



# Mancha foliar en palma de coco “enano verde de Brasil”: identificación del fitopatógeno y su control biorracional *in vitro*

## Leaf Spot in Coconut Palm “Brazilian Green Dwarf”: Identification of the Phytopathogen and its *in vitro* Biorational Control

Rosa Elena Gaspar Galeana <https://orcid.org/0009-0001-7675-4948>

José Manuel Palma García <https://orcid.org/0000-0001-6061-546X>

Wilberth Chan Cupul\* <https://orcid.org/0000-0001-8634-3618>

Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, Tecomán, Colima, México

\*Autor de correspondencia: [wchan@ucol.mx](mailto:wchan@ucol.mx)

Recepción: 1 de octubre de 2023

Aceptado: 9 de noviembre de 2023

### Resumen

**Objetivo.** Aislar e identificar al agente causal de la mancha foliar (MF) en *Cocos nucifera* L. var. enano verde de Brasil (EVB) y evaluar el efecto *in vitro* de productos biorracionales en la inhibición del crecimiento del fitopatógeno. **Materiales y métodos.** Se aisló el agente causal a partir de hojas con síntomas de MF y se identificó morfológicamente. Se evaluaron *in vitro* cinco productos biorracionales (Jaque mate<sup>®</sup>, Fullcover<sup>®</sup>, Hongo cero<sup>®</sup>, Sigatoxx<sup>®</sup> y Timorex Gold<sup>®</sup>) a dosis de 2.0, 1.0, 0.5 y 0.25% v/v adicionados al medio de cultivo PDA. En el centro de las cajas de Petri se inocularon 5  $\mu$ L de una solución de conidiosporas ( $9.2 \times 10^4$  conidiosporas/mL) del fitopatógeno. Se midió el diámetro de la colonia (DC) y se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (ICM) y se obtuvo la  $DL_{50}$  y  $DL_{90}$ . Los datos se analiza-

### Abstract

**Objective.** To isolate and identify the causal agent of leaf spot (LS) in *Cocos nucifera* L. var. Brazilian green dwarf (BGD) and to evaluate the *in vitro* effect of biorational products in inhibiting the growth of the phytopathogen. **Materials and methods.** The causal agent was isolated from leaves with LS symptoms and identified morphologically. Five biorational products (Jaque Mate<sup>®</sup>, Fullcover<sup>®</sup>, Hongo cero<sup>®</sup>, Sigatoxx<sup>®</sup>, and Timorex Gold<sup>®</sup>) were evaluated *in vitro* at doses of 2.0, 1.0, 0.5, and 0.25% v/v added to the PDA culture medium. In the center of Petri dishes, 5  $\mu$ L of a conidiospore solution ( $9.2 \times 10^4$  conidiospores/mL) of the phytopathogen was inoculated. Colony diameter (CD) was measured, the percentage of mycelial growth inhibition (MGI) was calculated, and the  $LD_{50}$  and  $LD_{90}$  were obtained.

ron por un análisis de varianza y comparación múltiple de medias Tukey ( $P=0.05$ ). **Resultados.** Se diagnosticó a *Bipolaris* sp. como agente causal asociado a la MF en *C. nucifera*. El Jaque Mate® en todas las dosis, Sigatoxx® a 2.0 y 1.0% y Timorex Gold® a 2.0%; no permitieron el crecimiento de *Bipolaris* sp., con 100% ICM. La  $LD_{50}$  más baja fue para Sigatoxx® (3.67%). **Conclusión.** Jaque Mate®, Sigatoxx® y Timorex Gold® fueron los extractos más efectivos para inhibir el crecimiento de *Bipolaris* sp, aislado de *C. nucifera* var. EVB.

### Palabras clave

*Bipolaris* sp, Colima, dosis letal, extractos vegetales, inhibición.

Data were analyzed by analysis of variance and Tukey multiple comparisons of means ( $P=0.05$ ). **Results.** *Bipolaris* sp. was diagnosed as the causal agent associated with LS in *C. nucifera*. Jaque Mate® at all doses, Sigatoxx® at 2.0 and 1.0%, and Timorex Gold® at 2.0% prevented the growth of *Bipolaris* sp. with 100% MGI. The lowest  $LD_{50}$  was for Sigatoxx® (3.67%). **Conclusion.** Jaque Mate®, Sigatoxx®, and Timorex Gold® were the most effective extracts in inhibiting the growth of *Bipolaris* sp. isolated from *C. nucifera* BGD.

### Keywords

*Bipolaris* sp, Colima, lethal dose, plant extracts, inhibition.

## Introducción

La palma de cocotero (*Cocos nucifera* L.) es una de las especies tropicales más importantes para el ser humano, ya que es un fruto que aporta muchos beneficios y usos (Khan y Hossain, 2010), entre ellos el consumo del fruto y del agua de coco, que reduce la hiperglicemia en varios modelos *in vivo* de diabetes (Mohammed y Labaran, 2023).

Actualmente, el estado de Colima ocupa el segundo lugar nacional en la producción, y para el año 2022, existen plantadas 15 321.7 ha con una producción total de 27 000.1 t (SIAP, 2023). De las variedades de cocotero disponibles de forma comercial, la variedad enano verde de Brasil (EVB), despertó el interés en los productores y empresas de forma comercial en la zona de Colima, debido al promedio total de 420 frutos por palma por año, con cosecha a los dos o tres años de post-siembra y con una vida productiva de al menos 50 años; además, las plantas poseen una altura de 4 a 6 m, lo que facilita la cosecha, en comparación con las variedades altas, y principalmente es utilizado por la cantidad de agua que genera para consumo (Benassi *et al.*, 2013; Teixeira *et al.*, 2019).

Entre las plagas y enfermedades de mayor repercusión se destaca el picudo americano de las palmas o picudo negro (*Rhynchophorus palmarum* L.), principal insecto vector del agente causal del anillo rojo (*Bursaphelenchus cocophilus* Coob.); asimismo están las larvas de *R. palmarum*, que se alimentan de la parte interior del tallo y generan marchitamiento y caída de hojas; otro artrópodo de importancia económica es el ácaro (*Aceria guerreronis* Keifer), que penetra los frutos tiernos, ocasiona una mancha blanca y afecta el desarrollo (Navia *et al.*, 2013; Brito *et al.*, 2021). Por otro lado, Baki *et al.* (2021), mencionaron que los hongos fitopatógenos también están relacionados a las enfermedades en palmas de coco y son causa de mermas en la producción.

Recientemente se encontró una patología emergente, la mancha foliar en plantas de vivero en la variedad EVB en la localidad de Caleras, Tecomán, Colima; en las

hojas de la planta se presentaron pequeñas manchas ovaladas de color negro y marrón que, conforme pasan los días, crece, induce amarillamiento y debilitamiento, y ocasiona la muerte. Anteriormente, Hauptenthal *et al.* (2017) describieron los mismos síntomas sobre la palmera *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.; finalmente, al identificar al agente causal, se encontró que los síntomas fueron producidos por *Pestalotiopsis* spp., un hongo saprófito y parásito facultativo que parasita a plantas dependiendo de las condiciones abióticas, como disponibilidad de agua en la planta, alta humedad relativa o inadecuada fertilización.

Asimismo, Cardoso *et al.* (2003) observaron que en las hojas de palma de coco se presentaron síntomas de manchas irregulares de color café oscuro que, con el paso de los días, ocasionaba clorosis en el resto de las hojas, en el aislamiento se diagnosticó a *Pestalotiopsis guepinii* (Desm.) Steyaert. (Ascomycota: Pestalotiopsidaceae).

Aunado a lo anterior, el principal manejo que se le brinda a la mancha foliar en palmas de coco en vivero es la aplicación de fungicidas químicos, principalmente con ingredientes activos como Azoxitrobin, Mancozeb y Metalaxil. Una alternativa amigable con el medioambiente que evita la posible resistencia química del agente causal a los fungicidas químicos es el control biorracional, el cual, según Murillo-Cuevas *et al.* (2020), se define como el uso de sustancias producidas por microorganismos, plantas o minerales que se descomponen en pocas horas después de aplicarse y son altamente específicos para la enfermedad que se desea controlar.

En este tenor, el objetivo fue aislar e identificar a nivel de género el posible agente causal de la mancha foliar en la palma de coco EVB y evaluar productos biorracionales sobre la inhibición *in vitro* del agente causal de la mancha foliar.

## Materiales y métodos

El aislamiento y los bioensayos se realizaron en el laboratorio de fitopatología en la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Colima, ubicado en el km 40 de la autopista Colima-Manzanillo, en Tecomán, Colima, México (18°57'09.97" latitud N y 103°53'40.67" longitud O).

### Recolección de material vegetal

La colecta de follaje de palma de coco EVB con los síntomas de la MF se realizó en el vivero ubicado en el rancho "La Ceiba", en la localidad de Caleras, Tecomán, Colima (18°99'23.2" latitud N y 103°88'8.64" longitud O); se seleccionaron plantas enfermas con hojas que presentaran síntomas de mancha foliar (MF). Las muestras colectadas se depositaron en bolsas de plástico y en hielera para su traslado al laboratorio (figura 1 D).

### Aislamiento del agente causal

Se realizaron cortes de 4×4 cm del área foliar infectada, posteriormente se lavaron con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% más Tween 20 (500 µL/L), después el tejido se lavó con alcohol al 70%, finalmente el tejido se enjuagó con agua destilada estéril; cada lavado duró tres minutos; el tejido se secó con papel filtro estéril; posteriormente, el tejido limpio se

colocó en cajas de Petri con agar-agua y se incubaron a 20 °C, para la obtención de micelio y conidiosporas para resembrarlas en cajas con PDA (Domínguez-Romero *et al.*, 2019).

### *Purificación del agente causal*

Una vez que las muestras de tejido foliar dieron origen a hifas y conidióforos, estos se colectaron con una aguja de insulina a través de un microscopio estereoscópico y se depositaron en cajas de Petri con agar Papa Dextrosa Agar (PDA). Las cajas se incubaron a temperatura de laboratorio ( $28.0 \pm 3.0$  °C) durante cinco días para dar origen a las colonias y conidiosporas del patógeno (Rahman *et al.*, 2018).

### *Identificación morfológica*

Se prepararon microcultivos, en una caja Petri estéril se vertieron 10 mL de agua destilada; posteriormente se colocó un soporte de vidrio en forma de “V”, sobre el cual se agregó un portaobjetos y en cada extremo se depositó un cuadro de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> de agar-agua (Vaezi *et al.*, 2020). Enseguida se realizó la inoculación de un fragmento del micelio, en las esquinas del agar-agua, con la ayuda de un asa bacteriológica, y se colocó un cubreobjetos encima del fragmento del agar-agua inoculado. El microcultivo se incubó de cuatro o cinco días  $28 \pm 3$  °C. Una vez desarrollado el micelio y conidióforos, se observó en el microscopio invertido (Axiovert 40 CFL Zeiss, Alemania) con los objetivos 20 y 40×, donde se consideraron las características macromorfológicas; aspectos miceliales, forma de borde, coloración de colonias y conidios.

### *Fungicidas biorracionales*

Los extractos vegetales evaluados fueron: Jaque Mate® (aceite de canela 16.0% + aceite de clavo 4.0% + aditivos especializados 80.0%), Sigatoux® (extractos de plantas aromáticas 1.9% + aceites vegetales esenciales polisaturados 7.2% + aceites omega<sup>3</sup> 3.0%), Prelab GH® (extracto de hojas de [*Florencia serna*] 91.0% + extracto de gobernadora [*Larrea tridentata* (Sessé & Moc. ex DC.) Covill] 9.0%), Timorex Gold® (concentración de aceite del árbol del té [*Melaleuca alternifolia* (Maiden y Betche)] 23.8%), Fullcover® (aceite de citronela 2.0% + extracto de té verde 1.0% + gel de sábila 2.0%), Hongo cero® (extracto de *L. tridentata* 85.0% + aceite de *Azadirachta indica* A. Juss. 0.5% + acondicionadores y diluyentes 14.5%). Estos extractos biorracionales se comercializan localmente como fungicidas y son los más empleados para el manejo de fitopatógenos foliares en cultivos como el banano (*Musa paradisiaca* L.) y coco.

### *Bioensayo dosis de respuesta*

Se rehidrató 39.0 g de medio PDA en 1 L de agua destilada, se calentó en agitación constante hasta su punto de ebullición, una vez disuelto se esterilizó en la autoclave a 121 °C (15 lbs de presión) durante 15 min. Cuando el PDA enfrió 40 °C, se vació en cajas de Petri de 90 × 15 mm. Posteriormente, los extractos biorracionales se agregaron en la parte superficial del medio. Las concentraciones evaluadas fueron las siguientes: 2.0, 1.0, 0.5 y 0.25% (v/v); como control se empleó medio PDA sin extracto vegetal. La

siembra del agente causal en las cajas de Petri con PDA + extractos vegetales se realizó depositando en el centro de la caja de Petri 5  $\mu$ l de solución de conidiosporas a una concentración de  $9.2 \times 10^4$  conidiosporas/mL. Las cajas se encubieron a una temperatura de laboratorio ( $28 \pm 3$  °C) durante ocho días y, posteriormente, se capturaron fotografías para desarrollar un *collage* con los crecimientos de las colonias (Khan y Hossain, 2010). Para cada producto se empleó un diseño experimental al azar, cada dosis se tomó como un tratamiento, se establecieron seis repeticiones por tratamiento, una repetición y unidad experimental consistió en una caja de Petri.

### Variables de respuesta

Se determinó el diámetro de colonia (DC) del micelio cada 24 h, con la ayuda de una escuadra milimétrica (Zamora-Natera *et al.*, 2008), datos que sirvieron para estimar el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (ICM) con la siguiente ecuación:

$$\text{ICM} = [(C - T) / C] \times 100\%$$

Donde:

C = es el diámetro del micelio en la caja de Petri del control (mm).

T = es el diámetro del micelio en las cajas de tratamiento con extractos biorracionales (mm).

Asimismo, se calculó la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) y dosis letal noventa ( $DL_{90}$ ) a través de una regresión lineal avanzada (Probit), empleado los logaritmos naturales de las cuatro dosis en cada producto con sus respectivos porcentajes de inhibición, este análisis se realizó para todos los productos, puesto que superaron el 50% de inhibición. Por la naturaleza de los datos obtenidos, para Jaque Mate® no fueron calculados la  $DL_{50}$  y  $DL_{90}$ .

### Análisis de datos

Con los datos de ICM, se sometieron a un análisis de homogeneidad de varianzas (Prueba de Levene), posteriormente se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y comparación múltiple de medias Tukey ( $P = 0.05$ ) (Manzo-Sánchez *et al.*, 2018). Para obtener las dosis letales se realizó un análisis Probit, todos los análisis se realizaron a través del software Statgraphics Centurion XVIII (Zamora-Natera *et al.*, 2008).

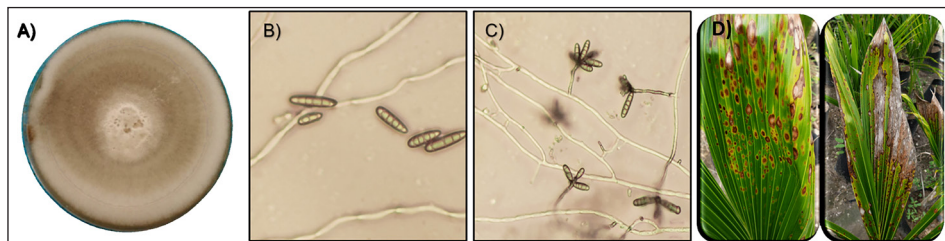
## Resultados

### Identificación morfológica

Ocho días posteriores a la siembra del hongo en medio PDA (figura 1), la cepa mostró un crecimiento micelial de 81 mm de diámetro, con un aspecto algodonoso y de color grisáceo con borde regular (figura 1A). Asimismo, en las observaciones microscópicas se obtuvo conidios en forma de barril de color café claro (figura 1B) y conidióforos de color marrón a café claro, en grupos, ramificadas y septados (figura 1C), características morfológicas que coinciden con hongos del género *Bipolaris* sp.

Figura 1

Características morfológicas de *Bipolaris* sp. en medio de cultivo PDA con ocho días de edad



A) colonia de ocho días de edad. B) conidios. C) conidióforos. D) síntomas avanzados de la mancha foliar.

### Diámetro de colonia (DC) con la aplicación de fungicidas biorracionales

**Jaque mate®.** En todas las mediciones realizadas el extracto no permitió el crecimiento de *Bipolaris* sp., lo que indujo una inhibición total en las cuatro dosis (cuadro 1).

Cuadro 1

Diámetro de colonia (mm) e inhibición del crecimiento micelial (%) de *Bipolaris* sp. en PDA suplementado con diferentes concentraciones de fungicida biorracional (Jaque mate®)

Dosis	Diámetro de la colonia (mm)/día de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
1.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
0.5	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
0.25	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
0.0	14.8±0.16	38.5±0.22	59.3±0.42	81.8±0.83
P-valor	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001
Dosis	% Inhibición del crecimiento micelial/día de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	100±0	100±0	100±0	100±0
1.0	100±0	100±0	100±0	100±0
0.5	100±0	100±0	100±0	100±0
0.25	100±0	100±0	100±0	100±0
P-valor	0	0	0	0

Medias (± error estándar) con diferente lateral son significativamente diferentes entre sí, de acuerdo con la comparación de medias Tukey,  $\alpha=0.05$ . n=6.

**Fullkover®.** Aunque existe diferencia estadística entre las diferentes dosis evaluadas, el porcentaje de inhibición es bajo, con el máximo valor de 26.9% en la mayor dosis en los dos primeros días (cuadro 2).

Cuadro 2

Diámetro de colonia (mm) e inhibición del crecimiento micelial (%) de *Bipolaris* sp. en PDA suplementado con diferentes concentraciones de fungicida biorracional (Fullkover®)

Dosis	Diámetro de la colonia (mm)/días de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	10.8±0.40 c	31.16±0.74 c	52.1±1.0 c	71.0±1.23 c
1.0	12.5±0.22 b	36.16±0.47 b	59.3±1.0 b	79.0±1.15 b
0.5	13.0±0.36 b	38.3±1.7 ab	61.3±1.7 ab	80.3±0.71 ab
0.25	15.6±0.21 a	40.0±0 a	64.1±0.30 a	83.8±0.16 a
0.0	14.8±0.16 a	38.5±0.22 ab	59.33±0.42 b	81.8±0.83 ab
P-valor	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001

Dosis	Inhibición (%) del crecimiento micelial/días de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	26.9±2.7 a	19.1±1.94 a	12.1±1.5 a	13.2±1.5 a
1.0	15.7±1.5 b	6.1±1.2 b	1.7±1.0 b	3.7±1.2 b
0.5	12.3±2.4 b	4.1±1.1 bc	0.3±0.3 b	2.1±0.7 b
0.25	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0±0 b	0.0±0.0 b
P-valor	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001

Medias (± error estándar) con diferente lateral son significativamente diferentes entre sí, de acuerdo con la comparación de medias Tukey,  $\alpha=0.05$ ,  $n=6$ .

**Hongo cero®.** En este producto el crecimiento de la colonia de *Bipolaris* sp. tuvo la mejor restricción en la máxima dosis, el cual se hace evidente a través del tiempo, que permite tener una inhibición del 72.7% a los ocho días (cuadro 3).

Cuadro 3

Diámetro de colonia (mm) e inhibición del crecimiento micelial (%) de *Bipolaris* sp. en PDA suplementado con diferentes concentraciones de fungicida biorracional (Hongo cero®)

Dosis	Diámetro de la colonia (mm)/días de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	11.7±0.33 b	17.0± 0.51 d	19.1±0.7 c	22.3±1.3 d
1.0	14.3±0.2 a	28.33±1.20 c	34.1±3.2 b	40.3±5.7 c
0.5	13.5±0.3 a	35.33±0.33 b	54.5±0.42 a	67.5±1.8 b
0.25	14.7±0.5 a	37.0±0.44 ab	58.16±0.8 a	71.5±1.5 ab
0.0	14.8±0.16 a	38.5±0.22 a	59.3±0.42 a	81.8±0.83 a
P-valor	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001

Dosis	Inhibición (%) del crecimiento micelial/días de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	21.3±2.2 a	55.84±1.3 a	67.7±1.01 a	72.70±1.7 a
1.0	3.7±1.1 b	26.4±3.1 b	42.4±5.4 b	50.7±7.0 b
0.5	9.1±2.1 b	8.2±0.86 c	8.1±0.7 c	17.5±2.2 c
0.25	3.93±2.02 b	4.1±0.97 c	2.71±0.77 c	12.7±1.88 c
P-valor	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001

Medias ( $\pm$  error estándar) con diferente lateral son significativamente diferentes entre sí, de acuerdo con la comparación de medias Tukey,  $\alpha=0.05$ ,  $n=6$ .

**Sigatoxx®**. Las dosis de este producto fueron efectivas para reducir el crecimiento de la colonia de *Bipolaris* sp. en todos los días evaluados y en las dosis de 2.0% y 1.0% (v/v), pues no se observó el crecimiento del fitopatógeno (cuadro 4).

Cuadro 4

Diámetro de colonia (mm) e inhibición (%) de *Bipolaris* sp. en PDA suplementado con diferentes concentraciones de fungicida biorracional (Sigatoxx®)

Dosis	Diámetro de la colonia (mm)/días de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	0.0±0.0 c	0.0±0.0 d	0.0±0.0 d	0.0±0.0 d
1.0	0.0±0.0 c	0.0±0.0d	0.0±0.0 d	0.0±0.0 d
0.5	0.0±0.0 c	11.8±0.4 c	26.5±0.5 c	37.0±0.8 c
0.25	8.5±0.42 b	22.3±0.2 b	37.1±1.0 b	46.5±1.4 b
0.0	14.8±0.1 a	38.5±0.22 a	59.3±0.4 a	81.8±0.8 a
P-valor	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001

Dosis	Inhibición (%) del crecimiento micelial/días de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a
1.0	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a
0.5	100±0.0 a	69.2±0.0 b	55.3±0.94 b	54.7±0.9 b
0.25	42.7±2.8 b	42±0.5 c	37.3±1.7 c	43.1±1.7 c
P-valor	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001

Medias ( $\pm$  error estándar) con diferente lateral son significativamente diferentes entre sí, de acuerdo con la comparación de medias Tukey,  $\alpha=0.05$ ,  $n=6$ .

**Timorex Gold®**. Las dosis de 0.25, 0.5, 1.0 y 2.0% redujeron significativamente el tamaño de la colonia del hongo en todos los días de evaluación, aunque la inhibición total se presentó en la dosis de 2.0% y en la dosis de 1% tuvo una inhibición total al día dos que disminuyó hasta 80.0% al octavo día (cuadro 5).



Cuadro 5

Diámetro de colonia (mm) e inhibición del crecimiento micelial (%) de *Bipolaris* sp. en PDA suplementado con diferentes concentraciones de fungicida biorracional (Timorex gold®)

Dosis	Diámetro de la colonia (mm)/días de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	0.0±0.0d	0.0±0.0 e	0.0±0.0 e	0.0±0.0 e
1.0	0.0±0.0 d	9.1±0.16 d	13.5±0.42 d	16.5±0.22 d
0.5	8.1±0.16 c	17.5±0.5 c	29.0±0.8 c	39.7±1.3 c
0.25	12.1±0.30 b	27.3±0.7 b	40.8±0.54 b	53.0±0.85 b
0.0	14.8±0.16 a	38.5±0.22 a	59.3±0.42 a	81.8±0.83 a
P-valor	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001

Dosis	Inhibición (%) del crecimiento micelial/días de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a
1.0	100±0.0 a	76.1±0.4 b	77.2±0.7 b	80.0±0.2 b
0.5	44.9±1.1 b	54.5±1.2 c	51.1±1.4 c	51.5±1.7 c
0.25	17.97±2.0 c	29.0±2.0 d	31.1±0.9 d	35.2±1.0 d
P-valor	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001

Medias ( $\pm$  error estándar) con diferente lateral son significativamente diferentes entre sí, de acuerdo con la comparación de medias Tukey,  $\alpha=0.05$ ,  $n=6$ .

**Prelab GH®.** Las dosis evaluadas redujeron significativamente el diámetro de la colonia de *Bipolaris* sp. A los ocho días de evaluación, la dosis a 1.0% (30.3 mm) permitió el menor diámetro de colonia en comparación al control (81.8 mm). Las dosis de 1.0% (63.0%) y 0.5% (52.1%) mostraron las mayores inhibiciones respecto a las dosis de 2.0% (38.7%) y 0.5% (32.3%) (cuadro 6).

Cuadro 6

Diámetro de colonia (mm) e inhibición (%) del crecimiento micelial de *Bipolaris* sp. en PDA suplementado con diferentes concentraciones de fungicida biorracional (Prelab GH®)

Dosis	Diámetro de la colonia (mm)/días de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	10.5±0.22 e	28.5±1.0 bc	41.5±2.0 bc	50.1±3.4 bc
1.0	11.3±0.21 cd	22.5±2.8 c	26.3±3.7 d	30.3±4.7 d
0.5	12.16±0.30 c	25.8±2.7 c	32.8±3.8 cd	39.1±4.3 cd
0.25	13.3±0.21 b	33.5±1.0 ab	48.3±2.41 ab	55.3±3.4 b
0.0	14.8±0.16 a	38.5±0.22 a	59.3±0.42 a	81.8±0.8 a
P-valor	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001

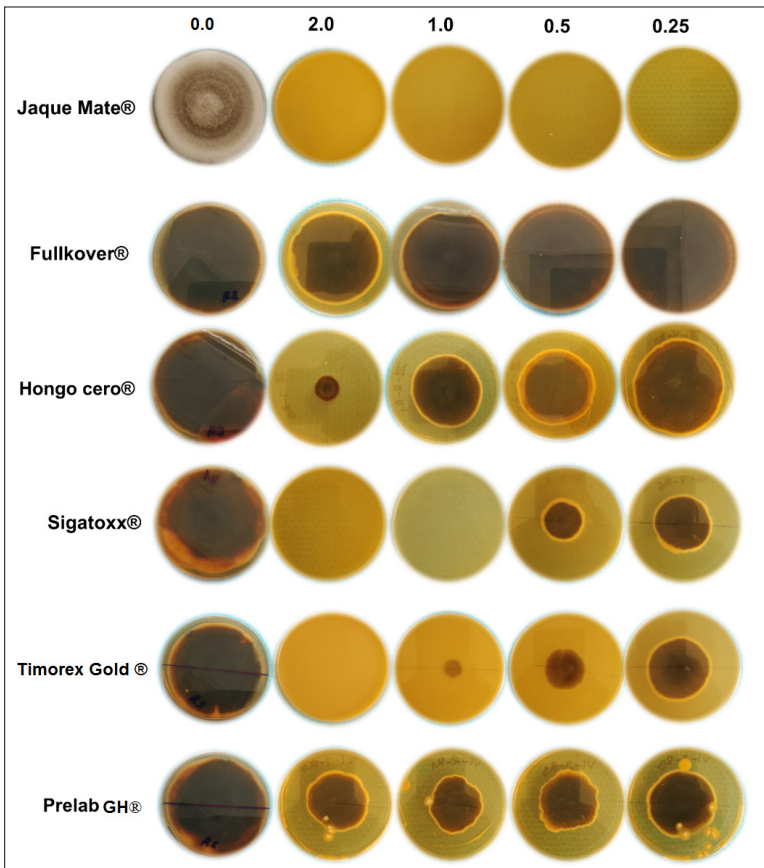
Dosis	Inhibición (%) del crecimiento micelial/días de evaluación			
	2	4	6	8
2.0	29.2±1.5 a	26.0±2.5 ab	30.0±3.5 bc	38.7±4.2 b
1.0	23.5±1.4 ab	41.3±7.2 a	55.7±6.3 a	63.0±5.7 a
0.5	18.0±2.0 b	32.7±6.7 ab	44.7±3.5 ab	52.1±5.3 ab
0.25	10.1±1.4 c	12.7±2.4 b	18.5±4.0 c	32.3±4.2 c
P-valor	0.00001	0.0076	0.0004	0.0013

Medias (± error estándar) con diferente lateral son significativamente diferentes entre sí, de acuerdo con la comparación de medias Tukey,  $\alpha=0.05$ ,  $n=6$ .

En la figura 2, se muestran las imágenes de la comparación de crecimiento de las colonias de *Bipolaris* sp. en ocho días como final del experimento, en donde se registró el máximo crecimiento del hongo y la inhibición de las diferentes dosis y productos biorracionales.

Figura 2

Crecimiento de las colonias de *Bipolaris* sp., en ocho días en PDA suplementado con fungicidas biorracionales evaluados



**Dosis letal ( $DL_{50}$ ) y ( $DL_{90}$ )**

La  $DL_{50}$  y  $DL_{90}$  para Jaque Mate® no fueron calculadas (NC) por el software, debido a que en las cuatro dosis evaluadas se encontró un 100% de inhibición. El extracto Sigatoxx® registró la  $DL_{50}$  y  $DL_{90}$  más baja con 3.67% y 7.81%, respectivamente, por el traslape de los intervalos de confianza, estos valores fueron estadísticamente los menores (cuadro 7). Los valores para Timorex Gold® y Hongo Cero® fueron de  $DL_{50}$  = 4.81%, 12.72% y  $DL_{90}$  = 12.26% y 25.43%. Por otro lado, Fullkover® fue el que registro menor efecto contra el fitopatógeno ya que se obtuvo una  $DL_{50}$  34.58% y  $DL_{90}$  51.53%. Sin embargo, Prelab GH® presentó datos negativos de  $DL_{50}$ : -1963.24% y  $DL_{90}$ : -31091.2%, esto debido a que *Bipolaris* sp. creció sin ningún problema en las cuatro dosis evaluadas (cuadro 7).

Cuadro 7

Dosis letal ( $DL_{50}$ ) y ( $DL_{90}$ ) de seis extractos vegetales comerciales evaluados contra *Bipolaris* sp.

Producto	$DL_{50}$ (mL/L)	IC (mL/L)	Ecuación Probit	X <sup>2</sup>	P>X <sup>2</sup>
Jaque Mate®	NC	NC	NC	NC	NC
Fullkover®	34.58 d	31.2 - 39.4	Y=0.0756217+ (-2.6154)	7.5194	0.0232
Hongo Cero®	12.72 c	12.1 - 13.3	Y=0.1008X + (-1.2828)	47.629	0.0000
Sigatoxx®	3.67 a	3.42 - 3.89	Y=0.3090X + (-1.1341)	62.994	0.0000
Timorex Gold®	4.81 b	4.43 - 5.17	Y=0.1719X + (-0.8283)	4.3148	0.1156
Prelab GH®	-1963.24	NC	Y= -0.004399-0.08637	136.59	NC
Producto	$DL_{90}$ (mL/L)	IC (mL/L)	Ecuación Probit	X <sup>2</sup>	P>X <sup>2</sup>
Jaque Mate®	NC	NC	NC	NC	NC
Fullkover®	51.53 d	45.53-60.25	Y=0.0756217+ (-2.6154)	7.5194	0.0232
Hongo Cero®	25.43 c	24.1 - 26.9	Y=0.1008X + (-1.2828)	47.629	0.0000
Sigatoxx®	7.81 a	7.4 - 8.2	Y=0.3090X + (-1.1341)	62.994	0.0000
Timorex Gold®	12.26 b	11.6 - 13.1	Y=0.1719X + (-0.8283)	4.314	0.1156
Prelab GH®	-31091.2	NC	Y= -0.004399-0.08637	136.591	NC

Medias (± error estándar) con diferente lateral son significativamente diferentes entre sí, de acuerdo con la comparación de medias Tukey,  $\alpha=0.05$ . NC= no calculado.

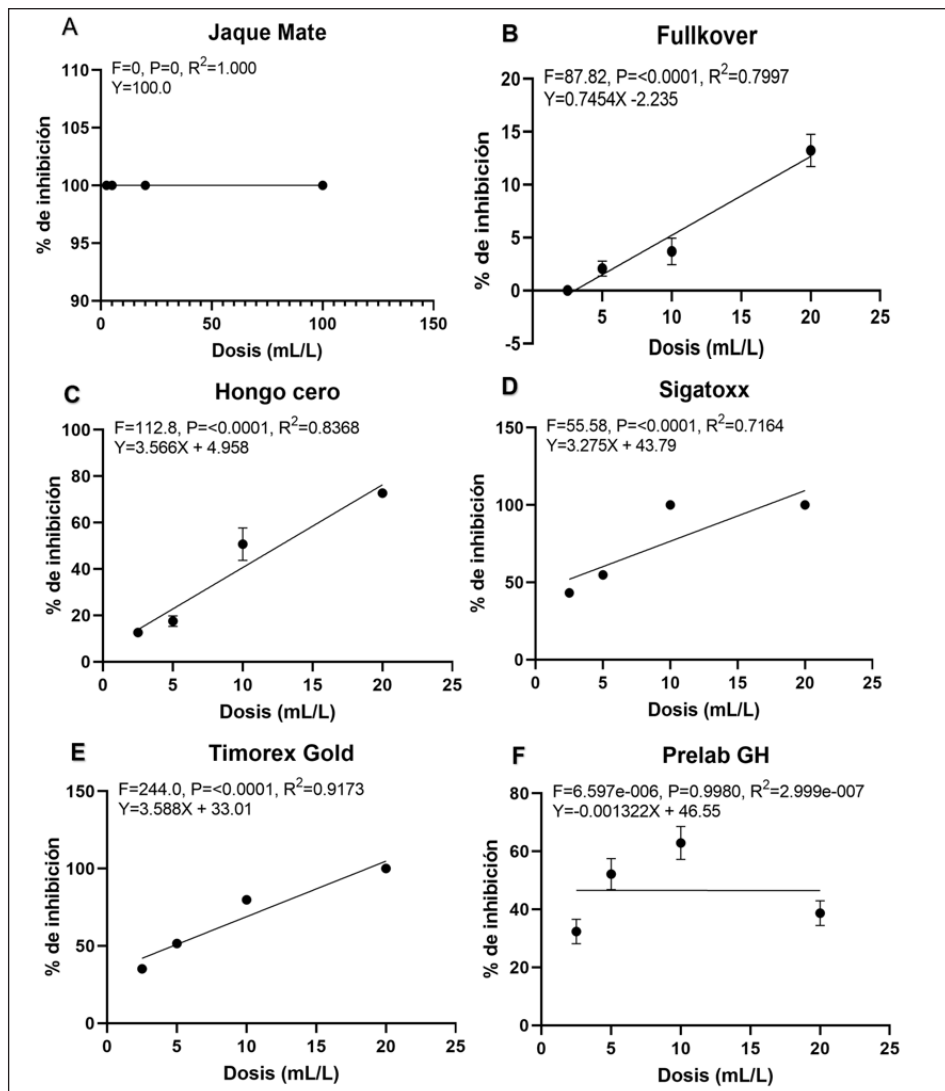
**Regresión lineal: inhibición versus dosis**

Durante el análisis de regresión lineal entre los valores del porcentaje de ICM y la dosis de los extractos vegetales, se encontró un alto coeficiente de determinación entre las dosis de Timorex gold® ( $R^2=0.91$ ,  $P=<0.0001$ , figura 3E), Fullkover®: ( $R^2=0.79$ ,  $P=<0.0001$  (figura 3B) y Hongo cero® ( $R^2=0.83$ ,  $P=<0.0001$  (figura 3C), indicando que sí existe una fuerte relación entre las dosis e inhibición del fitopatógeno de estos extractos. Asimismo, Sigatoxx® ( $R^2=0.71$ ,  $P=<0.0001$ , figura 3D) mostró una

mediana relación de la inhibición, sugiriendo que no existe una fuerte relación lineal entre el incremento de las dosis y la inhibición del crecimiento del fitopatógeno; por otro lado, Prelab GH® ( $R^2=0.00000002$ ,  $P=0.9980$  (figura 3F) indicó una muy baja relación entre las dosis utilizadas; mientras que Jaque Mate® no presentó una determinación del coeficiente (figura 3A), a modo de que las cuatro dosis presentaron el mismo porcentaje de inhibición de *Bipolaris* sp.

Figura 3

Regresión lineal entre la inhibición (%) del crecimiento de *Bipolaris* sp. y las dosis de los extractos biorracionales



## Discusión

El presente estudio constituye el primer reporte de *Bipolaris* sp. como el agente causal de la mancha foliar en palma de coco (*Cocos nucifera* L.) variedad EVB, en Tecomán, Colima, y en otras partes de México. El aislado morfológicamente posee similitud a las descripciones realizadas por Manamgoda *et al.* (2014) para el género *Bipolaris* spp., ascomycetos que se reproducen de manera asexual por medio de conidiosporas, cuyos especímenes son fitopatógenos causantes de manchas foliares en plantas de las familias *Arecaceae* y *Poaceas*. De acuerdo con Mena-Portales (2019) se tiene la existencia de al menos 47 especies de *Bipolaris* sp. que originan pérdidas económicas, donde la sintomatología de manchas foliares, amarillamiento y marchitamiento de hojas que estos autores reportan coincide con las descritas en el presente estudio.

En México, a excepción de la palma de coco, se reportan especies de *Bipolaris* en diversos cultivos; al respecto, Duveiller y Altamirano (2000) mencionaron a *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker como agente causal de la MF en *Triticum aestivum* L. (trigo). En *Avena sativa* L. (avena), Leyva-Mir *et al.* (2019) informaron de la patogenicidad de *Bipolaris victoriae* (F. Meehan & H.C. Murphy) Shoemaker causante del tizón foliar. En *Hordeum vulgare* L. (cebada) se señaló el teleomorfo de *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur (= anamorfo *B. sorokiniana*) causando MF (Romero-Cortes *et al.*, 2021) y Chávez-Valdez *et al.* (2023) señalaron a *Bipolaris yamadae* (Y. Nisik.) Shoemaker como el agente causal del tizón foliar en plantas de *Arundo donax* L. (carrizo).

En países productores de palma coco existen antecedentes que demuestran que *Bipolaris* spp. es un género que causa manchas foliares. En la India, Kamalakannan *et al.* (2006) aislaron y reportaron a *Bipolaris incurvata* (C. Bernard) Alcorn como agente causal del tizón foliar en palma de coco. En China se indicó a *Bipolaris setariae* Shoemaker como agente causal de la MF en plantas de coco de no más de tres años de edad (Niu *et al.*, 2014). En la palma *Bactris gasipaes* Kunth (palmito) se diagnosticó a *Bipolaris bicolor* Shoemaker como la especie que causa la mancha foliar en plantas jóvenes (Rodríguez-Morejón *et al.*, 1998).

En cuanto al crecimiento de la cepa aislada en PDA se observó que posee un rápido crecimiento, al llenar la caja de Petri en ocho días con 81 mm de diámetro. Este resultado no concuerda con lo reportado por Delgado y Sharly (2017), quienes encontraron un crecimiento micelial *in vitro* de 26 mm de diámetro producidas por *Bipolaris* sp., agente causal de la mancha foliar en maíz (*Zea mays* L.) a los siete días de evaluación a 25 °C.

En cuanto a la inhibición *in vitro*, no se encontraron reportes similares o investigaciones con extractos biorracionales similares a los evaluados en este estudio o sobre el género *Bipolaris*; por lo tanto, se discuten con algunas otras especies de hongos. Al respecto, Herrera-Arias y García-Rico (2016) evaluaron el extracto vegetal de aceite esencial de canela (*Cinnamomum verum* J. Presl) 40.0% + aceite de clavo (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry) 40.0%, sobre *Penicillium* sp., bajo tres dosis: 15, 10 y 5 mL/L a 37 °C. Los autores registraron el 80.0% de inhibición en el crecimiento micelial del hongo en la dosis del 15.0 mL/L, mientras que en las dosis 10.0 y 5.0 mL/L sólo presentaron una inhibición abajo de 40.0%; es decir, que a mayor dosis mejor es el

efecto. Esos resultados fueron menores comparados con los del presente estudio, ya que Jaque Mate® (aceite de canela 16.0% + aceite de clavo 4.0% + aditivos especializados 80.0%) mostraron 100% de inhibición en todas las dosis evaluadas sobre *Bipolaris* sp. Esto indica que es un buen producto biorracional para la inhibición del fitopatógeno.

En otro estudio, Ortiz-Bravo y Malo-Ceballos (2018) realizaron una investigación con el objetivo de comparar la respuesta a dos extractos de aceites esenciales de citronela [*Cymbopogon nardus* L. (Rendle)] 40.0% y eucalipto (*Cuculiptus globulus* Labill.) 20.0%, sobre *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. bajo tres dosis diferentes para cada extracto: 2.5, 5.0 y 10.0 mL/L. Los resultados indicaron que el aceite de citronela presentó una inhibición de 40.0% en todas las dosis; mientras que el aceite de eucalipto solamente mostró inhibición de 7.0 a 8.0% en las tres dosis; sin embargo, esos resultados muestran datos similares a los obtenidos en el presente estudio, ya que el extracto Fullcover®, el cual contiene aceite de citronela, no presentó inhibiciones mayores a 50.0% sobre *Bipolaris* sp. durante todo el periodo de evaluación.

Timorex Gold® es un extracto con base del árbol de té (*M. alternifolia*) que mostró inhibición de 100% sobre *Bipolaris* sp. a una dosis de 2.5 mL/L durante los ocho días de evaluación. De acuerdo con los resultados, se tiene una similitud a los reportados por Aguirre-Vega *et al.* (2022), quienes valoraron el mismo extracto sobre *Penicillium* sp. y obtuvieron un porcentaje de inhibición mayor a 90.0% en la dosis de 2.0 mL/L, mientras que en las dosis 1.0 y 1.5 mL/L presentaron porcentajes menores a 40.0%; es decir, que a mayor dosis mejor es el efecto inhibitorio contra el fitopatógeno.

Respecto a la DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub>, no existen reportes de los seis extractos vegetales comerciales evaluados en este estudio; sin embargo, Hernández-Navarro *et al.* (2021) evaluaron *in vitro* dos extractos vegetales con base de Tepescohuite [*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.] y yuca (*Quercus robur* L.) al 30% sobre *Curvularia eragrostidis* (Henn.) J.A. Mey., empleando cuatro dosis: 0.125, 0.25, 0.5 y 1.0%. Registrando la DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub> más bajos de 0.260 y 0.984%, respectivamente, en el extracto de *Q. robur* al 30.0%.

Para los extractos y aceites esenciales evaluados, se reportan algunos compuestos químicos responsables que inhiben el crecimiento de hongos y bacterias, para el caso de la canela (*C. verum*) se encuentran el eugenol, benzyl benzoato y linalol (Gayán *et al.*, 2021); para la gobernadora (*L. tridentata*), se asocian con compuestos fenólicos, lignanos y la lanolina como principales antifúngicos (Morales-Ubaldo *et al.*, 2022); para *M. alternifolia*, Xu *et al.* (2017) se reportaron siete metabolitos que afecta las membranas celulares en *Botrytis cinerea* Pers.: Fr., estas son glycyll-leucina, L-carnosina, ácido imidazoleacético, L-methionina, N-(omega)-hydroxyarginina, guanosina y deoxyadenosina. En *Aloe vera* (L.) Bum. F.; además, se reportan saponinas, antraquinona, carotenoides y fenilpropanoide como principales metabolitos secundarios asociados a la inhibición del crecimiento de microorganismos, entre ellos sobre algunos hongos (Choudhri *et al.*, 2018).

Aunque los extractos biorracionales Jaque Mate®, Sigatox® y Timorex Gold® lograron hasta un 100% de inhibición en algunas de las dosis estudiadas, en un futuro se sugieren estudios *in situ* que permitan demostrar su efectividad en la incidencia y severidad de la enfermedad, así como también de realizar los postulados de Koch, para

determinar la habilidad patogénica de *Bipolaris* sp. en plantas sanas de la variedad de coco enano verde de Brasil.

## Conclusiones

Se diagnosticó a *Bipolaris* sp., como agente causal de la mancha foliar en palma de coco var. EVB.

Los productos biorracionales con base de aceite de canela y clavo (Jaque Mate®) en todas las dosis evaluadas, el extracto de plantas aromáticas y aceites esenciales polisaturados (Sigatoxx®) en dosis de 1.0 y 2.0% y el extracto de *M. alternifolia* (Timorex gold®) en dosis de 2.0% resultaron los más efectivos y promisorios contra *Bipolaris* sp.

De acuerdo con la DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub>, el extracto de plantas aromáticas (Sigatoxx®) presentó los valores más bajos, resultando también un extracto adecuado para estudios *in situ*.

## Literatura citada

- Aguirre-Vega, R.; Alvarado-Castillo, G.; Ramírez-Benítez, M.D.; García-Pérez, J.A.; Hernández-Martínez, M.D.; Torres-Pelayo, V.D.R.; y Alarcón-Gutiérrez, E. (2022). *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of Timorex extracts against uredospore germination of *Penicillium* sp. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 40(3): 458-473.
- Baki, M.A.B; Sultana, N.; Mahmud, N.U.; Kader, M.A.; Hassani, O.; Chang, T. y Akanda, A.M. (2021). Characterization of *Pestalotiopsis* sp. causing gray leaf spot in coconut (*Cocos nucifera* L.) in Bangladesh. *Journal of Basic Microbiology*. 61(12):1085-1097.
- Benassi, A.C.; Fanton, C.J. y Nascimento, E. (2013). O cultivo do coqueiro-anão-verde: tecnologias de produção. Editorial Coordenação. Brasil. 120 p.
- Brito, D.R.B.; Pinto-Zevallos, D.M.; De Sena-Filho, J.G.; Coelho, C.R.; Nogueira, P.C.L.; Carvalho, H.W.L. y Teodoro, A.V. (2021). Bioactivity of the essential oil from sweet orange leaves against the coconut mite *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and selectivity to a generalist predator. *Crop Protection*. 148: 105737
- Cardoso, G.D.; Barreto, A.F.; Araújo, E.; Almeida, F.A. y Carvalho, R. (2003). Etiología y evolución de la mancha foliar por *Pestalotia* del cocotero (*Cocos nucifera* L.), en São Gonçalo, Paraíba. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 25: 335-336.
- Chávez-Váldez, M.J.; Fonseca-Chávez, E.; Sánchez-Ken, J.G.; Mora-Romero, G.A.; Félix-Gastelum, R.; Sánchez-Soto, B.H. y Leyva-Madrigal, K.Y. (2023). First report of *Bipolaris yamadai* causing leaf blight on giant reed (*Arundo donax* L.) in Mexico and its pathogenicity on sorghum and maize. *Journal of Plant Disease and Protection*. 130: 169-175.
- Choudhri, P.; Rani, M.; Sangwan, R. S.; Kumar, R.; Kumar, A. y Chhokar, V. (2018). De novo sequencing, assembly, and characterization of *Aloe vera* transcriptome and analysis of expression profiles of genes related to saponin and anthraquinone metabolism. *BMC Genomic*. 19: 427.
- Delgado, O. y Sharly, L. (2017). Identificación del agente causal y control químico de la mancha foliar en maíz amarillo duro (*Zea mays* L.) a nivel *in vitro*. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional San Antonio Abad, Perú. 73 p.
- Domínguez-Romero, D.; Vázquez-Rivera, H.; Reyes-Reyes, B.G.; Arzaluz-Reyes, J.I. y Martínez-Campos, A.I. (2019). Isolation and purification of ectomycorrhizal fungus *Helvella lacunosa* in different culture media. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 16(1): 20-40.
- Duveiller, E. y Altamirano, G. (2000). Pathogenicity of *Bipolaris sorokiniana* isolates from wheat roots, leaves and grains in Mexico. *Plant Pathology*. 49: 235-242.
- Gayan, K.W.; Thais, R.O.; Flavia, C.M.; Simone, B.F.; Janaina P.B.; Joia, F.; Boni, G.C., y Höfling J.F. (2021). Efficacy of true cinnamon (*Cinnamomum verum*) leaf essential oil as a therapeutic alternative for *Candida* biofilm infections. *Iranian Journal of Basic Medical Science*. 24(6): 787-795.
- Haupenthal, D.I.; Maidana-Ojeda, M.; Quintana, L.A. y Sorol, C.B. (2017). First report of *Pestalotiopsis* spp. in palmers of *Acrocomia aculeata* in Paraguay. *Tecnología Agraria*. 2(1): 41-48.



- Hernández-Navarro, E.; Agustín-Maravilla, G. Á.; Sánchez-Rangel, J. C.; Valadez-Ramírez, P.; y Chan-Cupul, W. (2021). *In vitro* evaluation of biological fungicides against *Curvularia eragrostidis*, a phytopathogenic fungus of pineapple crop. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 41(1): 93-111:
- Herrera-Arias, F.H. y García-Rico, R.O. (2016). Evaluación *in vitro* del efecto bactericida de extractos acuosos de clavo y canela sobre *Penicillium* sp. *Bistua*. 4(2): 13-19.
- Kamalakkannan, A.; Valluvaparasandam, V.; Rabindran, R.; Salaheddin, K. y Ladhakshmi, D. (2006). First report of *Bipolaris* leaf blight of coconut (*Cocos nucifera* L.) caused by *Bipolaris incurvata* in mainland India. *Plant Pathology*. 55: 579.
- Khan, M.A. y Hossain, I. (2010). Leaf spot disease of coconut seedling and its eco-friendly management. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*. 11(2): 199-208.
- Leyva-Mir, S.G.; Villaseñor-Mir, H.E.; Tovar-Pedraza, J.M. y García-León, E. (2019). Respuesta de genotipos de avena a la infección por *Bipolaris victoriae* y *Bipolaris sorokiniana*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 10(5): 1023-1034.
- Manamgoda, D.S.; Rossman, A.Y.; Castlebury, L.A.; Crous, P.W.; Madrid, H.; Chuksatiroe, E. y Hyde, K.D. (2014). The genus *Bipolaris*. *Studies in Mycology*. 79(1): 221-288.
- Manzo-Sánchez, G.; Pérez-Ocón, R.; Chan-Cupul, W.; Silva-Jiménez, E.; Sánchez-Rangel, J.A.; Ayala-Zermeño, M.A. y Galindo-Velasco, E. (2018). Antifungal activity of ethanolic extracts of propolis against *Mycosphaerella fijiensis*: an *in vitro* study. *Scientia Fungorum*. 47(19): 13-24.
- Mena-Portales, J.J. (2019). Taxonomía del complejo *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera* y *Exserohilum*. Tesis de Doctorado, Universidad de La Habana, Cuba. 137 p.
- Mohammed, A. y Labaran, M.L. (2023). Dietary inclusion of coconut and date palm fruit blend attenuate hyperglycemia, insulin resistance and diabetes-induced complications *in vivo*. *Food and Humanity*. 1: 1443-1448.
- Morales-Ubaldo, A.L.; Rivero-Pérez, N.; Valladares-Carranza, B.; Madariaga-Navarrete, A.; Higuera-Piedrahita, R.I.; Delgadillo-Ruiz, L.; Bañuelos-Valenzuela, R. y Zaragoza-Bastida, A. (2022). Phytochemical compounds and pharmacological properties of *Larrea tridentata*. *Molecules*. 27(17): 5393.
- Murillo-Cuevas, F.; Cabrera-Mírelis, H.; Adame-García, J.; Fernández-Viveros, J.A.; Villegas-Nevárez, J.; López-Morales, V.; Hernández-Vázquez, A. y Meneses-Márquez, I. (2020). Evaluación de insecticidas biorracionales en el control de mosca blanca (Hemiptera: *Aleyrodidae*). *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 1(10): 39-47.
- Navia, D.; Correa-Gondim, M.G.; Aratchige, N.S. y Moraes, G.J. (2013). A review of the status of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) a major tropical mite pest. *Experimental and Applied Acarology*. 59: 67-94.
- Niu, X.Q.; Yu, F.Y.; Zhu, H.; Qin, W.Q. (2014). First report of leaf spot disease in coconut seedling caused by *Bipolaris setariae* in China. *Plant Disease*. 98(12): 1742.
- Ortiz-Bravo, D.C. y Malo-Ceballos, I.P. (2018). Comparación *in vitro* de la actividad antifúngica de los aceites esenciales de citronella (*Cymbopogon nardus* L.) y eucalipto (*Cuculiptus globulus*) frente al agente causal (*Colletotrichum gloeosporioides*). Tesis de Licenciatura, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador. 92 p.
- Rahman, S.; Adhikary, S.K.; Sultana, S.; Yesmin, S. y Jahan, N. (2018). *In vitro* evaluation of some selected fungicides against *Pestalotia palmarum* (Cooke.) causal agent of grey leaf spot of coconut. *Journal Plant Pathology and Microbiology*. 4(9): 19-33,
- Rodríguez-Morejón, K.; Kimati, H., y Fancelli, M.I. (1998). *Bipolaris bicolor* Shoemaker: Species associated to foliar spot in pupunha palm (*Bactris gasipaes* Kunth) in Brazil. *Revista Iberoamericana de Micología*. 15(1): 55-57.
- Romero-Cortés, T.; Zavala-González, E.A.; Pérez-España, V.H.; Aparicio-Burgos, J.E.; Cuervo-Parra, J.A. (2021). Characterization of *Cochliobolus sativus* and *Pyrenophora teres* fungi belonging to the leaf spot complex of barley (*Hordeum vulgare*) isolated from barley seeds in Mexico. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Science*. 37(3): 277-289.
- SIAP. (2023). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Consultado 11 noviembre 2023).



- Teixeira, A.H. de C.; De Miranda, F.R.; Leivas, J.F.; Pacheco, E.P. y Garcon, E.A.M. (2019). Water productivity assessment for dwarf coconut by using Landsat 8 images and agrometeorological data. *IS-PRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*. 155: 150-158.
- Vaezi, A.; Fakhim, H.; Ilkit, M.; Faeli, L.; Fakhar, M.; Alinejad, V.; Wiederhold, N. P. y Badali, H. (2020). Rapid and low-cost culture-based method for diagnosis of mucormycosis using a mouse model. *Frontiers in Microbiology*. 11: 440.
- Xu, J.; Shao, X.; Li, Y.; Wei, Y.; Xu, F., y Wang, H. (2017). Metabolomic analysis and mode of action of metabolites of tea tree oil involved in the suppression of *Botrytis cinerea*. *Frontiers in Microbiology*. 8: 1017.
- Zamora-Natera, F.; García-López, P.; Ruiz-López, M. y Salcedo-Pérez, E. (2008). Composition of alkaloids in seeds of *Lupinus mexicanus* (Fabaceae) and antifungal and allelopathic evaluation of the alkaloid extract. *Agrociencia*. 42(2): 185-192.