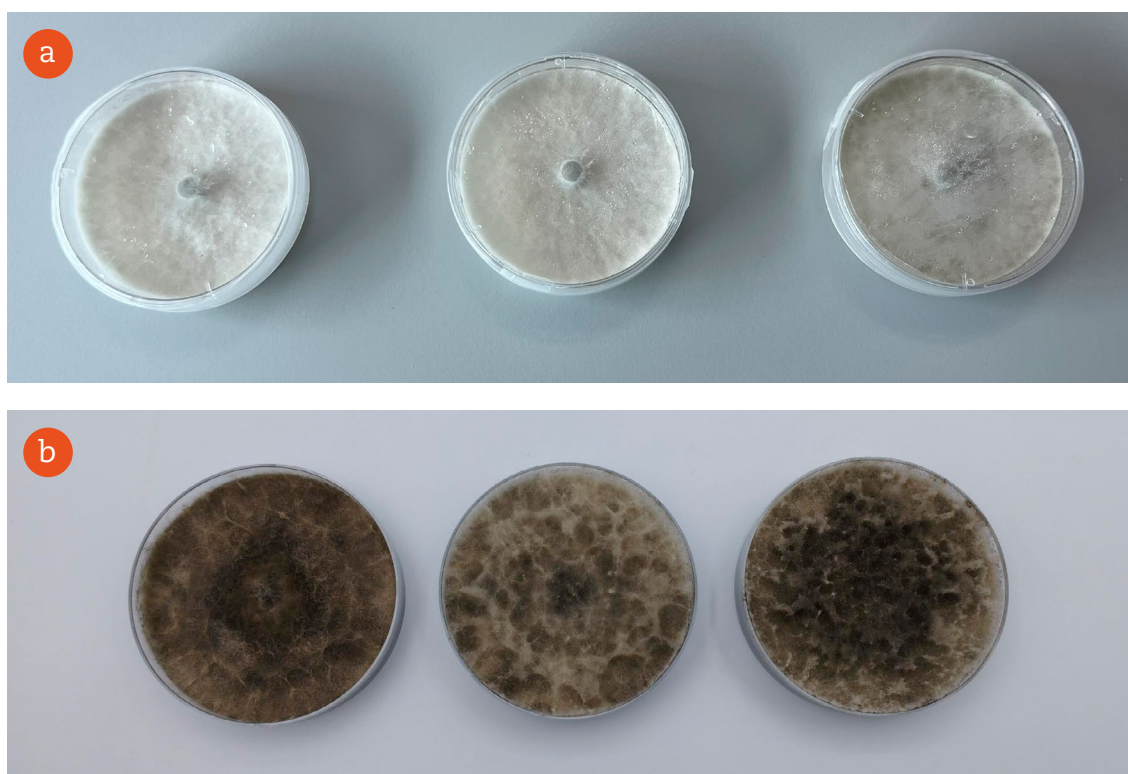


Figura 9. Fragmentos de tejido vegetal y crecimiento de *Lasiodiplodia* spp. en medio papa dextrosa agar (PDA). a. Colonias algodonosas blancas con hasta 4 días de crecimiento; b. Colonias con 8 días de crecimiento, que se tornan verde oliva o grisáceas.

Fotos: Juan Nicolás Pastrana Sánchez

Descripción microscópica

Para los hongos de la familia Botryosphaeriaceae, las características de los estados conidiales se consideran las más informativas, como la pigmentación de los conidios, el grosor de las paredes o los septos (Phillips et al., 2013). Así, con la ayuda del microscopio, se pueden observar las características microscópicas de los aislamientos de *Lasiodiplodia* spp. Los conidios son inicialmente hialinos (transparentes), unicelulares, con pared celular gruesa y forma subovoide o elipsoide, lo cual concuerda con lo descrito por Phillips et al. (2013) para los miembros de esta familia. A medida que maduran, se tornan de color café oscuro y desarrollan un septo (división transversal) con estriaciones longitudinales debido a los depósitos de melanina sobre la superficie interna. El tamaño promedio de los conidios es de $29,9 \pm 15,5 \times 15,5 \pm 0,9 \mu\text{m}$, con una relación largo/ancho de 1,9 (Díaz et al., 2022). Cabe indicar que los estados asexuales de las especies de la familia Botryosphaeriaceae, a la cual pertenecen los hongos del género *Lasiodiplodia*, tienen un amplio rango de morfologías conidiales. Aunque estas morfologías se pueden llegar a considerar informativas (García et al., 2021), por sí solas no tienen un valor para definir a nivel de especie y se debe recurrir a la obtención de información de datos moleculares (Phillips et al., 2013). Por ende, su clasificación taxonómica a nivel de especie se debe realizar mediante la caracterización molecular (Hyde et al., 2014).

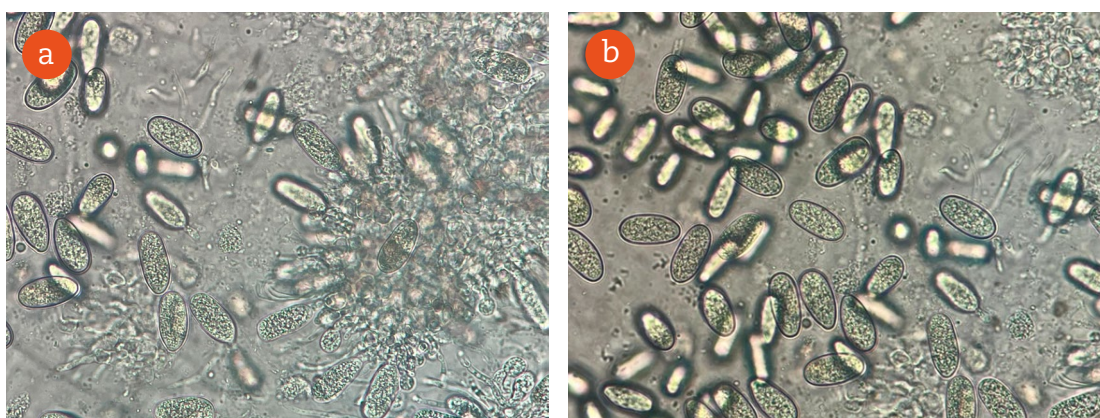


Figura 10. Conidios de aislamientos del género *Lasiodiplodia*.
a. Paráfisis, células conidiógenas y conidios inmaduros a 40 X de *Lasiodiplodia* sp.; b. Conidios maduros e inmaduros.

Fotos: Juan Nicolás Pastrana Sánchez

A continuación, se presenta un esquema que resume los pasos necesarios para obtener aislamientos del género *Lasiodiplodia* que se emplearán en las pruebas de patogenicidad (figura 11).

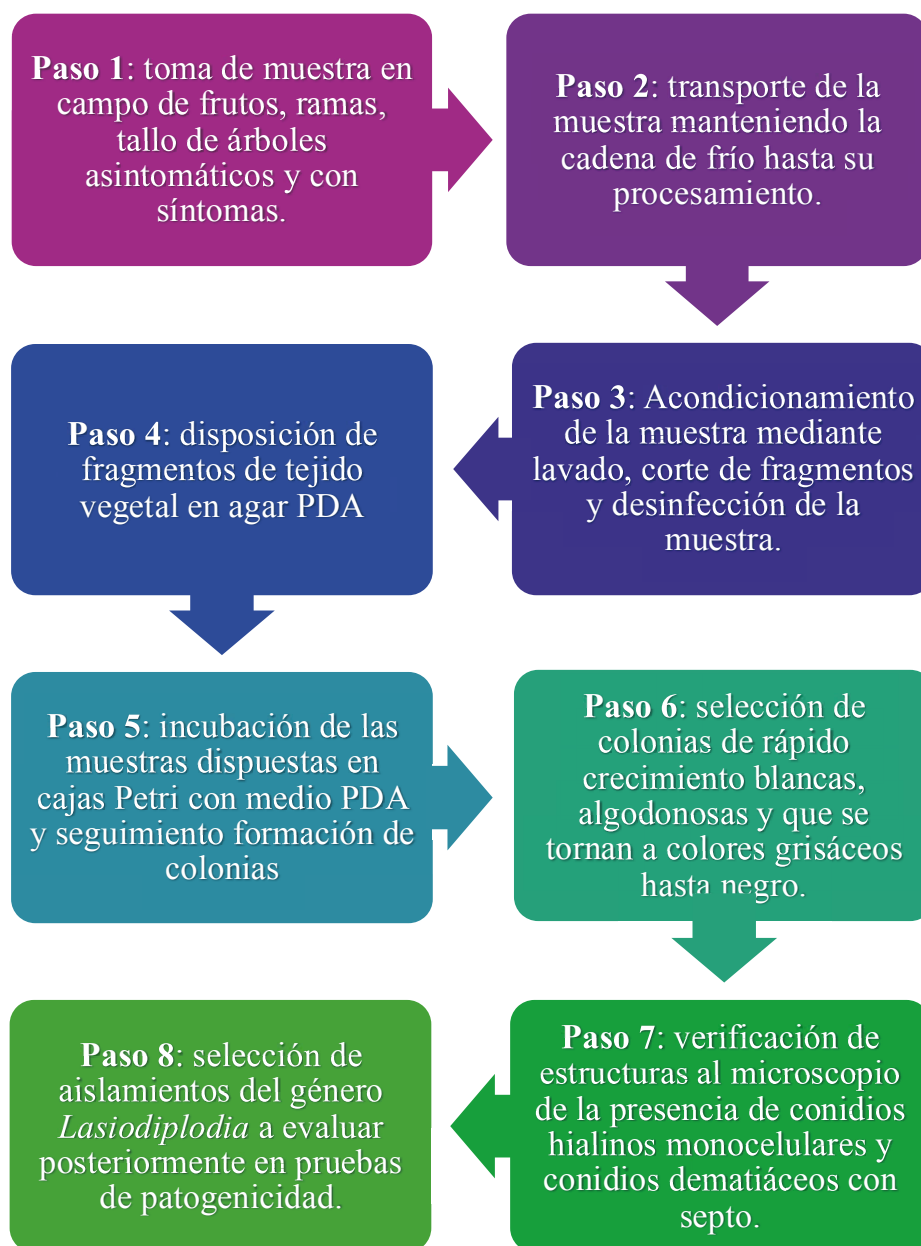


Figura 11. Pasos para obtener aislamientos del género *Lasiodiplodia* con el propósito de hacer un diagnóstico preliminar del agente causal de la muerte súbita del aguacate (*Persea americana* L.).

Fuente: Elaboración propia

Capítulo V

Prueba de patogenicidad

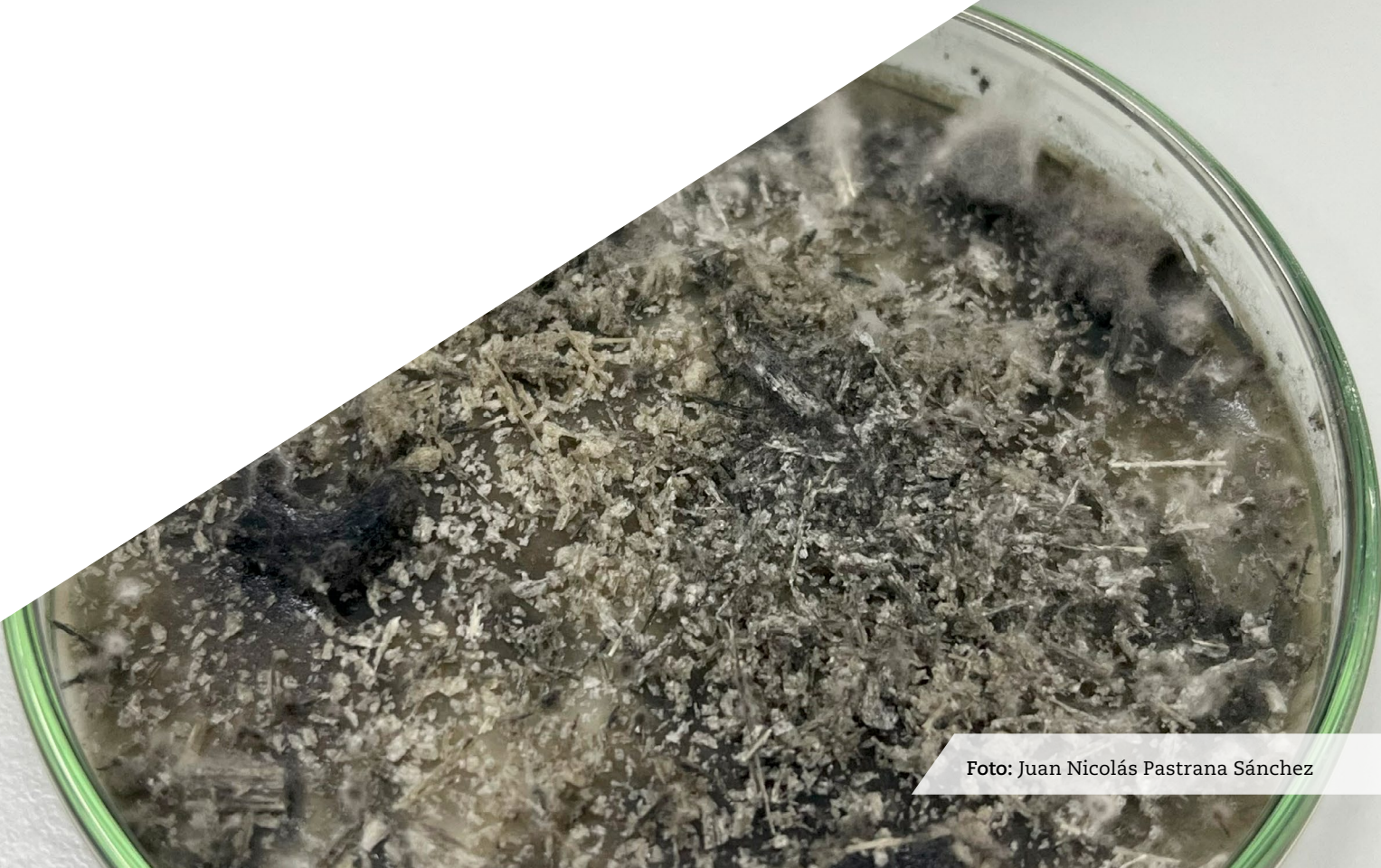


Foto: Juan Nicolás Pastrana Sánchez

Un manejo integrado efectivo de cualquier problema sanitario en cultivos como el aguacate depende de la detección y diagnóstico oportunos del agente causal, sea un patógeno, sea insecto-plaga (Miller et al., 2009). Cuando se desconoce el agente causal, las pruebas de patogenicidad son esenciales para determinar el organismo responsable del daño (Bhunjun et al., 2021). Estas pruebas consisten en inocular artificialmente el tejido vegetal con el organismo sospechoso, bajo condiciones que favorezcan la infección. Para asegurar el éxito de la prueba, es crucial estandarizar el protocolo según factores como densidad del inóculo, condiciones ambientales que promuevan el establecimiento del patógeno y procesos de esterilización del material vegetal a inocular (Bhunjun et al., 2021).

En el caso de *Lasiodiplodia* spp., se ha estandarizado un protocolo específico para evaluar la capacidad de los aislamientos obtenidos previamente (según la metodología descrita en el capítulo VI de este manual) como potenciales agentes causales de la enfermedad en aguacate. Esto con el objetivo de cumplir los postulados de Koch (Kwon et al., 2017), los cuales se consideran claves y se deben cumplir en cualquier estudio etiológico de una enfermedad. Para ello se deben seguir estos pasos: 1) el agente causal debe estar presente en el tejido enfermo; 2) se debe obtener el agente causal en un cultivo axénico (cultivo de una sola especie microbiana proveniente de una sola célula) ; 3) el agente causal aislado debe causar la misma sintomatología en un tejido inoculado, y 4) el agente causal se debe reaislar del material inoculado. Así, en el capítulo V se describe la sintomatología causada por el potencial agente causal, y en el capítulo VI se indica el proceso de obtención del potencial agente causal. En este sentido, se detallan a continuación los diferentes procesos a considerar para llevar a cabo esta prueba de patogenicidad, con lo cual se cumple con el tercer paso de los postulados de Koch (Kwon et al., 2017).

■ Producción de inóculo

Para evaluar la capacidad patogénica de los aislamientos de *Lasiodiplodia* spp., se inicia con la producción del inóculo. Cada aislamiento se siembra en medio PDA y se incuba a 27 °C en oscuridad durante 5 días. Transcurrido este tiempo, se obtienen discos de 5 mm de diámetro de

micelio con crecimiento activo, los cuales se utilizan como inóculo. Es importante destacar que el uso de discos o *plugs* de medio de cultivo con micelio fúngico representa una fuente de inóculo concentrada, lo que puede favorecer el proceso de infección y facilitar la evaluación de la patogenicidad del hongo (Bhunjun et al., 2021).

Material vegetal

Para las pruebas de patogenicidad, se utilizan plántulas de aguacate de 3 a 4 meses de desarrollo. Para obtenerlas, se cosechan frutos del material vegetal a evaluar y se extraen las semillas, las cuales se lavan y desinfectan. Posteriormente, las semillas se siembran en arena de río para inducir su germinación (figura 12a) y, una vez germinadas, se trasplantan a bolsas individuales con sustrato adecuado para su crecimiento y desarrollo (figura 12b).

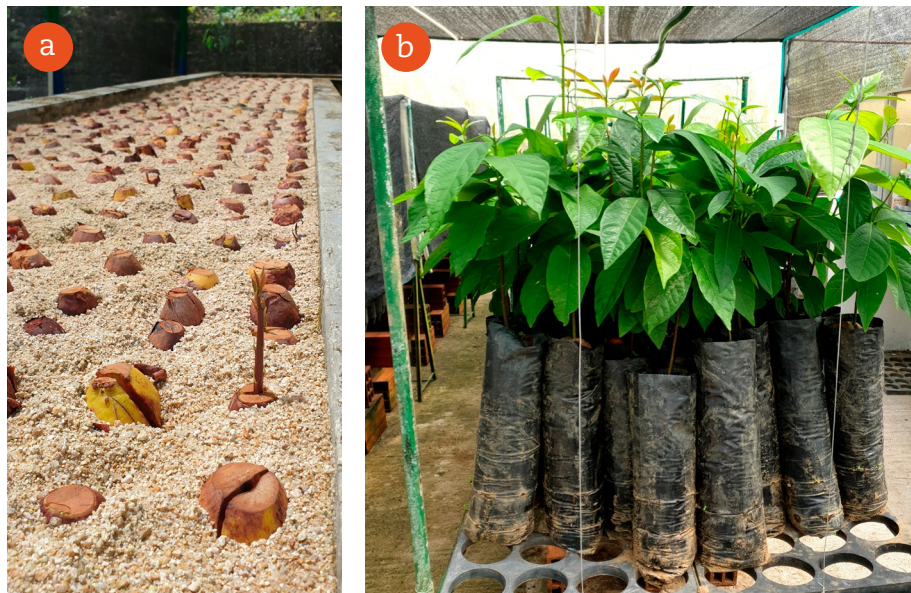


Figura 12. Producción de material vegetal de aguacate para pruebas de patogenicidad de *Lasiodiplodia* spp. a. Semillas de aguacate en germinador de arena de río; b. Plántulas de aguacate trasplantadas en bolsas individuales.

Fotos: Donald Adrián Galvis Neira

Inoculación y seguimiento de síntomas

Previo a la inoculación, se desinfecta la superficie del tallo de la plántula con etanol al 70 %. Luego, se realiza un corte de 5 mm en la epidermis (figura 13a) y se coloca un disco de 5 mm de micelio del aislamiento a evaluar (figuras 13b y 13c). El área inoculada se cubre con un algodón estéril humedecido con agua destilada autoclavada y se sella con cinta para evitar la desecación y contaminación (figuras 13d-13f).



Figura 13. Proceso de evaluación de la patogenicidad de aislamientos del género *Lasiodiplodia* en aguacate. a. Corte del tallo con bisturí; b. Corte de discos de micelio de 5 mm de diámetro; c. Disposición de disco de micelio en herida; d. Cubrimiento de la herida con cinta para injerto; e. Plantas inoculadas a nivel del cuello con aislamientos de raíz; f. Plantas inoculadas en el tallo con aislamientos foliares.

Fotos: Donald Adrián Galvis Neira

Las plántulas inoculadas se mantienen en condiciones de vivero y se monitorean semanalmente para detectar la aparición de síntomas. Un mes después de la inoculación, se realiza una evaluación detallada del material vegetal para observar los síntomas internos en el tejido del tallo. La capacidad patogénica de los aislamientos de *Lasiodiplodia* spp. se confirma por la presencia de necrosis en el tejido externo, que avanza en ambos sentidos desde el punto de inoculación (figura 14a), y por la presencia de necrosis interna, caracterizada por una coloración marrón rojiza en el tejido (figura 14b). En el caso de aislamientos no patogénicos, no se observa avance de la necrosis (figura 15).



Figura 14. Material vegetal de *Persea americana* L. inoculado con aislamiento del género *Lasiodiplodia*. a. Lesión necrótica en el tejido externo con avance bidireccional; b. Necrosis interna marrón rojiza en el tejido vascular.

Fotos: Donald Adrián Galvis Neira

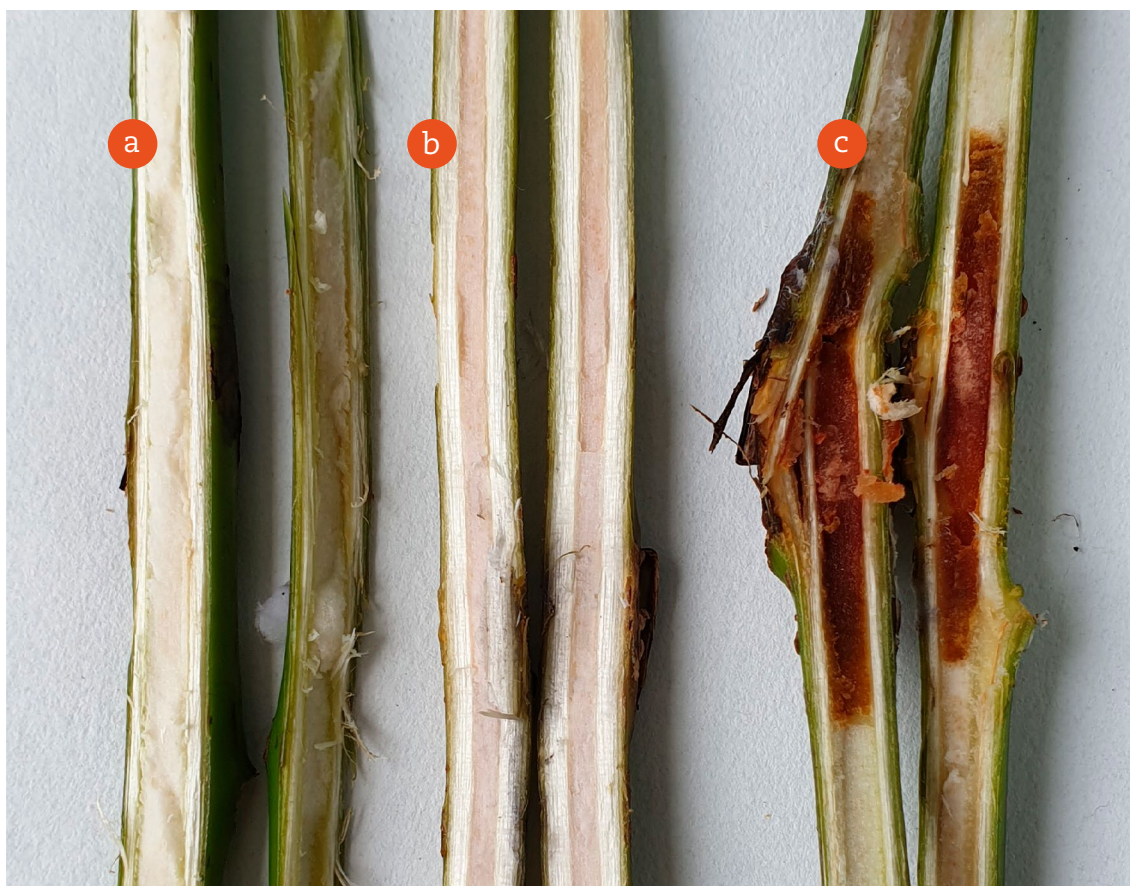


Figura 15. Material vegetal de *Persea americana* L. indexado un mes después de la inoculación. a. Sin síntomas (aislamiento no patógeno); b. Ligera tonalidad rosa (potencial patogénico); c. Necrosis interna marrón rojiza (potencial patogénico confirmado).

Fotos: Donald Adrián Galvis Neira

Finalmente, para verificar la identidad del agente causal de los síntomas observados en el material vegetal inoculado y cumplir con el cuarto paso de los postulados, se debe proceder a reaislar al microorganismo de acuerdo con el procedimiento descrito en el capítulo VI de este manual. Con esto, se da cumplimiento a los postulados de Koch previamente descritos.

Capítulo VI

Detección molecular de especies de *Lasiodiplodia*

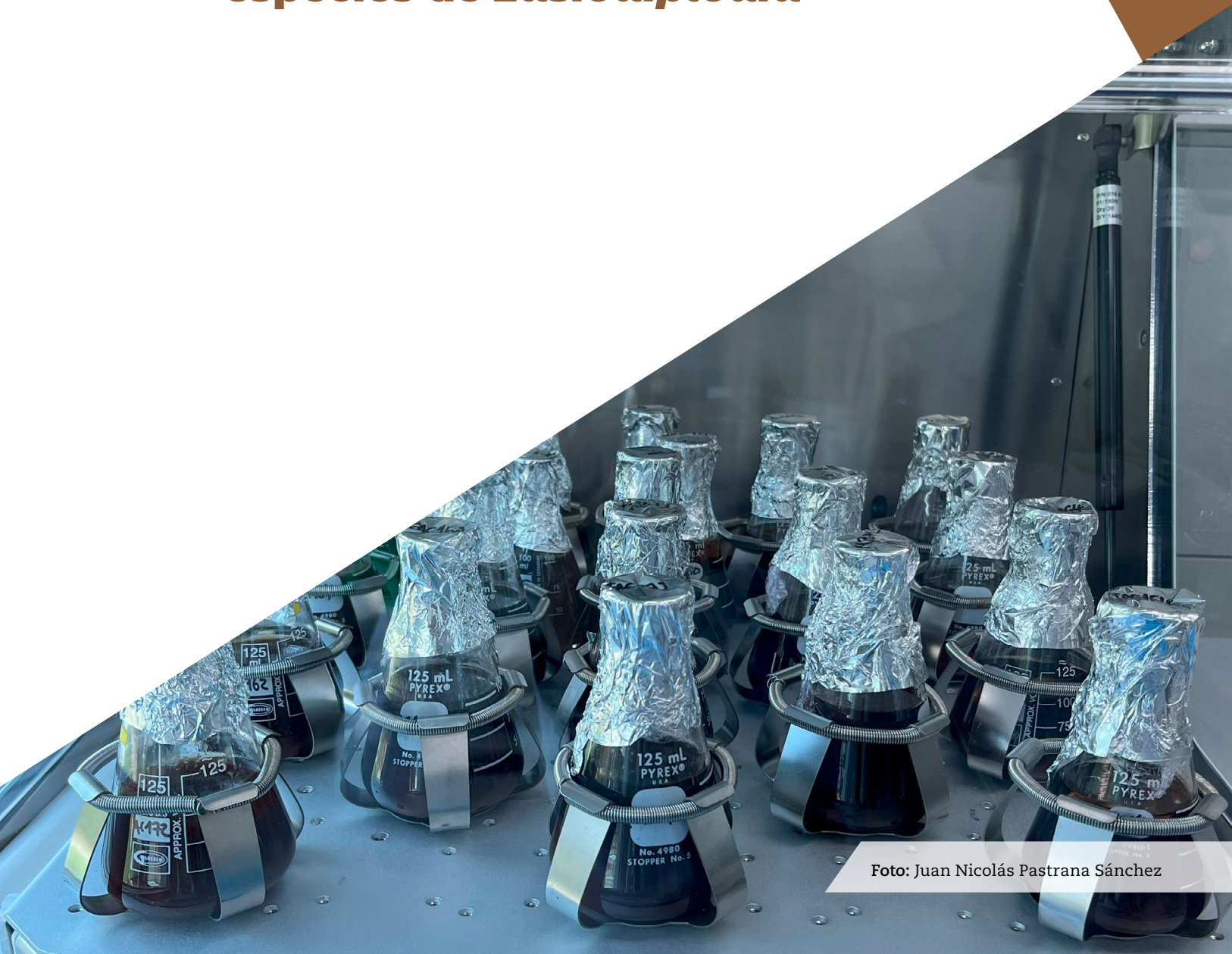


Foto: Juan Nicolás Pastrana Sánchez

La identificación precisa de aislamientos del género *Lasiodiplodia* a nivel de especie es crucial para comprender la epidemiología de la enfermedad y establecer estrategias de manejo efectivas en el cultivo de aguacate. Aunque la identificación morfológica puede ser útil como primer acercamiento a nivel de género, la identificación molecular mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha convertido en el método de referencia para definir especies dentro de *Lasiodiplodia*. Esto se debe a que la identificación morfológica puede ser imprecisa debido a la similitud de caracteres entre especies, como la forma y el tamaño de los conidios, que pueden variar según las condiciones ambientales y del sustrato de cultivo (Slippers et al., 2004). Por ello, desde 2004, la identificación molecular se ha vuelto indispensable para definir las especies de *Lasiodiplodia* y otros hongos de la familia Botryosphaeriaceae. La PCR ofrece ventajas significativas en comparación con los métodos morfológicos, como una detección más rápida y sensible, lo que permite identificar al patógeno incluso en etapas tempranas de la infección o en muestras con baja carga fúngica. Además, evita los procesos laboriosos y la necesidad de conocimientos taxonómicos especializados asociados a los métodos morfológicos.

A continuación, se describen tres regiones genómicas recomendadas para determinar la especie del género *Lasiodiplodia* mediante PCR convencional, con el uso de cebadores específicos:

1. **ITS:** región del espaciador transcrito interno del ADN ribosomal. Esta región es altamente variable entre especies y se ha utilizado ampliamente para identificar hongos fitopatógenos (White et al., 1990). Los cebadores ITS1 e ITS4 son los más utilizados para amplificar esta región.
2. **tef1- α :** factor de elongación 1-alfa. Este gen codifica para una proteína esencial en el proceso de traducción y presenta una alta tasa de evolución, aspecto que lo convierte en un marcador útil para diferenciar especies (Carbone & Kohn, 1999). Los cebadores EF1-728F y EF1-986R se utilizan a menudo para amplificar una porción de este gen.
3. **tub2:** región β -tubulina: Este gen codifica para una proteína estructural importante en los hongos y también muestra una variabilidad adecuada para identificar a nivel de especie (Glass & Donaldson, 1995). Los cebadores Bt2a y Bt2b son los más utilizados para amplificar esta región.

En el contexto de la identificación de especies de *Lasiodiplodia*, la región del espaciador transcrito interno (ITS) del ADN ribosomal ha sido ampliamente utilizada como marcador molecular debido a su alta variabilidad interespecífica (White et al., 1990). Sin embargo, la identificación basada únicamente en la región ITS puede subestimar la diversidad de especies, especialmente entre aquellas cercanamente relacionadas o crípticas (Hyde et al., 2014). Por lo tanto, para una identificación precisa y confiable de *Lasiodiplodia* spp. y otros hongos de la familia Botryosphaeriaceae, se recomienda emplear un enfoque multilocus, utilizando datos genéticos de múltiples regiones. Este enfoque incluye la amplificación y secuenciación de la región ITS, junto con otras regiones como el factor de elongación 1-alfa (*tef1-α*) y la región β-tubulina (*tub2*) (Hyde et al., 2014).

La combinación de estos tres marcadores moleculares permite una identificación precisa y confiable de las especies de *Lasiodiplodia* presentes en las muestras de aguacate. Esto proporciona información valiosa para el desarrollo de estrategias de manejo fitosanitario específicas de cada especie, lo que mejora la eficacia del control de la enfermedad.

Obtención de biomasa

Para la identificación molecular de *Lasiodiplodia* spp., el primer paso es obtener suficiente biomasa del hongo. Esto se logra a partir de cultivos puros previamente crecidos en cajas de petri con agar papa dextrosa (PDA) (figura 8b). Se toman discos de 5 mm de diámetro (*plugs*) del micelio en crecimiento activo y se transfieren a tubos Falcon de 50 mL con 25 mL de caldo V8. Los tubos se incuban en un agitador a 26 °C y 100 rpm durante tres días para promover el crecimiento del micelio. Transcurrido el tiempo de incubación, se filtra el contenido de los tubos con papel filtro para separar el micelio (biomasa) del caldo de cultivo. La biomasa obtenida se usa en las siguientes etapas del proceso de identificación molecular, que incluyen la extracción y amplificación de fragmentos específicos de ADN.

Extracción de ADN

El ADN se extrae de la biomasa fúngica mediante el método estándar de extracción con CTAB al 3 % (bromuro de cetiltrimetilamonio), un detergente catiónico que ayuda a romper las células y separar el ADN de otros componentes celulares (Doyle & Doyle, 1987). Este método implica la lisis celular y la precipitación del ADN, seguidas de una purificación para eliminar inhibidores de la PCR, como polisacáridos y polifenoles.

Consideraciones de seguridad

- Realice el procedimiento en una cabina de extracción de gases: el fenol y el cloroformo son sustancias tóxicas y volátiles. Trabajar en la cabina minimiza la exposición a estos químicos.
- Utilice equipo de protección personal (EPP): use guantes, bata de laboratorio y gafas de seguridad para protegerse de los productos químicos y posibles salpicaduras.
- Deseche los residuos adecuadamente: deseche las puntas de pipeta y los tubos de microcentrífuga contaminados con fenol y cloroformo en contenedores específicos para residuos peligrosos.

Materiales y reactivos

Para la extracción de ADN se requieren los siguientes materiales y reactivos: mortero y pistilo, tubos de microcentrífuga de 1,5 y 2,0 mL, micropipetas y puntas, vórtex, centrífuga refrigerada, baño maría a 37 °C, congelador a -20 °C, espectrofotómetro (NanoDrop), transiluminador UV y equipo de electroforesis en gel de agarosa.

Los reactivos necesarios son los siguientes: búfer CTAB al 3 % (3,63 g de Tris-HCl; 1,11 g de EDTA disódico; 8,18 g de NaCl, y 3 g de CTAB disueltos en 80 mL de agua destilada; ajustar pH a 8.0 con HCl y llevar a 100 mL con agua destilada), proteinasa K (20 mg/mL), 2-β-mercaptoetanol, fenol-cloroformo (1:1), RNasa A (10 mg/mL), cloroformo, acetato de amonio (7,5 M), etanol frío al 70 % (-20 °C) y agua ultrapura tipo I.

Procedimiento

Preparación de la mezcla de extracción: calcular el volumen total de búfer CTAB necesario para todas las muestras (845 μ L búfer CTAB 3 % + 40 μ L de proteinasa K y 15 μ L de 2- β -mercaptoetanol por muestra). El búfer CTAB 3 % contiene Tris-HCl para mantener el pH, EDTA para quelar iones metálicos que degradan el ADN, y NaCl para neutralizar cargas negativas del ADN. La proteinasa K ayuda a degradar proteínas y el 2- β -mercaptoetanol contribuye a inhibir enzimas que degradan el ADN.

- 1. Maceración:** macerar aproximadamente 50 mg de biomasa fúngica en 500 μ L de mezcla de extracción en un mortero hasta obtener una combinación homogénea. Este paso tiene como objetivo romper las paredes celulares y liberar el contenido celular, incluido el ADN.
- 2. Lisis e incubación:** recuperar la mezcla de búfer de extracción y tejido macerado en un tubo de microcentrífuga de 2,0 mL. Agregar 500 μ L adicionales de búfer de extracción e incubar a 65 °C durante una hora. La incubación a alta temperatura favorece la acción de la proteinasa K y la ruptura de las células, liberando el ADN.
- 3. Extracción:** agitar el tubo en vórtex por un minuto para homogeneizar la mezcla. Añadir 500 μ L de fenol-cloroformo (1:1), una mezcla de solventes orgánicos que separa el ADN de otros componentes celulares. Mezclar por inversión durante 15 minutos y centrifugar a 12.000 rpm por 20 minutos. La centrifugación separa la mezcla en dos fases: una acuosa superior que contiene el ADN y otra orgánica inferior que contiene proteínas y lípidos.
- 4. Tratamiento con RNasa:** transferir 750 μ L del sobrenadante (fase acuosa) a un nuevo tubo de 2,0 mL, añadir 5 μ L de RNasa (para degradar el ARN presente en la muestra) e incubar a 37 °C por 15 minutos.
- 5. Purificación y precipitación:** añadir 750 μ L de cloroformo (para eliminar residuos de fenol), agitar por inversión durante 15 minutos y centrifugar a 12.000 rpm por 15 minutos. Transferir el sobrenadante a un tubo de 1,5 mL, añadir 250 μ L de acetato de amonio (para neutralizar cargas del ADN) y 500 μ L de etanol frío al 70 % (para precipitar el ADN). Incubar a -20 °C durante toda la noche para favorecer la precipitación.

6. **Lavado:** centrifugar a 12.000 rpm por 30 minutos para formar un pélet de ADN. Descartar el sobrenadante y lavar el pélet con 300 μ L de etanol frío al 70 % (para eliminar sales y otros contaminantes). Centrifugar nuevamente a 12.000 rpm por 5 minutos.
7. **Resuspensión:** descartar el sobrenadante, secar el pélet al aire (para eliminar residuos de etanol) y resuspenderlo en 50 μ L de agua ultra-pura tipo I (para disolver el ADN).
8. **Almacenamiento:** almacenar el ADN extraído a -20 °C para su uso posterior en PCR.

Para asegurar que la calidad y cantidad del ADN extraído sean adecuadas para la PCR, se cuantifica y evalúa con un espectrofotómetro. La concentración de ADN se determina al medir la absorbancia a 260 nm, mientras que la pureza se estima mediante las relaciones de absorbancia 260/280 y 260/230. Una relación 260/280 de 1,8-2,0 indica ADN de alta pureza, libre de contaminación por proteínas, mientras que una relación 260/230 de 2,0-2,2 sugiere baja contaminación por sales y carbohidratos. Además de la cuantificación espectrofotométrica, la calidad del ADN extraído se puede verificar mediante electroforesis en gel de agarosa. Esta técnica permite visualizar el ADN como una banda discreta, y la integridad del ADN se puede evaluar al observar la nitidez y la ausencia de manchas difusas en el gel. Un ADN de alta calidad mostrará una banda nítida y bien definida, mientras que un ADN degradado aparecerá como una mancha difusa o fragmentada.

Amplificación de ADN por PCR

La PCR es una técnica esencial en biología molecular que permite la amplificación exponencial de secuencias específicas de ADN. Este proceso, ampliamente utilizado en el diagnóstico de enfermedades vegetales, requiere de varios componentes clave: ADN molde (el ADN extraído del organismo de interés, en este caso *Lasiodiplodia* spp. aislado de muestras de aguacate), cebadores (oligonucleótidos de ADN de cadena simple que se unen a las secuencias complementarias del ADN molde, lo que delimita la región específica a amplificar), Taq polimerasa (enzima termoestable responsable de la síntesis de nuevas cadenas de ADN a partir de los cebadores), dNTP (desoxinucleótidos trifosfato, las unidades básicas que se incorporan a la nueva cadena de ADN durante

la síntesis), búfer de reacción (solución que proporciona el ambiente químico adecuado para la actividad de la Taq polimerasa, incluida la concentración óptima de Mg^{2+} , un cofactor esencial para la enzima) y, en algunos casos, coadyuvantes (sustancias como DMSO o BSA que pueden mejorar la especificidad y eficiencia de la reacción).

Para identificar las especies del género *Lasiodiplodia*, se utilizan cebadores específicos para las regiones ITS, *tef1- α* y *tub2* (Alves et al., 2008; Carbone & Kohn, 1999; Glass & Donaldson, 1995; White et al., 1990). El proceso de PCR consta de ciclos repetidos de tres etapas: 1) desnaturalización (el ADN molde se calienta a alta temperatura para separar las dos hebras), 2) hibridación (la temperatura se reduce para permitir que los cebadores se unan a las secuencias complementarias del ADN molde) y 3) extensión (la temperatura se eleva a 72 °C, óptima para la actividad de la Taq polimerasa, que extiende los cebadores y sintetiza nuevas cadenas de ADN complementarias a las hebras molde). La repetición de estos ciclos (25-35 veces) amplifica exponencialmente la región de ADN objetivo, y esto genera millones de copias que pueden ser visualizadas y analizadas mediante electroforesis en gel de agarosa. Para identificar especies del género *Lasiodiplodia*, la amplificación y secuenciación de las regiones ITS, *tef1- α* y *tub2* permite comparar las secuencias obtenidas con bases de datos de referencia, como GenBank, para determinar la especie del hongo presente en la muestra (Slippers et al., 2004). Esta información es fundamental para comprender la diversidad y distribución de las especies de *Lasiodiplodia* asociadas al cultivo de aguacate, así como para desarrollar estrategias de manejo específicas y efectivas.

Para la amplificación por PCR de estas regiones en *Lasiodiplodia* spp., se utilizan los siguientes cebadores: ITS1 e ITS4 (White et al., 1990) para la región ITS; EF1-688F y EF1-1251R (Alves et al., 2008) para la región factor de elongación (*tef1- α*), y Bt2a y Bt2b (Glass & Donaldson, 1995) para la región β -tubulina (ver tabla 2 para las secuencias completas de los cebadores). La combinación de estos marcadores moleculares permite una caracterización más completa y robusta de las especies de *Lasiodiplodia*, lo que facilita su delimitación y contribuye al desarrollo de estrategias de manejo más efectivas para el control de la enfermedad en el cultivo de aguacate.

Tabla 2. Cebadores utilizados para la amplificación de regiones de ADN a través de PCR para identificar especies del género *Lasiodiplodia*

Cebador	Sentido	Secuencia (5'-3')	Referencia
ITS-1	Forward	TCCGTAGGTGAACCTGCCG	White et al. (1990)
ITS-4	Reverse	TCCTCCGCTTATTGATATGC	White et al. (1990)
Bt2a	Forward	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC	Glass & Donaldson (1995)
Bt2b	Reverse	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC	Glass & Donaldson (1995)
EF1-688F	Forward	CGGTCACTTGATCTACAAGTGC	Alves et al. (2008)
EF1-1251R	Reverse	CCTCGAACTCACCAGTACCG	Alves et al. (2008)

Fuente: Elaboración propia

Consideraciones de seguridad y prevención de contaminación cruzada

- Realice todas las etapas de la PCR en un área designada y limpia, idealmente una sala dedicada a PCR.
- Utilice guantes limpios y cámbielos entre cada muestra para evitar la contaminación cruzada.
- Utilice puntas de pipeta con filtro para evitar la contaminación por aerosoles.
- Prepare las mezclas de reacción en una campana de flujo laminar o en un área limpia designada para PCR.
- Descontamine las superficies de trabajo y los equipos con una solución de etanol al 70 % o hipoclorito de sodio al 10 % antes y después de cada uso.

Preparación de reactivos y muestras para la PCR

- Agitar con vórtex y centrifugar brevemente tubos de cebadores, búfer, $MgCl_2$ y dNTP antes de usarlos.
- No agitar la Taq polimerasa con vórtex y mantenerla siempre en hielo.

- Mezclar el ADN genómico antes de usarlo, mediante suaves golpes al tubo con el dedo.
- Calentar y mezclar los cebadores con vórtex antes de usarlos para evitar la formación de dímeros de cebadores.

Procedimiento

- 1. Preparación de la mezcla maestra:** para cada región génica (ITS, tef1- α y tub2), prepare una mezcla maestra que contenga todos los reactivos excepto el ADN molde. Calcule el volumen necesario de cada reactivo para el número total de muestras más un control negativo (sin ADN).
- 2. Preparación de los tubos de PCR:** en tubos de PCR de 0,2 mL, coloque 24 μ L de la mezcla maestra correspondiente a la región génica a amplificar.
- 3. Adición del ADN molde:** añada 1 μ L de ADN genómico a cada tubo. En el tubo de control negativo, añada 1 μ L de agua ultrapura tipo I. Mezcle suavemente por pipeteo.
- 4. Amplificación por PCR:** coloque los tubos de PCR en el termociclador y ejecute el programa de temperaturas y tiempos específicos para cada región génica (tabla 3).
- 5. Verificación del éxito de la PCR:** tome una alícuota de 4 μ L de cada producto de PCR y analícela mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,0 o 1,2 % (p/v), utilizando TBE 1X como búfer de electroforesis y teñido con GelRed. Visualice los fragmentos de ADN amplificados en un transiluminador UV. Para los tres genes (ITS, tef1- α y tub2), los fragmentos amplificados deben tener un tamaño aproximado de 500 a 600 pares de bases (figura 16).

Tabla 3. Condiciones para la amplificación de los tres genes (ITS, tub2 y tef1- α) para la identificación de *Lasiodiplodia* spp.

Pasos	ITS		tub2		tef1- α	
	Temp.	Tiempo	Temp.	Tiempo	Temp.	Tiempo
Desnaturalización inicial	95 °C	2 min	94 °C	5 min	94 °C	4 min
	95 °C	1 min	95 °C	50 s	94 °C	30 min
35 ciclos/Tm	55 °C	45 s	55 °C	50 s	55 °C	30 s
	72 °C	1,30 min	72 °C	50 s	72 °C	45 s
Extensión final	72 °C	5 min	72 °C	10 min	72 °C	5 min

Fuente: Elaboración propia



Figura 16. Amplificación de los genes visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,2 %. a. ITS; b. tef1- α ; c. tub2.
Nota: El carril 1 corresponde al marcador de peso molecular de 100 pb.
Los demás carriles corresponden a diferentes muestras de ADN.
C-: control negativo.

Fotos: Elizabeth Quintero Rueda

Adicionalmente, la secuenciación Sanger de los productos de PCR permite la identificación a nivel de especie mediante la comparación de las secuencias resultantes de las diferentes regiones del genoma, ITS, tef1- α y tub2, con secuencias de referencia en bases de datos como GenBank (National Center for Biotechnology Information [NCBI], 2022). Esto permite la identificación precisa de especies del género *Lasiodiplodia*.

Análisis de datos e identificación de especies

Tras la amplificación por PCR de las regiones ITS, *tef1- α* y *tub2*, los productos obtenidos son secuenciados mediante el método Sanger, que produce secuencias de nucleótidos a partir de los fragmentos amplificados. Estas secuencias, tanto en sentido *forward* como en *reverse*, se visualizan y editan en programas como Sequencher o Chromas, para generar secuencias consenso de alta calidad, eliminar posibles errores de secuenciación y generar una secuencia representativa para cada muestra (Sanger et al., 1977).

La identificación de las especies de *Lasiodiplodia* se basa en la comparación de estas secuencias consenso con secuencias de referencia depositadas en bases de datos públicas, como GenBank (NCBI, 2022). La herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) es útil en este proceso, ya que permite encontrar las secuencias más similares a la secuencia problema en las bases de datos públicas como GenBank (Altschul et al., 1990). Un valor de *e-value* bajo (negativo o cercano a cero) sugiere una alta similitud y, por lo tanto, respalda la identificación de la especie problema. Sin embargo, la identificación basada únicamente en BLAST puede ser insuficiente en algunos casos, sobre todo en especies cercanamente relacionadas o en complejos de especies crípticas, donde las diferencias genéticas pueden ser mínimas (Hyde et al., 2014). Además, la calidad y representatividad de las secuencias depositadas en las bases de datos pueden variar, lo que puede llevar a identificaciones erróneas. Por lo tanto, se recomienda complementar el análisis BLAST con uno filogenético, para determinar las relaciones evolutivas entre las especies de *Lasiodiplodia* y la posición de las muestras problema dentro del género. Para ello, se alinean las secuencias obtenidas con secuencias de referencia de otras especies, utilizando algoritmos como ClustalW o Muscle (Edgar, 2004; Thompson et al., 1994), y se construye un árbol filogenético.

Existen diferentes métodos para construir árboles filogenéticos, cada uno con sus propias ventajas y desventajas, los cuales se describen a continuación.

Métodos de construcción de árboles filogenéticos

Máxima verosimilitud (ML): busca el árbol que maximiza la probabilidad de observar los datos de secuencia, dado un modelo evolutivo específico. Programas como RAxML y IQ-Tree son ampliamente usados para implementar este método (Nguyen et al., 2015; Stamatakis, 2014).

Inferencia bayesiana (BI): estima la probabilidad posterior de diferentes árboles filogenéticos, según datos de secuencia y modelo evolutivo previo. Programas como MrBayes y Beast son populares para realizar análisis bayesianos (Huelsenbeck & Ronquist, 2001; Suchard et al., 2018).

Máxima parsimonia (MP): busca el árbol que requiere el menor número de cambios evolutivos para explicar los datos de secuencia. Aunque es conceptualmente simple, puede ser computacionalmente intensivo para grandes conjuntos de datos.

Métodos de distancia: calculan distancias evolutivas entre las secuencias y construyen el árbol con base en estas distancias. Son métodos más rápidos y sencillos que ML y BI, pero pueden ser menos precisos en algunas situaciones.

Métodos coalescentes: modelan la historia evolutiva de cada gen individualmente, al incorporar procesos como la coalescencia, que describe la fusión de linajes genéticos hacia ancestros comunes a medida que se retrocede en el tiempo. Posteriormente, integran la información de los diferentes genes para inferir el árbol filogenético de las especies. Aunque más complejo, este enfoque permite considerar historias evolutivas distintas para cada gen, al proporcionar una estimación más precisa de las relaciones entre especies, especialmente en casos de introgresión (movimiento de genes entre especies) o transferencia horizontal de genes (Ogilvie et al., 2017). El programa StarBEAST2 es una herramienta que implementa este enfoque en la reconstrucción filogenética (Ogilvie et al., 2017).

Resultado del análisis filogenético

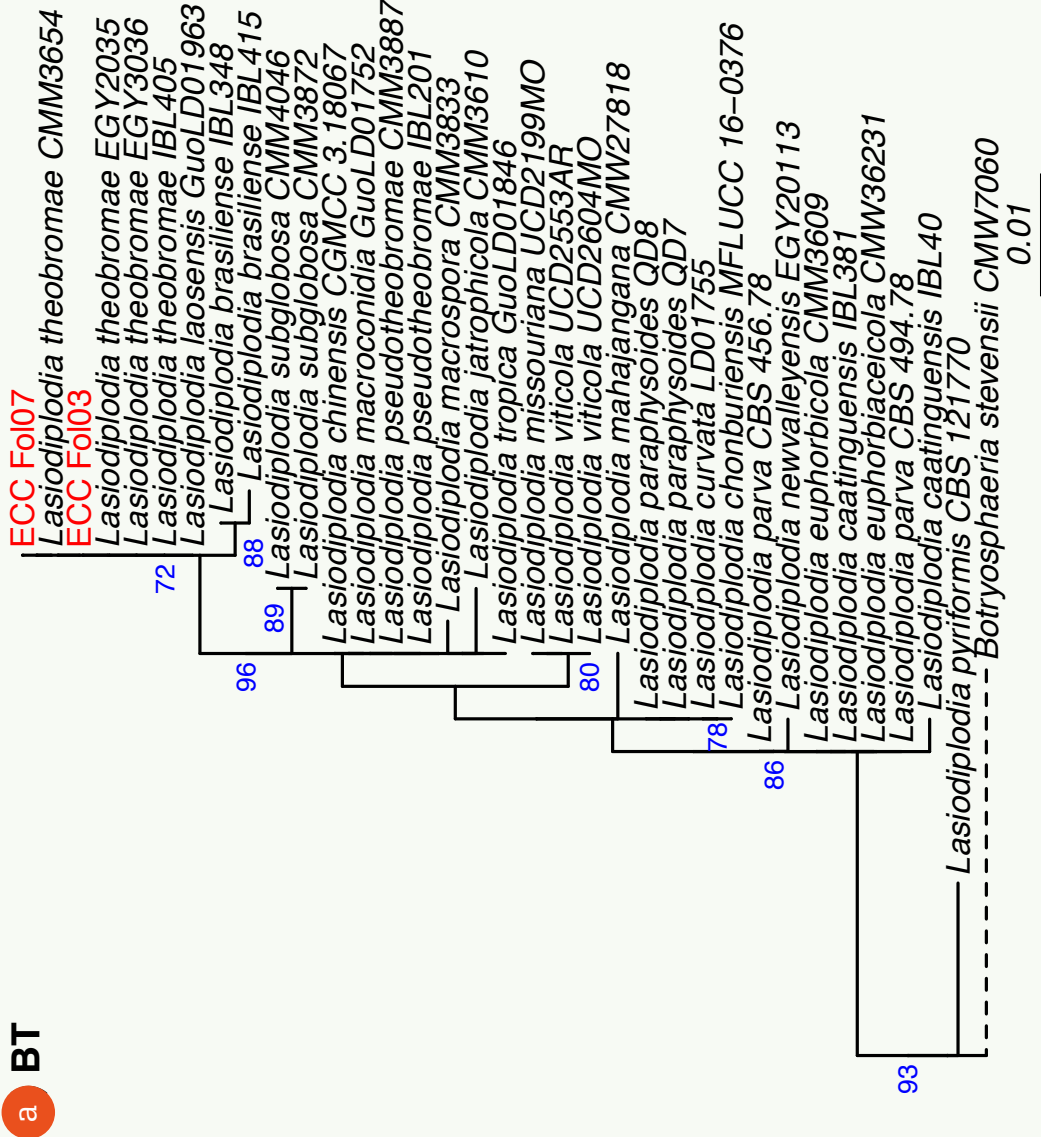
Se evaluó la resolución filogenética de tres regiones de ADN (ITS, *tef1- α* y *tub2*) para identificar especies de *Lasiodiplodia* asociadas a la muerte descendente del aguacate en El Carmen de Chucurí (ECC), Santander. Las secuencias obtenidas se alinearon con secuencias homólogas de GenBank utilizando Muscle (Edgar, 2004) y se curaron con Gblocks (Castresana, 2000). Se realizaron análisis filogenéticos individuales para cada gen y un análisis que concatena las tres regiones con el paquete *concatipede* en R (<https://tardipede.github.io/concatipede/>). La reconstrucción filogenética se realizó mediante máxima verosimilitud en IQ-Tree (Nguyen et al., 2015) con 1.000 réplicas de Bootstrap. Los árboles se visualizaron con ggtree en R (Yu et al., 2017).

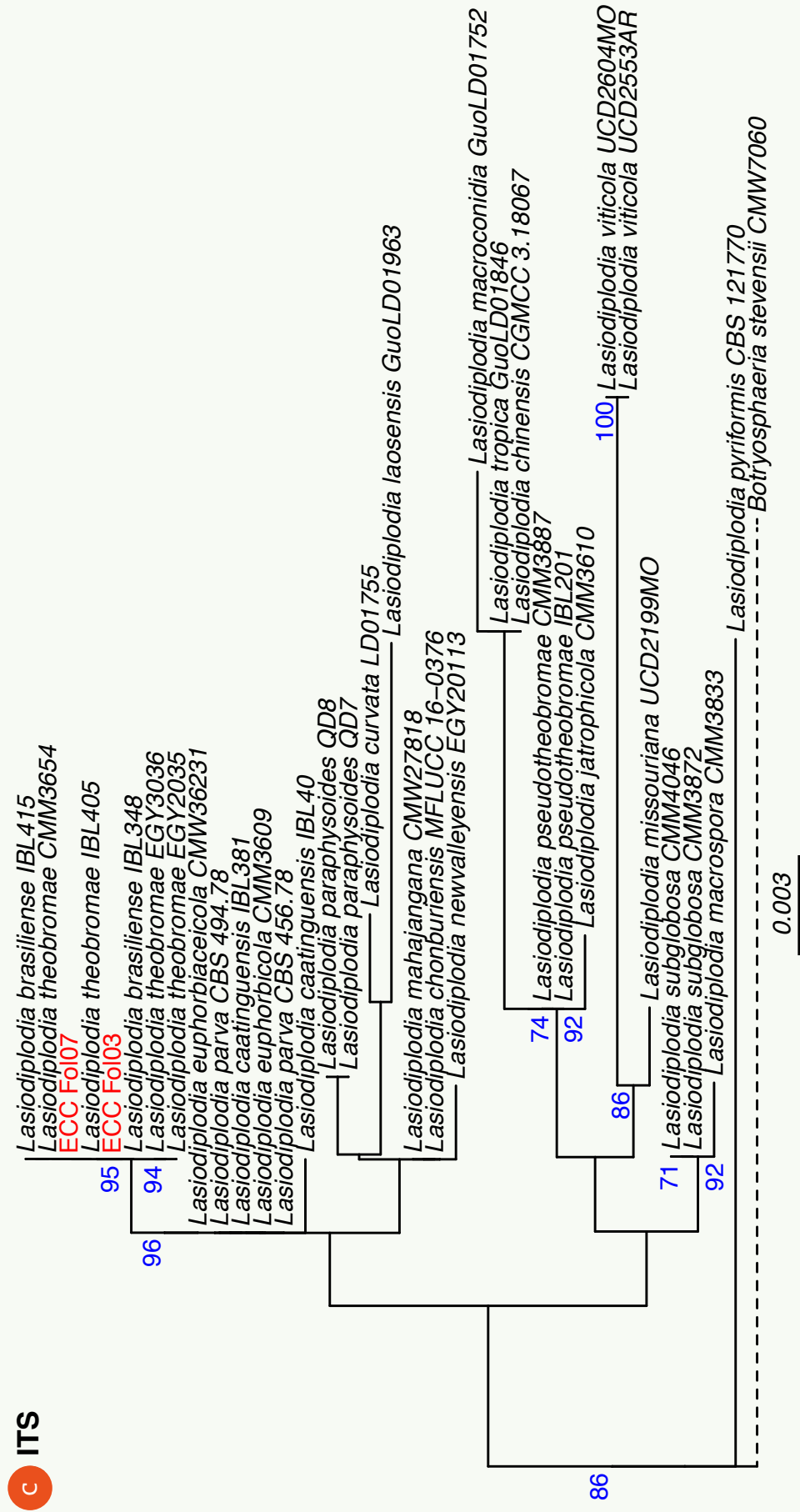
Los análisis filogenéticos individuales mostraron incongruencias en la identificación de los aislados ECC y una falta de identificación de clados monofiléticos en algunos grupos de especies, lo que evidencia la necesidad de un enfoque multilocus (varios genes) para la delimitación precisa de especies de *Lasiodiplodia* (figura 16). En el árbol basado en la región *tub2* (figura 17a), ambos aislados ECC se agruparon en un clado polifilético con *L. theobromae*, *L. laoensis* y *L. brasiliensis*, con un soporte de 72 %. En el árbol basado en la región *tef1- α* (figura 17b), el aislado ECC Fol07 se agrupó con *L. brasiliensis* y *L. viticola* con un soporte de 98 %, mientras que ECC Fol03 se agrupó con *L. theobromae* con un soporte menor de 70 %. Finalmente, en el árbol basado en la región ITS (figura 17c), ambos aislados se agruparon con *L. brasiliensis* y *L. theobromae* con un soporte de 96 %. Estos resultados indican que la identificación de especies de *Lasiodiplodia* basada en un solo gen puede ser ambigua debido a la falta de resolución y a la presencia de grupos parafiléticos.

Figura 17. Árboles filogenéticos individuales de *Lasiodiplodia* spp. basados en las regiones génicas. a. ITS; b. *tef1-α*; c. *tub2*.

Nota: Los números en los nodos representan los valores de Bootstrap (solo se muestran valores por encima de 70). La línea punteada indica que el tamaño de la rama es mucho mayor debido a la gran distancia genética y se acortó manualmente para facilitar la visualización.

Fuente: Elaboración propia





El análisis concatenado con los tres genes (ITS, tef1- α , y tub2) (figura 18) incrementó la resolución filogenética, y permitió una identificación más precisa de los aislados ECC. En este análisis, ECC Fol03 se agrupó con *L. theobromae* con un soporte de 99 %, mientras que ECC Fol07 se agrupó con *L. brasiliensis* con un soporte de 95 %. Este enfoque multi-locus permite una mejor delimitación de las especies al combinar la información de múltiples genes y minimizar las incongruencias observadas en los análisis individuales.

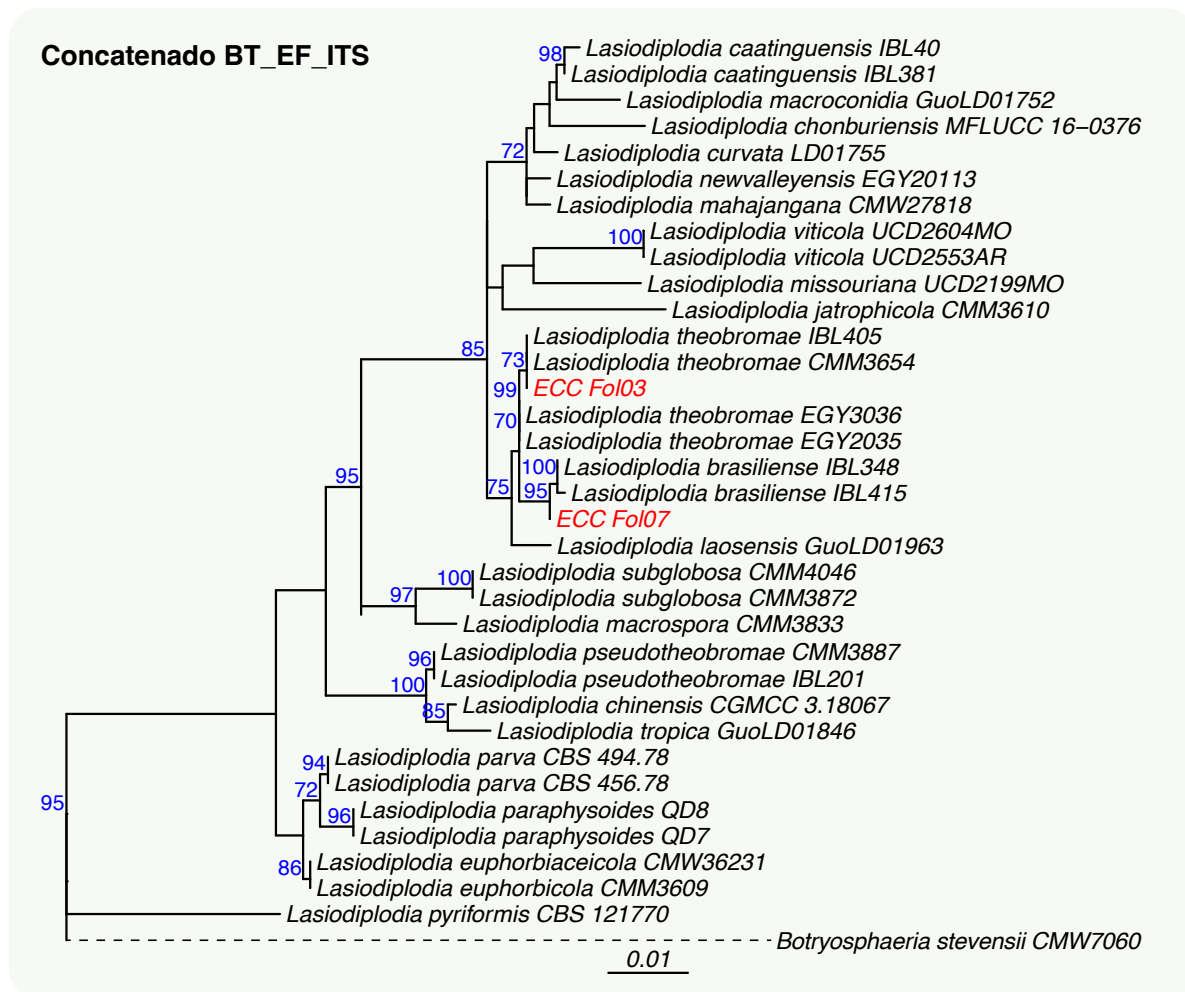


Figura 18. Árbol filogenético concatenado de las regiones ITS, tef1- α y tub2 que muestra las relaciones filogenéticas entre especies de *Lasiodiplodia* asociadas a la muerte descendente del aguacate.

Nota: Los números en los nodos representan los valores de Bootstrap (solo se muestran valores por encima de 70). La línea punteada indica que el tamaño de la rama es mucho mayor debido a la gran distancia genética y se acortó manualmente para facilitar la visualización.

Fuente: Elaboración propia



Foto: Claudia M. Holguín

Capítulo VII

Caracterización integral de especies de *Lasiodiplodia*



Foto: Claudia M. Holguín

El análisis filogenético, basado en la comparación de secuencias de ADN, se ha consolidado como una herramienta indispensable en la identificación y clasificación de especies de *Lasiodiplodia*, un hongo fitopatógeno con un amplio rango de hospederos y una notable diversidad genética. La identificación precisa de las especies de *Lasiodiplodia* es crucial debido a su impacto económico en cultivos de importancia agrícola (como el aguacate), donde ciertas especies pueden causar enfermedades devastadoras como la pudrición de la fruta y la muerte regresiva de ramas.

La identificación morfológica tradicional de *Lasiodiplodia* spp. a menudo se ve obstaculizada por la plasticidad fenotípica y la convergencia evolutiva de caracteres, lo que lleva a ambigüedad y errores de identificación. El análisis filogenético molecular, por otro lado, proporciona una base objetiva y robusta para delimitar especies, lo que revela relaciones evolutivas precisas y permite identificar especies crípticas (Hyde et al., 2014).

El análisis filogenético no solo permite la identificación precisa de especies, sino que también proporciona información valiosa sobre la diversidad genética, la distribución geográfica y la historia evolutiva de especies del género *Lasiodiplodia* (Mehl et al., 2017). Esta información es fundamental para comprender la epidemiología de las enfermedades causadas por este hongo, incluidas las rutas de dispersión, los mecanismos de adaptación a diferentes hospederos y ambientes, y la evolución de la patogenicidad (Slippers et al., 2004).

La inferencia filogenética de especies de *Lasiodiplodia* puede realizarse con uno o varios genes. Aunque el marcador ITS (región del espaciador

transcrito interno del ADN ribosomal) ha sido ampliamente utilizado para la identificación de hongos, incluido *Lasiodiplodia* spp., estudios recientes han demostrado que el uso de múltiples genes, como ITS, tef1- α (factor de elongación de la traducción 1- α) y tub2 (β -tubulina), mejora significativamente la resolución filogenética y la precisión en la reconstrucción de las relaciones evolutivas (Quaedvlieg et al., 2013). La combinación de múltiples genes, cada uno con diferentes tasas de evolución y presiones selectivas, proporciona una visión más completa y precisa de la filogenia de especies de *Lasiodiplodia*. Adicionalmente, la caracterización de la patogenicidad y la morfología de los aislamientos de *Lasiodiplodia* spp. complementa el análisis filogenético y proporciona información adicional para identificar y diferenciar especies. Los ensayos de patogenicidad, basados en los postulados de Koch, permiten evaluar la capacidad de un aislamiento para causar enfermedad en un hospedero específico, mientras que la descripción morfológica de las colonias, conidióforos y conidios puede revelar características distintivas entre algunas especies (Phillips et al., 2013).

La integración de datos moleculares, morfológicos y de patogenicidad permite una identificación completa y precisa de las especies de *Lasiodiplodia*. La comprensión integral de la diversidad, distribución e impacto de este hongo es esencial para el desarrollo de estrategias efectivas de manejo integrado de enfermedades, incluida la selección de variedades resistentes, la implementación de prácticas culturales adecuadas y el uso racional de fungicidas.



Conclusiones y recomendaciones

La muerte descendente del aguacate, causada por especies de *Lasiodiplodia*, es una enfermedad que afecta la producción de este cultivo en Santander. Este manual proporciona información actualizada sobre la enfermedad, incluidos la sintomatología, el aislamiento del patógeno y su identificación molecular. Se ha resaltado la importancia del diagnóstico preciso del agente causal para el manejo efectivo de la enfermedad.

El manual describe el proceso de aislamiento de *Lasiodiplodia* spp. a partir de tejido vegetal de aguacate, con la colecta de muestras, el proceso de aislamiento y la descripción macro- y microscópica del hongo. También se detalla el procedimiento para la prueba de patogenicidad, que permite confirmar la capacidad de los aislamientos de causar la enfermedad. Se describe la técnica de PCR para la identificación molecular de *Lasiodiplodia* spp., incluidas la extracción de ADN, la amplificación de tres regiones génicas (ITS, *tef1-α* y *tub2*) y el análisis de secuencias. En este contexto, se destaca la importancia de utilizar un enfoque multilocus para la identificación precisa de las especies, ya que el análisis de un solo gen puede ser ambiguo.

Con base en la información presentada, se identificaron las especies *L. theobromae* y *L. brasiliensis* como los agentes causales de la enfermedad de la muerte regresiva o descendente de aguacate en aguacates





criollos en los municipios El Carmen de Chucurí y Simacota de Santander. Es importante determinar la prevalencia de dichos patógenos en estos y otros municipios productores de aguacate en Santander y Colombia, así como determinar los aislamientos de estas especies más virulentos y posibles vectores asociados como escarabajos ambrosiales, con el fin de prevenir su dispersión y desarrollar estrategias de manejo más eficientes.

Se recomienda a los productores de aguacate estar atentos a los síntomas de la enfermedad y tomar medidas preventivas para evitar su propagación. En caso de sospecha de la patología, se debe consultar a un profesional fitosanitario para un diagnóstico preciso e implementar estrategias de manejo adecuadas.

Finalmente, se recomienda la difusión de este manual entre técnicos y científicos de aguacate para promover el conocimiento y la prevención de la enfermedad. Es importante continuar con la investigación sobre la muerte descendente del aguacate para desarrollar estrategias de manejo más efectivas, así como promover la capacitación de productores y técnicos en el reconocimiento y manejo de la patología. También es fundamental establecer un sistema de vigilancia fitosanitaria para monitorear su presencia y distribución en las zonas productoras de aguacate.



Glosario

- ADN:** ácido desoxirribonucleico, un ácido nucleico que contiene la información genética de un organismo vivo.
- Cáncer:** lesión necrótica hundida en la corteza de ramas o tronco, a menudo asociada con la exudación de sustancias.
- Chancro:** lesión necrótica en la corteza de ramas o tronco, caracterizada por agrietamiento y decoloración.
- Clorosis:** amarillamiento de las hojas debido a la falta de clorofila, un pigmento esencial para la fotosíntesis.
- Conidióforo:** estructura microscópica especializada que produce y sostiene conidios (esporas asexuales).
- Conidio:** espora asexual producida por hongos, que sirve para su reproducción y dispersión.
- Cultivo axénico:** cultivo puro de un solo organismo (hongo, bacteria, etc.), sin la presencia de otros microorganismos contaminantes.
- Defoliación:** caída prematura de las hojas de una planta, a menudo como síntoma de enfermedad o estrés.
- Endófito:** microorganismo que vive dentro de los tejidos de una planta sin causarle daño aparente, e incluso puede establecer una relación mutualista con la planta.
- Especies crípticas:** especies morfológicamente similares que solo pueden ser separadas con análisis de secuencias de ADN.
- Exudado:** sustancia líquida que rezuma de una planta a través de heridas o lenticelas, pudiendo ser savia, resina, látex u otras secreciones.
- Fitopatógeno:** microorganismo (hongo, bacteria, virus, etc.) que causa enfermedad en las plantas.
- Friable:** textura de un tejido vegetal que se desmenuza fácilmente al tacto, a menudo asociada con descomposición o enfermedad.
- Hialino:** transparente o incoloro, término utilizado para describir estructuras microscópicas de hongos.
- Inóculo:** material que contiene el patógeno (esporas, micelio, etc.) y que se utiliza para inocular artificialmente una planta con el fin de estudiar la enfermedad o evaluar la resistencia.
- Lenticelas:** pequeños poros en corteza de ramas y troncos que permiten el intercambio gaseoso entre los tejidos internos de la planta y el ambiente.

Lesión necrótica: área de tejido muerto en una planta, generalmente de color marrón o negro, causada por daño físico, químico o biológico.

Micelio: masa de filamentos ramificados (hifas) que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo, responsable de la absorción de nutrientes y el crecimiento.

Marchitez: pérdida de rigidez y turgencia de los tejidos vegetales debido a la falta de agua, a menudo como síntoma de enfermedad o estrés hídrico.

Muerte descendente: patrón de muerte progresiva de ramas y hojas que comienza desde la parte superior del árbol y avanza hacia abajo, a menudo asociado con enfermedades vasculares.

Necrosis: muerte de tejido vegetal, generalmente como resultado de una lesión o enfermedad.

Patogenicidad: capacidad de un microorganismo de causar enfermedad en un hospedero susceptible.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa, técnica de biología molecular utilizada para amplificar regiones específicas de ADN, lo que permite la detección e identificación de patógenos.

Pecíolo: estructura de la planta que conecta la lámina de la hoja con el tallo.

Pedúnculo: estructura de la planta que sostiene una flor, un fruto o una inflorescencia.

Perseitol: alcohol de azúcar producido naturalmente por el aguacate, que puede exudar en forma de cristales blancos en lesiones causadas por *Lasiodiplodia*.

Picnidio: estructura reproductiva asexual de algunos hongos, que produce y libera conidios.

Saprophyto: organismo que se alimenta de materia orgánica muerta o en descomposición, y que desempeña un papel importante en el ciclo de nutrientes.

Síntoma: manifestación visible de una enfermedad en una planta, como cambios en color, forma o función de los tejidos.

Vasos del xilema: células conductoras especializadas del xilema, responsables del transporte de agua y nutrientes desde las raíces hasta las hojas.

Virulencia: grado o intensidad de patogenicidad de un microorganismo, es decir, su capacidad para causar daño o enfermedad en un hospedero.

Xilema: tejido vascular de las plantas responsable del transporte de agua y nutrientes desde las raíces hasta las hojas.

Referencias

- Alama, I., Maldonado, E., & Rodríguez-Gálvez, E. (2006). *Lasiodiplodia theobromae* affect the cultivation of palto (*Persea americana*) under the conditions of Piura, Peru. *Universalia*, 11(2), 4–13.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Alves, A., Crous, P. W., Correia, A., & Phillips, A. J. L. (2008). Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. *Fungal Diversity*, 28, 1–13. https://www.researchgate.net/publication/40095352_Morphological_and_molecular_data_reveal_cryptic_species_in_Lasiodiplodia_theobromae
- Ángel-García, C., Rodríguez-Arévalo, K. A., Murcia Riaño, N., Martínez-Caballero, L. N., Ceballos-Aguirre, G., Jaramillo Laverde, A., & Martínez, M. F. (2023). Molecular identification and fungal diversity associated with diseases in Hass avocado fruit grown in Cauca, Colombia. *Pathogens*, 12(12), 1418. <https://doi.org/10.3390/pathogens12121418>
- Arjona-Girona, I., Ruano-Rosa, D., & López-Herrera, C. J. (2019). Identification, pathogenicity and distribution of the causal agents of dieback in avocado orchards in Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 17(1). <https://doi.org/10.5424/sjar/2019171-13561>
- Avenot, H. F., Vega, D., Arpaia, M. L., & Michailides, T. J. (2023). Prevalence, identity, pathogenicity, and infection dynamics of Botryosphaeriaceae causing avocado branch canker in California. *Phytopathology*, 113(6), 1034–1047. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-21-0459-R>
- Bhunjun, C. S., Phillips, A. J. L., Jayawardena, R. S., Promputtha, I., & Hyde, K. D. (2021). Importance of molecular data to identify fungal plant pathogens and guidelines for pathogenicity testing based on Koch's postulates. *Pathogens*, 10(9), 1096. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091096>
- Burbano-Figueroa, O., Arcila, A., Vásquez, A. M., Carrascal, F., Salazar Pertuz, K., Moreno-Moran, M., Romero-Ferrer, J., & Pulgarín, J. A. (2018). First report of *Bionectria pseudocholeuca* causing dieback and wilting on avocado in the Serranía de Perijá, Colombia. *Plant Disease*, 102(1). <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-17-0010-PDN>

- Carbone, I., & Kohn, L. M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, 91(3), 553-556. <https://doi.org/10.1080/000275514.1999.12061051>
- Castresana, J. (2000). Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis, *Molecular Biology and Evolution*, 17(4), 540-552, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026334>
- Díaz, G. A., Valdez, A., Halleen, F., Ferrada, E., Lolas, M., & Latorre, B. A. (2022). Characterization and pathogenicity of *Diplodia*, *Lasiodiplodia*, and *Neofusicoccum* species causing Botryosphaeria canker and dieback of apple trees in central Chile. *Plant Disease*, 106(3), 925-937. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-21-1291-RE>
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1), 11-15. https://webpages.charlotte.edu/~jweller2/pages/BINF8350f2011/BINF8350_Readings/Doyle_plantDNAextractCTAB_1987.pdf
- Edgar, R. C. (2004). Muscle: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792-1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- El-Ganainy, S. M., Ismail, A. M., Iqbal, Z., Elshewy, E. S., Alhudaib, K. A., Almaghasla, M. I., & Magistà, D. (2022). Diversity among *Lasiodiplodia* species causing dieback, root rot and leaf spot on fruit trees in Egypt, and a description of *Lasiodiplodia newvalleyensis* sp. nov. *Journal of Fungi*, 8(11), 1203. <https://doi.org/10.3390/jof8111203>
- Fiorenza, A., Gusella, G., Vecchio, L., Aiello, D., & Polizzi, G. (2023). Diversity of Botryosphaeriaceae species associated with canker and dieback of avocado (*Persea americana*) in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 62(1), 47-63. <https://doi.org/10.36253/phyto-14057>
- García, J. F., Lawrence, D. P., Morales-Cruz, A., Travadon, R., Minio, A., Hernández-Martínez, R., Rolshausen, P. E., Baumgartner, K., & Cantu, D. (2021). Phylogenomics of plant-associated Botryosphaeriaceae species. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.652802>
- Garibaldi, A., Bertetti, D., Amatulli, M. T., Cardinale, J., & Gullino, M. L. (2012). First report of postharvest fruit rot in avocado (*Persea americana*) caused by *Lasiodiplodia theobromae* in Italy. *Disease Notes*, 96(3). <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-11-0886>
- Glass, N. L., & Donaldson, G. C. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(4), 1323-1330. <https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1323-1330.1995>
- Hernández, D., García-Pérez, O., Perera, S., González-Carracedo, M. A., Rodríguez-Pérez, A., & Siverio, F. (2023). Fungal pathogens associated with aerial symptoms of avocado (*Persea americana* Mill.) in Tenerife (Canary Islands, Spain) focused on species of the family Botryosphaeriaceae. *Microorganisms*, 11(3), 585. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030585>

- Holguín, C. M. (2022). *Estrategias para la recuperación de aguacates criollos y antillanos en los núcleos productivos de El Carmen de Chucurí (Santander) y Montes de María (Bolívar)* [Informe final]. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA); Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR).
- Holguín, C. M. (2024). Fortalecimiento de las capacidades en ciencia, tecnología e innovación del centro de investigación La Suiza para el desarrollo de proyectos en fitosanidad y agroindustria en sistemas de producción priorizados en el departamento de Santander. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA); Sistema General de Regalías de Santander (SGR).
- Hyde, K. D., Nilsson, R. H., Alias, S. A., Ariyawansa, H. A., Blair, J. E., Cai, L., De Cock, A. W. A. M., Dissanayake, A. J., Glockling, S. L., Goonasekara, I. D., Gorczak, M., Hahn, M., Jayawardena, R. S., Van Kan, J. A., Laurence, M. H., Lévesque, C. A., Li, X., Liu, J., Maharachchikumbura, S. S. N., . . . Zhou, N. (2014). One stop shop: Backbones trees for important phytopathogenic genera: I. *Fungal Diversity*, 67(1), 21-125. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0298-1>
- Huelsensbeck, J. P., & Ronquist, F. (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17(8), 754-755. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/17.8.754>
- Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura [Intagri]. (2018). *El cultivo de aguacate en Latinoamérica: Parte I. México, Colombia y Perú*. [Serie Frutales, n.º 45].
- Jayawardena, R. S., Hyde, K. D., McKenzie, E. H. C., Jeewon, R., Philips, A. J. L., Perera, R. H., De Silva, N. I., Maharachchikumbura, S. S. N., Samarakoon, M. C., Ekanayake, A. H., Tennakoon, D. S., Dissanayake, A. J., Norphaphoun, C., Lin, C., Manawaainghe, I. S., Tian, Q., Brahmanage, R., Chomnuti, P. Lin, C.,... Wang, Y. (2019). One stop shop III: taxonomic update with molecular phylogeny for important phytopathogenic genera: 51–75. *Fungal Diversity*, 98, 77–160 (2019). <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00433-6>
- Ko, Y. Z., Liyanage, W. K., Shih, H. C., Tseng, M. N., Shiao, M. S., Chiang, Y. C. (2023). Unveiling cryptic species diversity and genetic variation of *Lasiodiplodia* (Botryosphaeriaceae, Botryosphaeriales) infecting fruit crops in Taiwan. *Journal of Fungi*, 9(9), 950. <https://doi.org/10.3390/jof9090950>
- Kwon, J., Choi, O., Kang, B., Lee, Y., Park, J., Kang, D., Han, I., & Kim, J. (2017). Identification of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing mango dieback in Korea. *Canadian Journal Of Plant Pathology*, 39(2), 241-245. <https://doi.org/10.1080/07060661.2017.1329231>
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural [MADR]. (2021). *Cadena productiva aguacate: composición y caracterización de la cadena*. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Aguacate/Documentos/2021-03-31CifrasSectoriales.pdf?ID=240>

- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural [MADR]. (2023). *Evaluaciones Agropecuarias Municipales (EVA) 2019-2021*. Biblioteca Digital Agronet. <https://www.agronet.gov.co/DR/Paginas/EVADepartamentales.aspx>
- Mehl, J., Wingfield, M., Roux, J., & Slippers, B. (2017). Invasive everywhere? Phylogeographic analysis of the globally distributed tree pathogen *Lasiodiplodia theobromae*. *Forests*, 8(5), 145. <https://doi.org/10.3390/f8050145>
- Miller, S. A., Beed, F. D., & Harmon, C. L. (2009). Plant disease diagnostic capabilities and networks. *Annual Review of Phytopathology*, 47(1), 15-38. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081743>
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2022). GenBank. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>
- Navarro, B. L., Edwards-Molina, J. P., & Nogueira-Júnior, A. F. (2021). Penetration by Botryosphaeriaceae species in avocado, guava and persimmon fruit during postharvest. *Journal of Phytopathology*, 170(1), 57-68. <https://doi.org/10.1111/jph.13055>
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2015). IQ-Tree: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1), 268-274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- Ogilvie, H. A., Bouckaert, R. R., Drummond, A. J., & Stadler, T. (2017). StarBEAST2 brings faster species tree inference and accurate estimates of substitution rates. *Molecular Biology and Evolution*, 34(8), 2101-2114. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx126>
- Onaebi, C., Onyeke, C., Osibe, D., Ugwuja, F., Okoro, A., & Onyegirim, P. (2019). Antimicrobial activity of *Ocimum gratissimum* L. and *Carica papaya* L. against postharvest pathogens of avocado pear (*Persea americana* Mill.). *Journal of Plant Pathology*, 102, 319-325. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00420-5>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2023). *Cantidad de producción mundial de aguacate en 2021*. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>
- Phillips, A. J. L., Alves, A., Abdollahzadeh, J., Slippers, B., Wingfield, M. J., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2013). The Botryosphaeriaceae: Genera and species known from culture. *Studies in Mycology*, 76(1), 51-167. <https://doi.org/10.3114/sim0021>
- Picos-Muñoz, P. A., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo-Barajas, A., & Allende-Molar, R. (2015). *Lasiodiplodia theobromae* in agricultural crops in México: Taxonomy, host, diversity and control. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 33(1), 54-74. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000100054
- Puig, A., Quintanilla, W., Matsumoto, T., Keith, L., Gutiérrez, O. A., & Marelli, J. P. (2021). *Phytophthora palmivora* causing disease on *Theobroma cacao* in Hawaii. *Agriculture*, 11(5), 396. <https://doi.org/10.3390/agriculture11050396>

- Purseglove, J. W., Brown, E. G., Green, C. L., & Robbins, S. R. J. (1968). *Tropical crops: Dicotyledons*. Longmans, Green & Co Ltd.
- Qiu, F., Tan, X. H., Xie, C. P., Xu, G., Li, X., Zheng, F. Q., & Wang, W. L. (2020). First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing branch blight on avocado in China. *Plant Disease*, 104(10). <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-20-0451-PDN>
- Quaedvlieg, W., Verkley, G. J. M., Shin, H. D., Barreto, R. W., Alfenas, A. C., Swart, W. J., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2013). Sizing up *Septoria*. *Studies in Mycology*, 79(1), 307-390.
- Ramírez-Gil, J. G. (2018). Avocado wilt complex disease, implications and management in Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 71(2). <https://doi.org/10.15446/rfna.v71n2.66465>
- Ramírez-Gil, J. G., & Peterson, A. T. (2019). Current and potential distributions of the most important diseases affecting ‘Hass’ avocado in Antioquia, Colombia. *Journal of Plant Protection Research*, 59, 214–228. <http://dx.doi.org/10.24425/jppr.2019.129288>
- Rathnayaka, A. R., Chethana, K. W. T., Manawasinghe, I. S., Wijesinghe, S. N., de Silva, N. I., Tennakoon, D. S., Phillips, A. J. L., Liu, J. K., Jones, E. B. G., Wang, Y., & Hyde, K. D. (2023). *Lasiodiplodia*: Generic revision by providing molecular markers, geographical distribution and haplotype diversity. *Mycosphere*, 14(1), 1254-1339. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/14/1/14>
- Rodríguez-Gálvez, E., Hilário, S., Batista, E., Lopes, A., & Alves, A. (2021). *Lasiodiplodia* species associated with dieback of avocado in the coastal area of Peru. *European Journal of Plant Pathology*, 161, 219-23 <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02317-5>
- Salvatore, M. M., Andolfi, A., & Nicoletti, R. (2020). The thin line between pathogenicity and endophytism: The case of *Lasiodiplodia theobromae*. *Agriculture*, 10(10), 488. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100488>
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Sistema de Información de Gestión y Desempeño de Organizaciones de Cadenas [SIOC]. (2017). *Cadena de aguacate. Indicadores e instrumentos*. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Aguacate/Documentos/Forms/DispForm.aspx?ID=164>

- Slippers, B., Crous, P. W., Denman, S., Coutinho, T. A., Wingfield, B. D., & Wingfield, M. J. (2004). Combined multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate species of the Botryosphaeriaceae. *Mycologia*, 96(1), 1021-1031. <https://doi.org/10.2307/3761991>
- Slippers, B., & 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>
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312-1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
- Suchard, M. A., Lemey, P., Baele, G., Ayres, D. L., Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2018). Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using Beast 1.10. *Virus Evolution*, 4(1), vey016. <https://doi.org/10.1093/ve/vey016>
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22), 4673-4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- Valencia, A. L., Gil, P. M., Latorre, B. A., & Rosales, I. M. (2019). Characterization and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species obtained from avocado trees with branch canker and dieback and from avocado fruit with stem end rot in Chile. *Plant Disease*, 103(5), 996-1005. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-18-1131-RE>
- Wanjiku, E. K., Waceke, J. W., Wanjala, B. W., & Mbaka, J. N. (2020). Identification and pathogenicity of fungal pathogens associated with stem end rots of avocado fruits in Kenya. *International Journal of Microbiology*, Article ID 4063697. <https://doi.org/10.1155/2020/4063697>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). 38 - amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky & T. J. White (Eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications* (pp. 315-322). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Yu, G., Smith, D. K., Zhu, H., Guan, Y., Lam, T. T. Y. (2017). Ggtree: an R package for visualization and annotation of phylogenetic trees with their covariates and other associated data. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(1), 28-36.



Autoría

Claudia María Holguín Aranzazu

Correo: cholguin@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6498-3195>

Ingeniera agrónoma de la Universidad de Caldas, magíster en Entomología y doctora en Ciencias Ambientales y de Plantas con énfasis en Nematología de Clemson University (Carolina del Sur, Estados Unidos). Las principales líneas de investigación son identificación y caracterización molecular de insectos-plaga y nematodos fitoparásitos, así como el estudio de la dinámica y estructura poblacional y el desarrollo de métodos de monitoreo y manejo. Desde 2015 es Investigadora PhD en AGROSAVIA, donde actualmente está vinculada a proyectos de investigación en el desarrollo de programas de manejo integrado de problemas fitosanitarios, principalmente en frutales como aguacate y durazno, así como en la identificación y estructura poblacional de nematodos fitoparásitos en cultivos hortícolas.

Yeirme Yaneth Jaimes Suárez

Correo: yjaimes@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-7942-0598>

Microbióloga con énfasis en Alimentos de la Universidad de Pamplona, magíster en Biología Aplicada de la Universidad Militar Nueva Granada y doctora en Agro-nomía - Protección de Plantas de la Universidad Estatal Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu (São Paulo, Brasil). Está vinculada a AGROSAVIA desde el año 2008, donde actualmente trabaja como Investigadora PhD Asociada. Ha recibido entrenamiento en fitopatógenos del cacao en el Centro de Investigación en Cacao (Ceplac) y en Itabuna (Bahía, Brasil), así como en modelos de predicción de plagas en la Universidad de Carolina del Norte en Raleigh (Estados Unidos). En cacao, ha trabajado principalmente en el diseño de esquemas para el manejo de enfermedades del cultivo, y en la biología de poblaciones de *Moniliophthora roreri*, *Moniliophthora perniciosa*, *Lasiodiplodia* sp., *Phytophthora* sp. y *Rosellinia* sp. Ha publicado artículos científicos en revistas indexadas sobre temas relacionados con el cultivo del cacao.



Leonardo Villalba Campos

Correo: lvillalbac@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0299-446X>

Ingeniero agrónomo de la Universidad Nacional de Colombia y estudiante de Maestría en Biología de la Universidad Industrial de Santander. Es Profesional de Apoyo a la Investigación desde 2015 en AGROSAVIA. Ha trabajado en proyectos de investigación enfocados en biología de insectos y manejo integrado de plagas en frutales, así como en proyectos relacionados con la identificación molecular de nematodos fitoparásitos en especies hortofrutícolas.

Donald Adrián Galvis Neira

Correo: dgalvis@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-3694-5551>

Ingeniero agrónomo y magíster en Biotecnología. Cuenta con experiencia en investigación básica y aplicada en fitopatología y remediación de suelos. En el cultivo del cacao ha trabajado en la identificación y diagnóstico de patógenos del cultivo, así como en el diseño e implementación de esquemas de manejo integrado de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa*. Ha publicado artículos científicos en revistas indexadas sobre temas relacionados con sistemas agroforestales y remediación de cadmio en el cultivo del cacao.

Sergio Andrés Marchant Rojas

Correo: sergio.marchant@uis.edu.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-7362-3626>

Biólogo marino, licenciado en Ciencias del Mar y profesional en Biología Marina de la Universidad Católica del Norte, Coquimbo (Chile). Doctor en Ciencias Biológicas de Clemson University, Carolina del Sur, Estados Unidos. Actualmente es profesor asociado en la Escuela de Biología de la Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga. Su carrera se ha centrado en la aplicación de la filogenética molecular y la genética de poblaciones para abordar desafíos en la conservación de la biodiversidad en ecosistemas acuáticos y terrestres, así como en el desarrollo de estrategias para una agricultura sostenible. Ha publicado artículos científicos en temas relacionados en revistas internacionales.



Este libro se editó en Mosquera, Cundinamarca,
y se imprimió en Bogotá, Colombia,
en marzo de 2025.

Este manual ofrece una guía completa para el reconocimiento y diagnóstico de la muerte descendente en aguacate, una enfermedad limitante para este cultivo en Santander, Colombia, causada por el hongo *Lasiodiplodia* spp. Un diagnóstico preciso es crucial para el manejo efectivo de esta enfermedad, y este documento proporciona las herramientas para lograrlo.

Aquí se detalla el proceso de aislamiento del hongo, desde la recolección de muestras de tejido vegetal hasta la descripción macro y microscópica del patógeno. También se incluye el procedimiento para realizar pruebas de patogenicidad, confirmando la capacidad del hongo para causar la enfermedad.

Además, se describe la técnica de PCR para la identificación molecular de *Lasiodiplodia* spp. Este proceso implica la extracción de ADN, la amplificación de tres regiones génicas (ITS, *tef1-α* y *tub2*) y un análisis de secuencias multilocus para una identificación precisa de la especie.

La difusión de esta información entre técnicos y científicos es fundamental para promover el conocimiento y la prevención de la muerte descendente en aguacate en Santander y otros departamentos productores de la fruta en Colombia.

www.agrosavia.co



BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

Correo: bac@agrosavia.co

Teléfono: (+57 601) 4227300 ext. 1257 o 1274

Skype: [biblioteca.agropecuaria](https://www.skype.com/people/biblioteca.agropecuaria)

ISBN: 978-958-740-789-1



9 789587 407891

Distribución gratuita
Prohibida su venta