



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas
Área Temática: Fisiología y Genética Vegetal

TESIS

Como requisito para obtener el grado de:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESPECIES DE *Hydnopolyporus* spp. IRPICACEAE
ASOCIADAS AL CULTIVO DE AGUACATE *Persea
americana* Miller (Schtdl. & Cham) S.F. Blake**

Presenta:

Ing. Angélica Cisneros Zambrano

Directora de tesis:

Dra. Ma. Blanca Nieves Lara Chávez

Morelia Mich. marzo 2023





Programa Institucional
de Maestría en
**Ciencias
Biológicas**

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

DRA. MARTHA ELENA PEDRAZA SANTOS
COORDINADORA GENERAL DEL PROGRAMA INSTITUCIONAL
DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
P R E S E N T E

Por este conducto nos permitimos comunicarle que después de haber revisado el manuscrito final de la Tesis Titulada: "ESPECIES DE *Hydnopolyporus*: IRPICACEAE ASOCIADAS AL CULTIVO DE AGUACATE *Persea americana* Miller (Schltdl. y Cham) S.F. Blake" presentado por la ING. Angélica Cisneros Zambrano con Número de Matrícula 1231378J, consideramos que reúne los requisitos suficientes para ser publicado y defendido en Examen de Grado de Maestra en Ciencias.

Sin otro particular por el momento, reiteramos a usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE
Morelia, Michoacán, a 17 de febrero
de 2023

COMITÉ SINODAL

Dra. Ma. Blanca Nieves Lara Chávez
Directora de Tesis

Dra. Margarita Vargas Sandoval
Presidente

Dra. Martha Elena Pedraza Santos
Vocal 1

Dra. Tania Raymundo Ojeda
Vocal 2

Dr. Ricardo Valenzuela Garza
Vocal 3

DEDICATORIA

A mi esposo Jesus, gracias por creer en mí y ayudarme a mantenerme en equilibrio para poder dar todo mi potencial. El trayecto hasta este punto no fue fácil pero con tu constante apoyo lo he logrado concluir.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

A la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

A la Dra. Ma Blanca Nieves Lara Chaves.

A los doctores: Tania Raymundo Ojeda, Margarita Vargas Sandoval,

Martha Elena Pedraza Santos y Ricardo Valenzuela Garza.

A mi familia y amigos.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
Resumen	v
Abstract	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
Hipótesis.....	2
Objetivo general.....	2
Objetivos específicos.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Clasificación del orden polyporales	3
2.2. Familia Irpicaceae.....	4
2.3. Tipos de descomposición de la madera.....	4
2.3.1. Pudrición marrón.....	4
2.3.2. Pudrición blanca.....	4
2.4. <i>Hydnopolyporus</i> spp.....	5
2.4.1. Características morfológicas.....	5
2.5. Identificación molecular.....	6
2.6. Identificación filogenética.....	7
2.7. Importancia del cultivo de aguacate en México.....	7
2.8. Enfermedades de raíz del aguacate.....	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS	9
3.1. Muestreo en campo.....	9
3.2. Material biológico.....	9
3.3. Caracterización agroecológica.....	9
3.4. Elaboración de medios de cultivo.....	10
3.5. Aislamiento y purificación de <i>Hydnopolyporus</i> spp.....	10
3.5.1. Siembra de material vegetativo.....	10
3.5.2. Purificación.....	11
3.6. Caracterización macro y microscópica de basidiomas.....	11

3.7.Extracción de ADN, amplificación y secuenciación.....	11
3.8.Ensamblado de las secuencias.....	13
3.9.Análisis filogenético.....	13
3.10. Conservación de cepas y preparación del inóculo.....	14
3.11. Estudio de patogenicidad.....	15
3.11.1. Obtención de las plántulas de aguacate.....	15
3.11.2. Inoculación.....	15
3.11.3. Variables respuesta.....	15
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
4.1.Aislamiento y purificación de <i>Hydnopolyporus</i> spp.....	17
4.2.Factores agroclimáticos de los sitios de recolección.....	19
4.3.Caracterización morfológica de las cepas.....	21
4.4.Caracterización morfológica de basidiomas.....	22
4.5.Caracterización molecular.....	25
4.6.Análisis filogenético.....	26
4.7.Pruebas de patogenicidad.....	28
4.7.1. Virulencia de <i>Hydnopolyporus fimbriatus</i>	29
4.7.2. Severidad de <i>Hydnopolyporus fimbriatus</i>	29
V. CONCLUSIONES.....	31
VI. LITERATURA CITADA.....	32

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Primers usados en la caracterización molecular de hongos poliporoides asociados a árboles de aguacate con síntomas de pudrición blanca.....	13
2	Características de los sitios donde se encontraron basidiomas de <i>Hydnopolyporus</i> spp., huertos de aguacate ubicados en municipios de Michoacán, México	19

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Síntomas y signos de <i>Hydnopolyporus</i> spp. en árboles de aguacate.....	18
2	Factores agroclimáticos de los sitios de recolección de basidiomas de <i>Hydnopolyporus</i> spp. y tejido vegetal (raíz, tallo y corona) de árboles infectados, en la franja aguacatera de Michoacán México.....	21
3	Cepas de <i>Hydnopolyporus</i> spp., en medio de cultivo PDA, aisladas de raíz, tallo y corona de árboles de aguacate con síntomas de pudrición blanca.....	22
4	Estructuras macro y microscópicas de <i>Hydnopolyporus fimbriatus</i> recolectados en San Andres Coru de árboles de aguacate con síntomas de pudrición blanca.....	24
5	Morfología de basidiomas de <i>Hydnopolyporus fimbriatus</i>	25
6	Árbol filogenético de máxima verosimilitud para las cepas del genero <i>Hydnopolyporus</i> recolectados de árboles de aguacate en la franja aguacatera.....	27
7	Síntomas y signos en plántulas de aguacate inoculadas con cepas de <i>Hydnopolyporus fimbriatus</i>	28
8	Virulencia de 19 cepas de <i>Hydnopolyporus fimbriatus</i> aisladas en huertos de aguacate inoculadas en plántulas de aguacate (Tukey $\alpha=0.05$ %)......	29

RESUMEN

En la presente investigación el objetivo fue identificar al hongo causante de la muerte de árboles de aguacate con síntomas de pudrición blanca. Se muestrearon varios huertos de aguacate en Michoacán, México, con síntomas de la enfermedad, se observaron basidiomas de *Hydnopolyporus* spp., asociados al sistema radicular y el tronco de los árboles. Se tomaron muestras de basidiomas de diferentes municipios y zonas los cuales fueron evaluados por sus caracteres: morfológicos, moleculares y de patogenicidad (severidad y virulencia de los síntomas). La identificación morfológica y taxonómica se realizó a partir de los basidiomas recolectados en campo, se tomaron en cuenta los datos macromorfológicos de tamaño, consistencia, color, todo ello en las diferentes partes del basidioma (píleo, contexto, himenoforo y estípite) así como sus características culturales en medio de cultivo PDA. En la identificación molecular se usaron los primers ITS (ITS4/ITS5) LSU (LOR0f/LR5r), RPB2 (Brpb2-6r2/Brpb2-7r2) y EF-1 α (EF1-B-F1/EF1-B-R), para las pruebas de patogenicidad se utilizaron plántulas de aguacate sanas de *Persea americana* Mill. var. *drymifolia*. De las muestras tomadas en campo se obtuvieron 19 cepas puras identificadas morfológicamente como *Hydnopolyporus fimbriatus*, estas colonias desarrollaron un crecimiento tipo algodonoso y corchoso, en algunos casos postrado al medio de cultivo. Posteriormente se evaluó la patogenicidad de las cepas los primeros síntomas en las plántulas de aguacate se presentaron a los 14 días a partir de su inoculación, todos los aislamientos produjeron síntomas como los observados en campo, las cepas H5 y H8 causaron la muerte de las plántulas a los 77 días. Se obtuvieron cuatro fragmentos de genes por cada muestra y fueron utilizados para la identificación molecular y los análisis, por comparación Blast se identificó la especie *Hydnopolyporus fimbriatus*. Filogenéticamente con todos los fragmentos de genes concatenados se agrupó en un solo clado monofilético, emparentado con los géneros *Emmia*, *Flavodon* e *Irpex*.

Palabras claves: secuencia, *fimbriatus*, síntomas, filogenético, genes, fitopatogeno.

ABSTRAC

In the present investigation, the objective was to identify the fungus that causes the death of avocado trees with symptoms of white rot. Several avocado orchards in Michoacan, Mexico, with symptoms of the disease, were sampled; basidiomas of *Hydnopolyporus* spp. were observed, associated with the root system and the trunk of the trees. Samples of basidiomas from different municipalities and areas were taken and evaluated for their characters: morphological, molecular, and pathogenic (symptom severity and virulence). The morphological and taxonomic identification was made from the basidiomas collected in the field, taking into account the macromorphological data of size, consistency, color, all in the different parts of the basidioma (cap, context, hymenophore and stipe) as well as their cultural characteristics in PDA culture medium. In the molecular identification, the primers ITS (ITS4/ITS5), LSU (LOR0f/LR5r), RPB2 (Brpb2-6r2/Brpb2-7r2) and EF-1 α (EF1-B-F1/EF1-B-R) were used for the tests. For pathogenicity, healthy avocado seedlings of *Persea americana* Mill. Var. *Drymifolia*. From the samples taken in the field, 19 pure strains identified morphologically as *Hydnopolyporus fimbriatus* were obtained. These colonies developed a cottony and corky type of growth, in some cases prostrate to the culture medium. Subsequently, the pathogenicity of the strains was evaluated, the first symptoms in the avocado seedlings appeared 14 days after their inoculation, all the isolates produced symptoms like those observed in the field, the H5 and H8 strains caused the death of the seedlings. At 77 days. Four gene fragments were obtained for each sample and were used for molecular identification and in the analysis, by Blast comparison the species *Hydnopolyporus fimbriatus* was identified with 99% identity. Phylogenetically, with all the concatenated gene fragments, it was grouped into a single monophyletic clade, related to the genera *Emmia*, *Flavodon* and *Irpex*.

Key words: sequence, *fimbriatus*, symptoms, phylogenetic, gen, phytopathogen.

I. INTRODUCCIÓN

Existen más de 8, 000 especies de hongos que pueden causar enfermedades en las plantas (Muñiz-Villareal, 2014) Las especies del género *Hydnopolyporus*, forman parte del phylum Basidiomycota, se caracterizan por dañar el sistema radicular de diferentes especies de plantas en todo el mundo, el mecanismo que emplean para degradar sustrato es por medio de un complejo enzimático degradador de lignina, celulosa y hemicelulosa que da como resultado el síntoma de pudrición blanca en las partes afectadas de la planta, por la apariencia que deja en el tejido muerto (He *et al.*, 2019), sus basidiomas se encuentran principalmente en corona, tallo y raíz de árboles vivos y sobre tocones de árboles muertos (Fidalgo, 1963). El género *Hydnopolyporus* se han registrado en diversas partes del mundo principalmente en bosques de pino-encino (Binder *et al.*, 2013; Mayer, 2016; Vu *et al.*, 2019).

Los basidiomicetos constituyen una parte integral de los bosques, muchas especies están reportadas como fitopatógenos en árboles maderables y plantaciones agronómicas (Angelini *et al.*, 2015; Mujica *et al.*, 2020). Actualmente los bosques en el estado de Michoacán han sufrido un cambio de uso de suelo de pino-encino a monocultivos de aguacate, debido a la gran derrama económica que genera. De acuerdo con los datos reportados por Molina *et al.*, (2019) estas plantaciones se han expandido 10,81% no obstante la cobertura de bosque primario mostro una reducción de 15,06% en zonas como Uruapan y Tancítaro. Las alteraciones con respecto al cambio de vegetación han afectado a los microorganismos nativos del suelo, estos se ven obligados a adaptarse a este cultivo (Toledo *et al.*, 2009).

El sistema radicular de los árboles de aguacate es muy susceptibles al ataque y severidad de fitopatógenos, debido al estrés hídrico como la falta de agua por periodos prolongados y posteriormente riegos abundantes, algunos de los síntomas más severos son: taponamiento de los haces vasculares, destrucción de las raíces de sostén y alimenticias, así como debilitamiento de la base de los troncos, como resultado existe un marchitamiento y la reducción en la parte aérea, seguido en ocasiones por un amarillamiento o clorosis del follaje. En este sentido, se han registrado algunas especies de fitopatógenos del reino Chromista y Fungi asociados al tallo y sistema radicular del cultivo de aguacate como: *Phytophthora cinnamomi* Rands que causa la enfermedad más importante y destructiva del aguacate (Lara, 2008) además de *Fusarium oxysporum* Smith y Swingle (Olalde *et al.*, 2020), recientemente se han reportado como problemas fitosanitarios en aguacate los basidiomicetos *Armillaria ostoyae* (Romang.) Herink, *Armillaria mellea* (Vahl) P. Karst. (Ordaz, 2017) *Ganoderma curtisii* (Berk.) Murrill y *Ganoderma australe* (Fries.) Patouillard (Mendoza, 2021) estos

hongos han representado un problema grave para varias plantaciones agronómicas y maderables debido a su fácil y rápida diseminación además de que pueden persistir durante años en las raíces de los árboles muertos, las cuales quedan enterradas en el suelo después de eliminar los árboles infectados (Prospero *et al.*, 2004). Esto a menudo provoca la disminución de la producción o en algunos casos la pérdida total del cultivo (Old *et al.*, 2000).

La mayoría de estas especies de fitopatógenos ocasionan síntomas muy similares por lo cual su identificación se ha vuelto compleja y en ocasiones se llegan a confundir, sin embargo para cada caso hay signos y características propias que las diferencian unas de otras por lo tanto es de vital importancia el estudio de cada una de ellas (Morales, 2019).

De acuerdo en la literatura revisada durante la realización de este trabajo, en la actualidad, no existen reportes acerca de la patogenicidad y sintomatología ocasionada por el género *Hydnopolyporus* en ningún cultivo de interés agrícola debido a esto es necesario el estudio de manera estricta de este basidiomiceto como fitopatógeno de árboles de aguacate; por lo anterior se plantea la siguiente hipótesis y objetivos para la presente investigación.

Objetivo general

Determinar especies de género *Hydnopolyporus*, causantes de la pudrición blanca en *Persea americana* Mill var. *drymifolia*, mediante la recolección de muestras de campo y su análisis taxonómico, molecular y de patogenicidad, presentes en árboles de aguacate de la franja aguacatera del estado de Michoacán, para la identificación de su diversidad.

Objetivos específicos

- Identificar las especies de *Hydnopolyporus* spp., presentes en el cultivo de aguacate, mediante técnicas morfológicas y moleculares para la determinación de su diversidad en la franja aguacatera del estado de Michoacán, México.
- Caracterizar los síntomas de *Hydnopolyporus* spp., en plántulas de *Persea americana* Mill Var. *drymifolia* por medio de pruebas de patogenicidad, para la identificación de sus diferentes etapas mediante su sintomatología.

Hipótesis

La familia Irpicaceae comprende especies fitopatógenas en raíz y tronco de *Persea americana* Mill. Var. *drymifolia* que ocasionan pudrición blanca.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Clasificación del orden polyporales

El phylum Basidiomycota constituye un grupo de hongos considerados superiores por su complejidad morfológica y la presencia de basidiomas, característica principal que define su identificación y clasificación taxonómica. Este phylum contiene alrededor de 32% de los hongos descritos y está constituido por tres subphylum (Ustilaginomycetes, Pucciniomycetes, Agaricomycetes). Del subphylum Agaricomycota se conocen alrededor de 21 mil especies de macromicetos; saprófitos, fitopatógenos y mutualistas con una gran variedad de formas de basidios (Hibbett *et al.*, 2014) desde agaricoides a gelatinosos (Kirk *et al.*, 2008).

Muchas especies de Agaricomycota juegan un papel muy importante en los ecosistemas forestales al descomponer madera y hojarasca, proceso esencial para el ciclo de nutrientes y la formación de humus en los suelos forestales (Berg y McClaugherty, 2008). Algunos miembros de agaricomycota producen los basidiomas más grandes (*Bridgeoporus nobilissimus*, *Rigidoporus ulmarius*) y las redes de micelio más extensas y longevas en los hongos (*Armillaria gallica*) (Hibbett, 2007).

El orden polyporales es un grupo muy diverso del subphylum Agaricomycota está conformado por 18 familias y 285 géneros, en el mundo se conocen alrededor de 2,000 especies (He *et al.*, 2019), caracterizadas por presentar un himenóforo con poros circulares, irpiciformes, laberintiformes o laminares; de consistencia subcarnosa a leñosa; pueden ser anuales, bienales o perennes, resupinados, sésiles, efuso-reflejados o pileados a estipitados y de hábito solitario o gregario (Ryvarden, 1991). Estos hongos aparecieron aproximadamente hace 300 millones de años (Zhu *et al.*, 2004). En 1753 Linnaeus inicio su clasificación y dio énfasis a la constitución del basidioma y la configuración del himenóforo, describió 86 especies con el himenio poroso y basidioma carnoso usando el término Boletus (Larsson, 2007; Zhu *et al.*, 2004; Gilbertson y Ryvarden, 1986).

En la actualidad es el clado más estudiado en el reino fungi de acuerdo con el Mycobank; entre el 2010 y el 2017 hubo alrededor de 577 propuestas taxonómicas en polyporales incluidos 42 géneros nuevos y una nueva familia Fragiliporaceae (Zhao *et al.*, 2015). Día a día hay nuevas investigaciones acerca de los poliporales y se descubren especies nuevas con diferentes actividades biológicas en la naturaleza.

2.2 Familia Irpicaceae

La familia Irpicaceae (Polyporales) engloba hongos macroscópicos, xilófagos, poliporoides, ampliamente distribuidos en biomas terrestres donde juegan un papel fundamental en la degradación de celulosa y lignina (Justo *et al.*, 2017). Esta familia está conformada por 14 géneros (*Byssomerulius*, *Ceriporia*, *Cytidiella*, *Efibula*, *Emmia*, *Flavodon*, *Gloeoporus*, *Hydnopolyporus*, *Irpex*, *Leptoporus*, *Meruliopsis*, *Raduliporus*, *Resiniporus*, *Trametopsis*) (He *et al.*, 2019), en su mayoría, son anuales o perenes, presentan un basidioma pileado, (*Trametopsis*), resupinado (*Gloeoporus*) y estipitado (*Hydnopolyporus fimbriatus*), su himenóforo puede presentarse en cuatro formas diferentes; poroide, dealoide/lamelado, liso e hidnoide (Justo *et al.*, 2017; Sjökvist *et al.*, 2012), su sistema hifal es mayormente monomitico pero algunas especies muestran un sistema hifal dimitico (*Flavodon*, *Irpex*, *Trametopsis*) esta característica influye en la longevidad y consistencia de los basidiomas, el modo de descomposición en la familia Irpicaceae es uno de los caracteres más estables (Gilbetson y Ryvarden, 1986; Justo *et al.*, 2017).

2.3 Tipos de descomposición de la madera

La forma de descomposición de la familia Irpicaceae, se divide en dos grupos principales en relación con el tipo de degradación que provocan en el tejido leñoso: pudrición marrón y blanca (Eastwood *et al.*, 2011).

2.3.1 Pudrición marrón

Los hongos que ocasionan “pudrición marrón” utilizan enzimas oxidativas o metabolitos secundarios para producir peróxido de hidrógeno y poco a poco degradar la celulosa y la hemicelulosa, lo cual deja únicamente la lignina, este hecho es el que le confiere a este tipo de pudrición el color característico marrón oscuro dado que la lignina queda como residuo de esta degradación (Clausen y Kartal, 2003).

2.3.2 Pudrición blanca

El término “pudrición blanca” se ha utilizado para describir formas de descomposición de la madera en las que esta adquiere un aspecto blanqueado y en la que se descompone la lignina, así como la celulosa y la hemicelulosa no obstante las tasas relativas de degradación de la lignina y la celulosa difieren considerablemente, a este proceso se le denomina deslignificación selectiva.

Los basidiomicetos que ocasionan pudrición blanca degradan completamente la lignina de

una manera eficiente y rápida, transformándola en dióxido de carbono y agua a diferencia de otros hongos y bacterias (Cullen y Kersten, 2004). Estos hongos descomponen la lignina gracias a procesos oxidativos por medio de fenoloxidasas liberadas por las hifas, como lacasa, tirosinasa y peroxidasa. La celulosa se descompone más lentamente que en el proceso de la podredumbre marrón, durante la deslignificación selectiva la consistencia de la madera descompuesta se vuelve fibrosa y pierde rigidez (Schwarze *et al.*, 2000).

Las reacciones degradativas involucradas en la pudrición blanca son realizadas por enzimas lignocelulolíticas capaces de difundirse en el sustrato a moléculas más simples, una vez que estas enzimas han degradado los polímeros, las partículas de bajo peso molecular son liberadas y pueden difundirse a las hifas donde se metabolizan intracelularmente (Boyce, 1961). Los fitopatógenos de “pudrición blanca” penetran en las raíces y tallos a través de heridas (Schwarze *et al.*, 2000), son capaces de invadir el albura y el cámbium de sus hospederos, lo que provoca su muerte (Gilbertson y Ryvarden, 1986). El control de estos fitopatógenos que pudren la raíz ha sido un problema difícil debido al alto costo de los métodos directos, como la aspersión al suelo y la eliminación de tocones con sus extensos sistemas radiculares muertos (Gilbertson y Ryvarden, 1986).

2.4 *Hydnopolyporus* spp.

El género *Hydnopolyporus* es un miembro poco estudiado de la familia Irpicaceae con solo dos especies reportadas en el mundo *H. fimbriatus* e *H. palmatus*, los cuales producen pudrición blanca como mecanismo para degradar sustrato en raíz y tallo de árboles de hoja ancha (Gilbertson y Ryvarden 1986; He *et al.*, 2019). Las especies de este género se han observado adheridos principalmente sobre tocones de árboles muertos, en corona, tallo y raíz de árboles vivos como: *Hevea brasiliensis* (Kunth) Mull. Arg. (Fidalgo, 1963) *Quercus humboldtii* Kotschy ex A. DC., *Myrcianthes leucoxylla* (Ortega) McVaugh, *Eucalyptus globulus* Labill. (Wright y Alberto, 2006), *Tipuana tipu* (Benth.) O. Kuntze (Moreno-Rivas y Díaz-Lezcano, 2021); Es relativamente común verlos proliferar en ambientes perturbados (Stamets, 1996), como lo son zonas urbanas y de cambio de uso de suelo (Guzmán, 2008).

2.4.1 Características morfológicas

Morfológicamente sus basidiocarpos son anuales, pileados, irregulares a menudo como pequeñas rosetas con píleo fimbriado, en forma de abanico y una base o estípote contraída estéril cespitoso, píleos individuales, flexibles, superficie superior velutinada que se vuelve glabra, azonada a zonada centralmente, lisa a radialmente estriada, de color blanco que se

obscorece al secarse, margen muy delgado, fimbriado a dividido irregularmente, a menudo más oscuro que las partes basales del píleo, superficie de los poros variable, casi lisa, papilada, irpicoide, hidnoide a poroide, en este último caso con poros angulares a sinuosos contexto delgado y dúplex difícil de observar, capa superior suave, la inferior más densa, sistema hifal monomitico hifas generativas con septos simples, sin fíbulas, carecen de cistidios, basidios clavados, basidiósporas ampliamente elipsoides a ovoides, conidios similares. La especie *Hydnopoliporus palmatus* presente un sistema hifal trimitico, no presentándolo *Hydnopolyporus fimbriatus* (Reid, 1976).

2.5 Identificación molecular

La caracterización molecular, mediante el estudio de secuencias del ADN ha proporcionado información valiosa para varios grupos de basidiomicetos (Culley y Wolfe, 2001). Los Polyporales es un Orden altamente polimórfico (Ryvarden, 1991), en el cual las características como el tamaño, color, etc. del basidioma, no son caracteres fiables, lo que hace que la construcción de cualquier clave dicotómica basada en características morfológicas sea muy difícil de manejar, por lo tanto, la descripción morfológica de una especie debe ir acompañada del análisis molecular que respalde la identificación del espécimen (Calle, 2017).

De acuerdo con Shenoy *et al.* (2007), los datos moleculares basados en secuencias de ADN son un recurso clave en la identificación de hongos a nivel de especie, independientemente de la etapa de desarrollo en la que se encuentren, si presentan plasticidad morfológica o del medio de cultivo donde se obtenga. La región del ADN más utilizado para estudios filogenéticos de hongos es el ADN ribosómico, el cual se organiza en aproximadamente 200 repeticiones en tándem por núcleo (Butler y Metzzenberg, 1989). En esta región se localizan tres genes (18S, 5.8S y 28S) y dos espaciadores transcritos (ITS1e ITS2) que se transcriben como una unidad (Berbee, 2001).

Los genomas fúngicos son generalmente más grandes que los genomas procarióticos con un tamaño que oscila entre 9 Mb y 178 Mb porque contienen grandes cantidades de ADN no codificante y repetitivo (Mohanta y Bae, 2015). Se ha demostrado que son divergentes, incluso entre miembros del mismo género (Galagan *et al.*, 2005), y de naturaleza dinámica (Dujon *et al.*, 2004; Kellis *et al.*, 2004; Strobe *et al.*, 2015). Los estudios ya realizados en comunidades metagenómicas fúngicas a menudo se han limitado a niveles genéricos o superiores (Cui *et al.*, 2013; Geml *et al.*, 2014; Tedersoo *et al.*, 2014; Nguyen *et al.*, 2015;

Botschuijver *et al.*, 2017), limitando nuestra comprensión del papel de las especies de hongos en nuestros ecosistemas.

2.6 Identificación filogenética

Los hongos resupinados o corticioides pueden ser difíciles de clasificar incluso a nivel de familia en función de sus características morfológicas (Larsson, 2007; Larsson *et al.*, 2004). La filogenética molecular ha llevado a una revisión sustancial de la ubicación de muchos taxones dentro de Polyporales, (Binder *et al.*, 2013; Floudas y Hibbett, 2015; Justo *et al.*, 2017). Este problema está bien ilustrado por la familia Irpicaceae (Spirin, 2003). Dentro de las filogenias multigénicas de Irpicaceae, también es evidente que quedan por nombrar varios clados claramente delineados dentro de esta familia (Justo *et al.*, 2017). *Hydnopolyporus* comprende un género cuyas relaciones filogenéticas no se han podido esclarecer ya que los primers utilizados actualmente no brindan información suficiente para dilucidar las relaciones de este género, debido a esto es necesario enriquecer las secuencias que se encuentran actualmente en las bases de datos para lograr una correcta identificación (Justo *et al.*, 2017; He *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2021).

2.7 Importancia del cultivo de aguacate en México

El cultivo de aguacate en la actualidad es uno de los más importantes en México, el consumo de su fruta ha tenido un notable incremento en los últimos años debido a su sabor, textura y propiedades alimenticias, como resultado Estados Unidos, Canadá, China, Japón, y algunos países europeos aumentaron sus importaciones de manera sostenida en la última década 172%, lo que ha incrementado las exportaciones mexicanas, según datos del SIAP para el 2021 hubo una producción a nivel nacional de 2, 448,279.15 t, esta alta productividad se da en ambientes templados de estados como Michoacán, Nayarit y Jalisco (Salinas *et al.*, 2021); el primero es considerado el área productora más grande del mundo con una superficie sembrada de 174, 992.35 ha (SIAP, 2021), para aguacate de la variedad *hass* por lo que la derrama económica que genera este cultivo ha incentivado el cambio de uso de suelo, de forestales hacia cultivos de aguacate (Paré, 2010), es decir se ha expandido 10,81%, no obstante, la cobertura de bosque primario mostró una reducción de 15.06% (Molina *et al.*, 2019). El remplazo de áreas naturales por zonas urbanizadas o cultivos de interés agronómico afecta la composición de las comunidades arbóreas, generalmente favorece la ocurrencia de especies vegetales exóticas. Esto tiene implicaciones directas en la estructuración de las comunidades de hongos fitopatógenos que hospedan estas especies

arbóreas (Heredia *et al.*, 2014).

2.8 Enfermedades de raíz del aguacate

Las alteraciones provocadas con respecto al cambio de vegetación han afectado a los microorganismos nativos del suelo obligándolos a adaptarse a cultivos como aguacate (Toledo *et al.*, 2009). Estos problemas fitosanitarios son también debido a la falta de agua por periodos prolongados seguidos de riegos abundantes, algunos de los síntomas más severos son: taponamiento de los haces vasculares o bien, una destrucción de las raíces, lo que propicia la no circulación de los nutrientes y el agua, esto da como resultado un marchitamiento en la parte aérea, seguido en ocasiones por un amarillamiento o clorosis del follaje, sin embargo para cada fitopatógeno hay signos y características propias que las diferencian unas de otras (Morales, 2009). En el estado de Michoacán recientemente se ha observado la presencia de basidiomas de *Hydnopolyporus* spp. sobre el tallo, corona y raíces de árboles de aguacate

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en campo (franja aguacatera), laboratorio e invernadero de Fitopatología de la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” perteneciente a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en la ciudad de Uruapan, Michoacán.

3.1 Muestreo en campo

En campo, se hicieron 30 muestreos de raíces de árboles de aguacate infectados, se llevaron a cabo entre los meses de mayo a septiembre en 11 localidades de 10 municipios pertenecientes a la franja aguacatera del estado de Michoacán, localizada en la provincia fisiográfica del sistema volcánico transversal entre los paralelos 18° 45' y 20° 6' Latitud Norte y los meridianos 101° 47' y 103° 13' de Longitud Oeste (Gutiérrez-Contreras *et al.*, 2010). En cada sitio se tomaron las lecturas de localización y altura con ayuda de un GPS Garmin Oregon 450.

3.2 Material biológico

De los muestreos en campo se obtuvieron 92 muestras de basidiomas y tejido vegetal (raíz, tallo y corona) se recolectaron de árboles con síntomas iniciales de amarillamiento, así como la presencia de pudrición suave en el tronco a la altura del cuello, y signos del fitopatógeno (micelio y basidiomas), con ayuda de herramienta previamente desinfectada entre cada toma. Las muestras de tejidos se depositaron en bolsas resellables, se etiquetaron de acuerdo con el orden de recolección, nombre del huerto y municipio; en caso de raíces la recolección se llevó a cabo junto con una muestra del sustrato de donde se extrajo para evitar la pérdida de humedad. Todas las muestras se llevaron al laboratorio de fitopatología de la facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” de la UMSNH, para su posterior procesamiento, el cual se llevó cabo de acuerdo con el protocolo descrito por Fuentes *et al.* (1997). Los basidiomas se secaron en estufa de convección a 50 °C, se observaron diariamente para que no se dañara por el calor, finalmente se etiquetaron según su procedencia y se guardaron, para realizar su identificación taxonómica.

En el caso de las muestras de tejido vegetal (raíz, tallo y corona) se almacenaron en un refrigerador a una temperatura de 4 °C, para que el material no sufriera daños a causa de saprófitos asociados, para después ser procesado.

3.3 Caracterización agroecológica

De acuerdo con la ubicación de los huertos donde se realizaron las recolectas, se elaboraron

mapas para identificar las características agroecológicas presentes en cada sitio de muestreo, se consideraron los siguientes elementos y/o factores agroecológicos: altitud sobre el nivel del mar, tipo de suelo, tipo de clima, temperatura media anual, precipitación pluvial, presencia de heladas, frecuencia anual de granizadas y tipo de vegetación.

La construcción de los mapas de cada factor y/o elemento climático incluido en el presente trabajo de investigación se hizo mediante una modificación de Gutiérrez-Contreras *et al.*, (2010), con los paquetes computacionales, Corel Draw v 24.2.1, Autocad v 2000 e IDRISI v 3.2, la fuente de información utilizada fue la cartografía publicada por el INEGI (1988) a una escala de 1:500,000. La superficie de la franja aguacatera del estado de Michoacán fue determinada utilizando la información del censo de aguacate hecho por la Comisión Michoacana de Aguacate (COMA), actualizada hasta el 25 de julio de 2020.

3.4 Elaboración de medios de cultivo

Para la siembra y aislamiento del fitopatógeno se elaboró medio de cultivo PDA, una vez aisladas las cepas de interés se transfirieron para su conservación a medio de cultivo PDA Malta-agar. Los medios se esterilizaron en una autoclave a 121 °C y 15 lb de presión durante 20 minutos. Una vez que alcanzó la temperatura adecuada para su manejo, se vació en cajas Petri Klinikus® de 100 x 15 mm y 60 x 15 mm en una campana de flujo laminar y se expuso a luz UV hasta que solidificó, se guardaron en bolsas de plástico, se etiquetaron con fecha de elaboración y tipo de medio nutritivo, se almacenaron en un refrigerador a 4 °C constantes hasta su uso.

3.5 Aislamiento y purificación de *Hydnopolyporus* spp.

3.5.1 Siembra de material vegetativo

El aislamiento de las cepas de *Hydnopolyporus* se realizó a partir de basidiomas y tejido vegetal (raíces, tallo y corona), de árboles enfermos, de acuerdo con los protocolos descritos por Trigiano *et al.* (2004) y Agrios (2005). Se realizaron dos tipos de siembra: la primera a partir de basidiomas se hizo mediante la transferencia directa a partir de la parte interna no contaminada a cajas Petri con medio de cultivo PDA adicionado con 2 mL⁻¹/L de ácido tartárico. La segunda siembra consistió en el lavado y desinfección de fragmentos de raíz, tallos y corona con hipoclorito de sodio al 30%, seguido de tres lavados con agua destilada estéril. Posteriormente los fragmentos se colocaron en papel sanita estéril para absorber el exceso de agua, a continuación, se colocaron cinco trozos de tejido vegetal de 0.5 cm

aproximadamente de forma equidistante en una caja Petri con medio de cultivo PDA.

3.5.2 Purificación

A los tres días posterior a la siembra se observó crecimiento micelial y se tomaron puntas de hifa con ayuda de un bisturí estéril del número 11 y un estereoscopio, se transfirieron a otras cajas Petri con medio de cultivo PDA, con la finalidad de garantizar la pureza de las cepas, finalmente para la identificación morfológica se transfirieron nuevamente a medio de cultivo PDA Malta-agar.

3.6 Caracterización macro y microscópica de basidiomas

Para la caracterización macroscópica de los basidiomas de *Hydnopolyporus* se utilizaron las claves sinópticas Largent *et al.* (1973) y Gilbertson y Ryvar den (1986), de las diferentes partes del basidioma (píleo, contexto, himenoforo y estípite) en estado fresco se tomaron en cuenta los datos macro-morfológicos de; tamaño, textura, consistencia y color. Los códigos de color alfanuméricos se tomaron de acuerdo con la guía de Kornerup y Wanscher (1978). Los colores se compararon a la luz del día, después se deshidrataron los ejemplares con la ayuda de una estufa eléctrica hasta peso constante, según el tamaño, consistencia y humedad de estos. El material así tratado se describió microscópicamente, para lo cual se observaron preparaciones de cortes longitudinales y transversales de las diferentes partes del basidioma, en las cuales se determinó el sistema hifal, la presencia o ausencia de fíbulas, cistidios, basidios y esporas, así como las características de estas estructuras tamaño, forma, color, grosor de las paredes, ornamentación y reacciones macroquímicas en KOH 5%. El método para determinar el rango y forma de las basidiosporas fue el descrito por Largent *et al.* (1973). Se midieron 30 esporas por muestra (largo x ancho) y dadas como un rango con el símbolo \bar{X} representando valores medios para finalmente obtener el coeficiente \bar{Q} . Para favorecer la observación de las estructuras antes mencionadas se empleó floxina 1%.

3.7 Extracción de ADN, amplificación y secuenciación

La extracción de ADN se realizó a partir de los basidiomas secos recolectados en campo, mediante el protocolo de Martínez-Gonzales *et al.* (2017). La amplificación se realizó con ayuda de primers diseñados, para realizar identificación de hongos, se utilizarán cuatro marcadores moleculares diferentes, el espaciador transcrito interno (ITS), la subunidad grande ribosomal (LSU), la segunda subunidad más grande del gen de la ARN polimerasa II (rpb2) y el factor de traducción de elongación de traducción 1- α (tef1). Los cebadores

utilizados fueron ITS (ITS4/ITS5) (White *et al.*, 1990), LSU (LOR0F/LR5r) (Vilgalys y Hester 1990), *rpb2* (bRPB2-6R2/bRPB2-7R2) (Matheny *et al.*, 2007) y *tef1*. (EF1-B-F1/EF1-B-R) (Wu *et al.*, 2014), con base a la literatura consultada, estos han sido utilizados en particular para la identificación de fitopatógenos, como los causantes de pudrición blanca (Cuadro 1).

La reacción de PCR contenía lo siguiente: tampón enzimático 1x, ADN polimerasa Taq, 0.8 desoxinucleósidos trifosfatos (0.2 mM cada uno), 100 ng de ADN 20 pmol de cada cebador y 2 unidades de ADN GoTaq (Promega, EE. UU.), con un volumen final de 15 μ l. La amplificación de cada gen se realizó mediante un ciclo de desnaturalización a 94 °C por 4 min, 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 45 seg, hibridación por 1 min a la temperatura específica de cada gen y una extensión a 72 °C durante 5 min. Todas las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador Peltier PTC-200 (BIORAD, México).

Los productos de PCR se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa. Los geles se corrieron durante 1 h a 95 V cm^{-3} en agarosa al 1.5% y tampón TAE 1x (Tris Acetato-EDTA). El gel se tiñó con GelRed (Biotium, EE. UU.) y las bandas se visualizaron en un transiluminador Infinity 3000 (Vilber Lourmat, Alemania). Los productos amplificados se purificaron con el kit ExoSAP Purification (Affymetrix EE. UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se cuantificaron y prepararon para la reacción de secuencia utilizando un BigDye Terminator v. 3.1 (Applied Biosystems, EE.UU.). Estos productos fueron secuenciados en ambas direcciones con un Applied Biosystem modelo 3730XL (Applied BioSystems, USA), en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Las secuencias obtenidas se compararon con los cromatogramas originales para detectar y corregir posibles errores de lectura.

Cuadro 1. Primers usados en la caracterización molecular de hongos poliporoides asociados a árboles de aguacate con síntomas de pudrición blanca.

Primers	Secuencias (5'-3')	Referencia
ITS4	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	White <i>et al.</i> , 1990
ITS5	TCCTCCGCTTATTGATATGC	White <i>et al.</i> , 1990
LOR0F	ACCCGCTGAACTTAAGC	Vilgalys y Hester 1990
LR5r	ATCCTGAGGGAACTTC	Vilgalys y Hester, 1990
bRPB2-6R2	GGRCANACCATNCCCCARTG	Brando <i>et al.</i> , 2006
bRPB2-7R2	ACYTGRTRTRTGRTCNGGRAANGG	Brando <i>et al.</i> , 2006
EF1-B-F1	AGCATGGGKCTCGAYAAGCT	Gang <i>et al.</i> , 2014
EF1-B-R	CGTGRTGCATTTTCYACGGAA	Gang <i>et al.</i> , 2014

3.8 Ensamblado de las secuencias

Las secuencias de ambas cadenas de cada uno de los genes fueron analizadas, editadas y ensambladas usando el BioEdit versión 7.0.5 (Hall, 1999) para generar una secuencia consenso. Para obtener la identificación a nivel de especie estas secuencias consenso se compararon con las depositadas en el GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI), utilizando la herramienta BLASTN 2.2.19 (Zhang *et al.*, 2000).

3.9 Análisis filogenético

Las secuencias generadas de los basidiomas de *Hydnopolyporus* se agregaron a las secuencias de referencia ITS, LSU, rpb2 y tef1 depositadas en la base de datos del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Cada región del gen se alineó de forma independiente utilizando la versión en línea de MAFFT v7 (Katoh *et al.*, 2002; 2017; Katoh y Standley, 2013). Las alineaciones se revisaron en PhyDE V.10.0 (Müller *et al.*, 2005), seguidas de pequeños ajustes manuales para garantizar la homología de caracteres entre los taxones. Las matrices se formaron para ITS por 60 taxones (700 caracteres), LSU por 53 taxones (597 caracteres), rpb2 por 34 taxones (650 caracteres) y TEF por 22 taxones (400 caracteres). Las matrices alineadas se concatenaron en una sola matriz (60 taxones, 2342 caracteres) con Mesquite v3.2 (Maddison y Maddison, 2021). Las inferencias filogenéticas se estimaron con máxima verosimilitud en Rax-ML v. 8.2.10 (Stamatakis, 2014) con un

modelo GTR + G de sustitución de nucleótidos. Para evaluar el soporte de sucursales, se ejecutaron 1000 réplicas de arranque rápido con el modelo GTRCAT. Para la probabilidad posterior bayesiana, se buscó el mejor modelo evolutivo para la alineación utilizando PartitionFinder v.2 (Lanfear *et al.*, 2014; 2017; Frandsen *et al.*, 2015). Los análisis filogenéticos se realizaron con MrBayes v. 3.2.6 x64 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). El bloque de información para la matriz incluyó dos corridas simultáneas, cuatro cadenas de Montecarlo, temperatura establecida en 0.2 y muestreo de 10 millones de generaciones (desviación estándar ≤ 0.1) con árboles muestreados cada 1000 generaciones. El primer 25% de las muestras se descartaron como quemado y se verificó la estacionariedad en Tracer v. 1.6 (Rambaut *et al.*, 2014). Los árboles se visualizaron y optimizaron en FigTree v. 1.4.4 (Rambaut *et al.*, 2014).

3.10 Conservación de cepas y preparación del inóculo

La conservación de las cepas se efectuó durante 15 días en un sustrato con los elementos nutritivos necesarios como un alto contenido de carbohidratos, nitrógeno y micro elementos además de condiciones específicas en términos de aireación y humedad, se utilizaron semillas de sorgo (*Sorghum bicolor*) sanas libres de plagas y enfermedades.

La preparación del inóculo se hizo de la siguiente manera; las semillas se enjuagaron con abundante agua en un recipiente, para eliminar el exceso de polvo y restos vegetales. Enseguida el grano se imbibió durante 24 horas, transcurrido este tiempo se escurrió la semilla durante 60 minutos. Finalmente se colocaron los granos en frascos de vidrio de 600 mL, los cuales se llenaron a 75% de su capacidad total para promover la aireación y una rápida invasión del micelio del hongo, los frascos se taparon con torundas y sombreros de papel periódico, esto para evitar contaminación externa. Cuando estuvieron listos con el grano se esterilizaron en autoclave a 120 °C durante una hora.

La inoculación de *Hydnopolyporus* spp., en semillas de sorgo previamente esterilizadas, se realizó en campana de flujo laminar bajo condiciones asépticas. Con la ayuda de un sacabocados se hicieron cortes de discos de medio que contenían micelio y se depositaron sobre la superficie de cada uno de los frascos con el grano hidratado y estéril (4 discos de 1 cm por frasco) auxiliándose con una aguja de disección o asa de platino, se tapó con la torunda y un sombrero de periódico para evitar contaminación externa, se movió el sustrato para que el micelio quedara disperso y tuviera un rápido cubrimiento. Se incubaron los frascos a 28 °C en una incubadora, durante 15 días hasta que el micelio invadió por completo

la semilla, se hicieron inspecciones continuas para detectar cualquier irregularidad.

3.11 Estudio de patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad se hicieron en el invernadero de fitopatología de la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” donde se crecieron plantas de aguacate *Persea americana* Mill var. *drymifolia* y se inocularon con cada una de las cepas aisladas de *Hydnopolyporus* spp. desarrolladas en semilla de sorgo.

3.11.1 Obtención de las plántulas de aguacate

De un árbol sano y vigoroso de aguacate criollo de la raza mexicana se recolectaron frutos maduros de 12 cm de largo, ovoides, con el exocarpo delgado de color oscuro, pulpa de color verde. Al fruto se le retiró la pulpa y el endocarpio, y se seleccionaron semillas sanas y sin daños mecánicos de 6-8 cm. Las semillas se sumergieron en agua caliente a 50 °C durante 30 minutos para eliminar posibles contaminantes (Lara, 2008). Finalmente, las semillas se sumergieron en agua estéril fría para disminuir su temperatura y se sembraron inmediatamente en contenedores de plástico de un litro de capacidad previamente desinfectados con hipoclorito de sodio comercial al 33% los cuales contenían sustrato estéril compuesto por una mezcla de suelo tipo andosol y arena en una proporción 2:1 respectivamente.

3.11.2 Inoculación

Una vez que las plantas alcanzaron en promedio 25 cm de altura se procedió a su inoculación, mediante el protocolo descrito por Lara (2008), para lo cual se pesó 5 g del inóculo y se colocó cerca de la raíz de la planta, con cuidado de no ocasionarle ningún daño posteriormente se tapó con el sustrato, se inocularon cinco plantas por cada recolección.

3.11.3 Variables respuesta

Para determinar la patogenicidad de las cepas de *Hydnopolyporus* spp., las variables evaluadas fueron virulencia y severidad de la enfermedad. La severidad se determinó con base en el tiempo (días) en que cada una de las cepas ocasionó síntomas de enfermedad en las plántulas de aguacate. La virulencia de la enfermedad se midió con base en la escala reportada por Lara (2008) que considera la sintomatología visual del área foliar de las plántulas de aguacate, la gravedad de la enfermedad se calificó en una escala del 0 al 4 donde 0=planta sana, 1=flacidez, 2=amarillamiento, 3=marchitamiento y muerte apical y 4=muerte de la planta. Cada nivel representó 25% de avance de los síntomas de una planta sana a una

muerta, lo que representó 100%. La virulencia de la enfermedad (%) se calculó según la fórmula descrita por Asran y Buchenauer (2003):

$$\text{Virulencia de la enfermedad (\%)} = \frac{[\sum(R \times N)] \times 100}{H \times T}$$

Donde R = Calificación de la enfermedad, N = número de plantas con esa calificación, H = categoría de la calificación más alta y T = número total de plantas contadas.

Se usó un diseño experimental de bloques al azar, el cual estaba compuesto por 19 bloques con 5 plántulas de aguacate cada uno incluyendo un testigo. Los valores obtenidos de la escala virulencia se sometieron a una prueba de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Will y una prueba de Bartlett para confirmar la homogeneidad de la varianza. Finalmente, los datos paramétricos obtenidos se sometieron a análisis estadístico de varianza (ANOVA) para determinar diferencias estadísticas entre cada tratamiento y una prueba de Tukey $\alpha = 0.5$ para comparación de medias. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el software RStudio-1.4.1103 (R Core Team, 2019).

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Aislamiento y purificación de *Hydnopolyporus* spp.

En los huertos de aguacate muestreados se observaron árboles que presentaban síntomas y signos de enfermedad, los árboles de aguacate que se consideraron infectados por *Hydnopolyporus* spp., presentaron síntomas de amarillamiento foliar, hojas pequeñas, muerte descendente de las ramas, defoliación generalizada, flacidez apical, frutos abundantes pero pequeños quemados por el sol debido a la falta de follaje, abundante micelio blanco y algodonoso el cual cubre las partes afectadas con hinchazón del tejido vegetal y derribo de árboles a causa del debilitamiento del sistema radicular (Figura 1), esto coincide con lo reportado por Sinclair y Lyon (2005) quienes mencionan que los fitopatógenos dentro del orden poliporales causan pudriciones y debilitamiento de la madera, lo que resulta en un síndrome generalizado con síntomas muy notables y el deterioro progresivo de la salud de estos.

En época de lluvias los signos que se observaron con mayor frecuencia en los árboles infectados fueron basidiomas, tanto en árboles aún vivos como muertos, adheridos a la corona además de en áreas de goteo del “cajete”, a medida que envejecen se tornan de color beige a marrón claro. De acuerdo con Swiecki y Bernhardt (2006) los basidiomas son los signos más importantes para determinar si un árbol está infectado o ha sido destruido por este hongo.



Figura 1. Síntomas y signos de *Hydnopolyporus* spp. en árboles de aguacate. árbol con síntomas avanzados de la enfermedad (A); basidiomas adheridos a una raíz (B); síntoma de pudrición blanca en raíz (C).

De los 30 muestreos realizados en 18 huertos se obtuvieron un total de 19 cepas con características similares para el género *Hydnopolyporus*, tres del municipio de San Andrés Coru (UMSH 2, UMSH 3, UMSH 4), cuatro de Ario de Rosales (UMSH 5, UMSH 6, UMSH 7, UMSH 8), una de Apatzingán (UMSH 9), dos de Parácuaro (UMSH 10, UMSH 11), tres de Tancitaro (UMSH 12, UMSH 13, UMSH 14), dos de Tingüindín (UMSH 15, UMSH 19), una de Peribán (UMSH 22), uno de Los Reyes (UMSH 25), uno de San Juan Nuevo (UMSH 35) y uno de Uruapan (UMSH UPN) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características de los sitios donde se encontraron basidiomas de *Hydnopolyporus* spp., huertos de aguacate ubicados en municipios de Michoacán, México.

Municipio	Altitud (m)	Precipitación (mL/m ²)	Coordenadas	Cepa
Ziracuaretiro	1571	1200	19 27' 18.23'' N 101 55' 05.66'' W	UMSH 2
	1571	1200	19 27' 11.28'' N 101 56' 01.06'' W	UMSH 3
	1599	1200	19 27' 18.81'' N 101 56' 13.31'' W	UMSH 4
Ario de Rosales	1721	1100	19 12' 22.83'' N 101 44' 20.21'' W	UMSH 5
	2008	1100	19 11' 18.08'' N 101 43' 46.97'' W	UMSH 6
	1668	1100	19 11' 18.08'' N 101 44' 09.95'' W	UMSH 7
	1671	1100	19 11' 26.43'' N 101 44' 09.95'' W	UMSH 8
Apatzingán	1426	800	19 11' 49.41'' N 102 18' 53.00'' W	UMSH 9
Parácuaro	909	800	19 10' 56.97'' N 102 13' 24.30'' W	UMSH 10
	801	800	19 10' 55.97'' N 102 13' 20.75'' W	UMSH 11
Tancítaro	1383	800	19 20' 24.51'' N 102 27' 27.80'' W	UMSH 12
	1403	800	19 20' 22.13'' N 102 27' 18.59'' W	UMSH 13
	1884	1200	19 25' 33.87'' N 102 26' 50.30'' W	UMSH 14
Tingüindín	1653	1200	19 41' 33.30'' N 102 28' 18.30'' W	UMSH 15
	1734	1200	19 41' 51.50'' N 102 29' 33.40'' W	UMSH 19
Peribán	1622	1100	19 33' 41.91'' N 102 23' 37.55'' W	UMSH 22
Los Reyes	1497	1100	19 36' 06.84'' N 102 27' 24.09'' W	UMSH 25
San Juan Nuevo	2115	1200	19 21' 47.69'' N 102 14' 43.42'' W	UMSH 35
Uruapan	1770	1500	19 22' 18.30'' N 101 59' 57.70'' W	UMSH UPN

4.2 Factores agroclimáticos de los sitios de recolección

La franja aguacatera en el estado de Michoacán actualmente está conformada por 70 municipios (COMA, 2020), la presencia de *Hydnopolyporus* se registró para esta investigación en 10 de estos municipios. En la Figura 2, se señalan las características agroclimáticas presentes en estos sitios.

Los huertos donde se observó presencia de basidiomas de *Hydnopolyporus* se ubicaron en municipios que presentan diferentes altitudes donde las localidades de San Juan Nuevo y Ario de Rosales registraron las mayores alturas con 2008 y 2115 msnm respectivamente, mientras que la menor altitud se registró en el municipio de Parácuaro 801 a 909 msnm (Cuadro 2), (Figura 2). La precipitación media anual vario de 800 a 2000 mm, (Figura 2A). La presencia de *Hydnopolyporus* se registró en tres tipos de suelo; Andosoles (42%), Cambiosol (26%) y Vertisol (32%), (Figura 2B). El tipo de clima es templado subhúmedo a semicálido subhúmedo, (Figura 2C). La temperatura anual presente oscilo entre los 16 °C a 24 °C, (Figura 2D). El tipo de vegetación predominante donde están establecidos los huertos de aguacate con presencia de basidiomas de *Hydnopolyporus* spp., es bosque pino-encino

con transición a cultivos agrícolas, (Figura 2H). Estas características agroclimáticas de acuerdo con Galicia *et al.* (2016) son propias de los bosques de pino-encino y mesófilos de montaña, estos ecosistemas son uno de los hábitats principales de diversos géneros y especies de hongos poliporales lignícolas, entre ellos el género *Hydnopolyporus* (Heredia, 1989). De acuerdo con lo que reporta Gutiérrez-Contreras *et al.* (2010) la mayor superficie plantada con aguacate en el estado de Michoacán se encuentra establecida bajo las condiciones mencionadas anteriormente y son estos bosques los que han sido desplazados para establecer el monocultivo del aguacate.

La frecuencia de granizadas anuales se distribuye en cuatro zonas y una menor sin granizadas: se observa que del área donde se ubican los sitios de muestreos, ocho localidades de los municipios de Ziracuaretiro, Ario de Rosales, Tancítaro, Tingüindín, Los Reyes, San Juan Nuevo y Uruapan presentan una frecuencia de 2-5 granizadas por año, mientras que el resto de las localidades tienen una frecuencia de 1-2, (Figura 2F). De acuerdo con Lara (2008) la gran susceptibilidad de este cultivo a este factor, lo hace de gran importancia debido a que el golpe del granizo en cualquier parte de la planta causa heridas beneficiando la entrada de fitopatógenos.

La frecuencia de heladas anuales que se presenta en el área de estudio; la mayoría de las localidades donde se realizaron los sitios de muestreo presentan una frecuencia de heladas de 1-30 al año a excepción de las localidades dentro de los municipios de Apatzingán y Parácuaro (Figura 2E). Este puede no ser un factor determinante para la presencia de *Hydnopolyporus* en los huertos de aguacate ya que el micelio de la mayoría de los basidiomicetos fitopatógenos como *Ganoderma*, *Armilaria* e *Hydnopolyporus*, al tener capacidad como necrotrofos, pueden persistir durante años debido a que se nutren de la parte muerta de sus hospederos como las raíces de árboles, las cuales quedan enterradas en el suelo después de eliminar los árboles infectados (Prospero *et al.*, 2004).

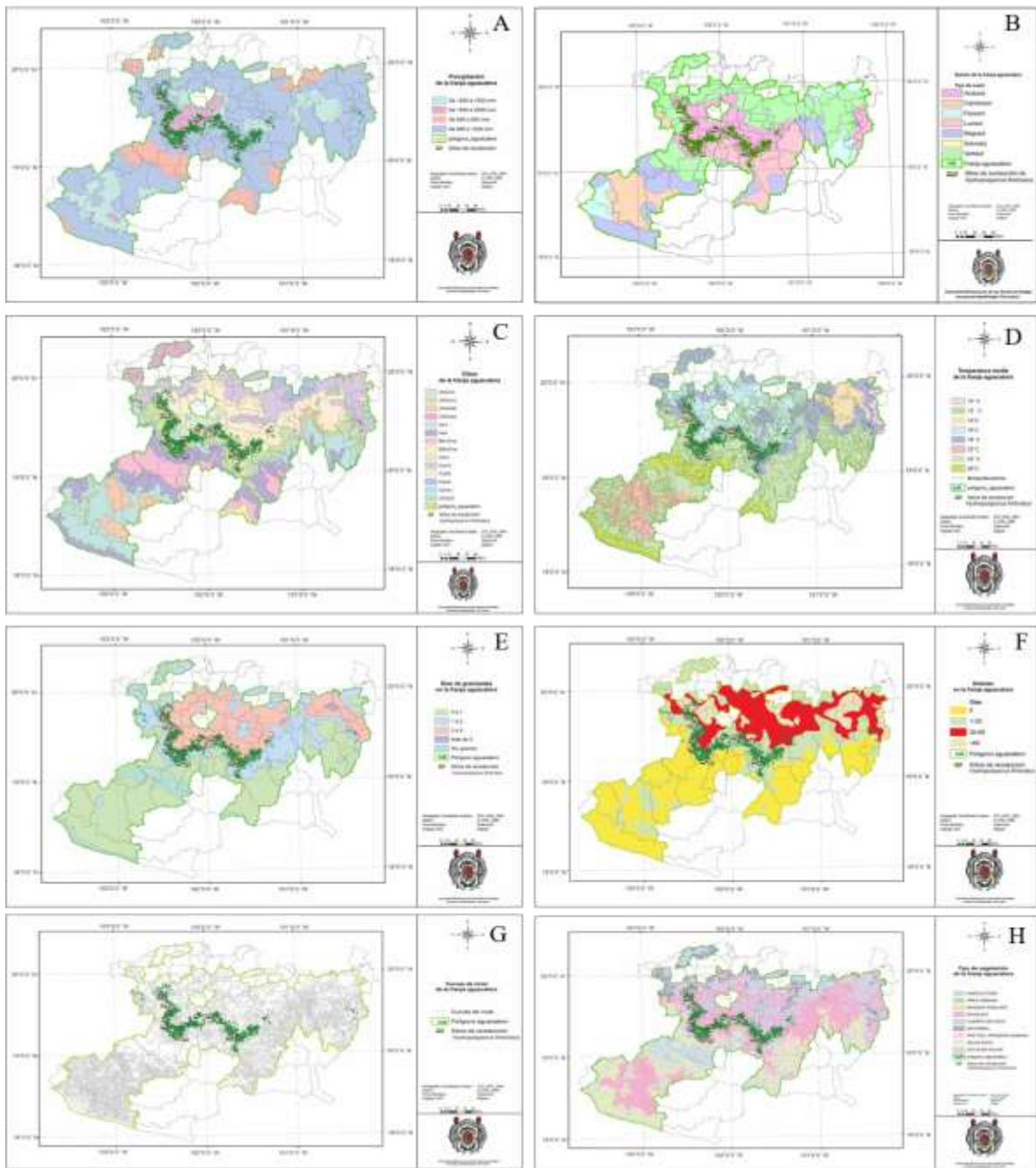


Figura 2. Factores agroclimáticos de sitios de recolección de basidiomas de *Hydnopolyporus* spp. y tejido vegetal (raíz, tallo y corona) de árboles infectados, en la franja aguacatera de Michoacán México: precipitación (A); tipos de suelos (B); climas (C); temperaturas (D); granizadas (E); heladas (F); curvas de nivel (G); vegetación (H).

4.3 Caracterización morfológica de las cepas

Las 19 cepas de *Hydnopolyporus* spp., presentaron características morfológicas similares,

en cuanto a la forma y crecimiento, así como la textura del micelio. Se observó crecimiento radial del micelio de forma estriada, algodonoso de color blanco, a medida que crece algunas cepas se tornaron de color beige y el micelio adquirió una textura corchosa, en algunos casos se mostró el micelio postrado al medio de cultivo, (Figura 3).



Figura 3. Cepas de *Hydnopolyporus* spp., en medio de cultivo PDA, aisladas de raíz, tallo y corona de árboles de aguacate con síntomas de pudrición blanca.

4.4 Caracterización morfológica de basidiomas

De los 35 basidiomas recolectados en los distintos huertos se observaron características microscópicas y macroscópicas similares a las descritas para la especie *Hydnopolyporus fimbriatus* (Fr) D.A. Reid las cuales son:

Basidioma anual, de 50-70 x 30-100 x 1-2 mm, pileado estipitado, espatulado a flabeliforme, imbricado, cespitoso, rosetado, de consistencia corchosa en fresco a quebradiza en seco; estípite de 10-30 x 1-2 mm lateral concoloro con el píleo; píleo de 40-60 x 20-30 mm, margen blanco a blanco-amarillento (1A1-3A2) azonada, velutinoso en fresco, ocráceo y sonado concéntricamente en seco; margen entero cuando joven a fimbriado y lacerado al madurar, con poros blanco amarillento a mármol (3A2-5A2) de 3-5 por mm, angulares a sinuosos, dientes 0.5-1 mm de longitud; contexto dúplex fibroso; sistema hifal monomitico con hifas generativas, 4-5 μm de diámetro, con septos simples separados por 18-30 μm entre cada uno, pared delgada y lisa, bifurcadas; Cistidios no observados; basidios 20-25 x 4.5-5.5 μm , clavados tetraesporicos; basidiosporas 4-5.5 x 3-4 μm ampliamente elipsoides a subglobosas, hialinas de paredes delgadas y lisas con una gutula (Largent *et al.*, 1973), (Figuras 4 y 5).

Hydnopolyporus fimbriatus es gregario disperso en huertos con pudrición blanca en raíces y tallo de *Persea americana*. Se ha encontrado en Estados Unidos, Argentina; Bolivia; Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Guatemala y México (Fidalgo, 1963; Binder *et al.*, 2013; Mayer *et al.*, 2016; Vu *et al.*, 2019). En México se ha reportado en los estados de: Campeche, Chiapas, Estado de México, Distrito Federal, Durango, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sierra Madre Oriental, Tamaulipas, Tlaxcala y Veracruz (Bandala *et al.*, 1993; Guzmán-Davalos y Fragosa-Díaz, 1994; Rodríguez *et al.*, 1994; Nava y Valenzuela, 1997; Herrera-Fonseca *et al.*, 2002; Valenzuela y Huerta, 2002; Raymundo y Valenzuela, 2003; Cifuentes *et al.*, 2005; Díaz-Moreno *et al.*, 2005; Landeros *et al.*, 2006). Tanto en zonas templadas (Valenzuela y Huerta, 2002) como subtropicales y tropicales (Wright y Alberto, 2006).

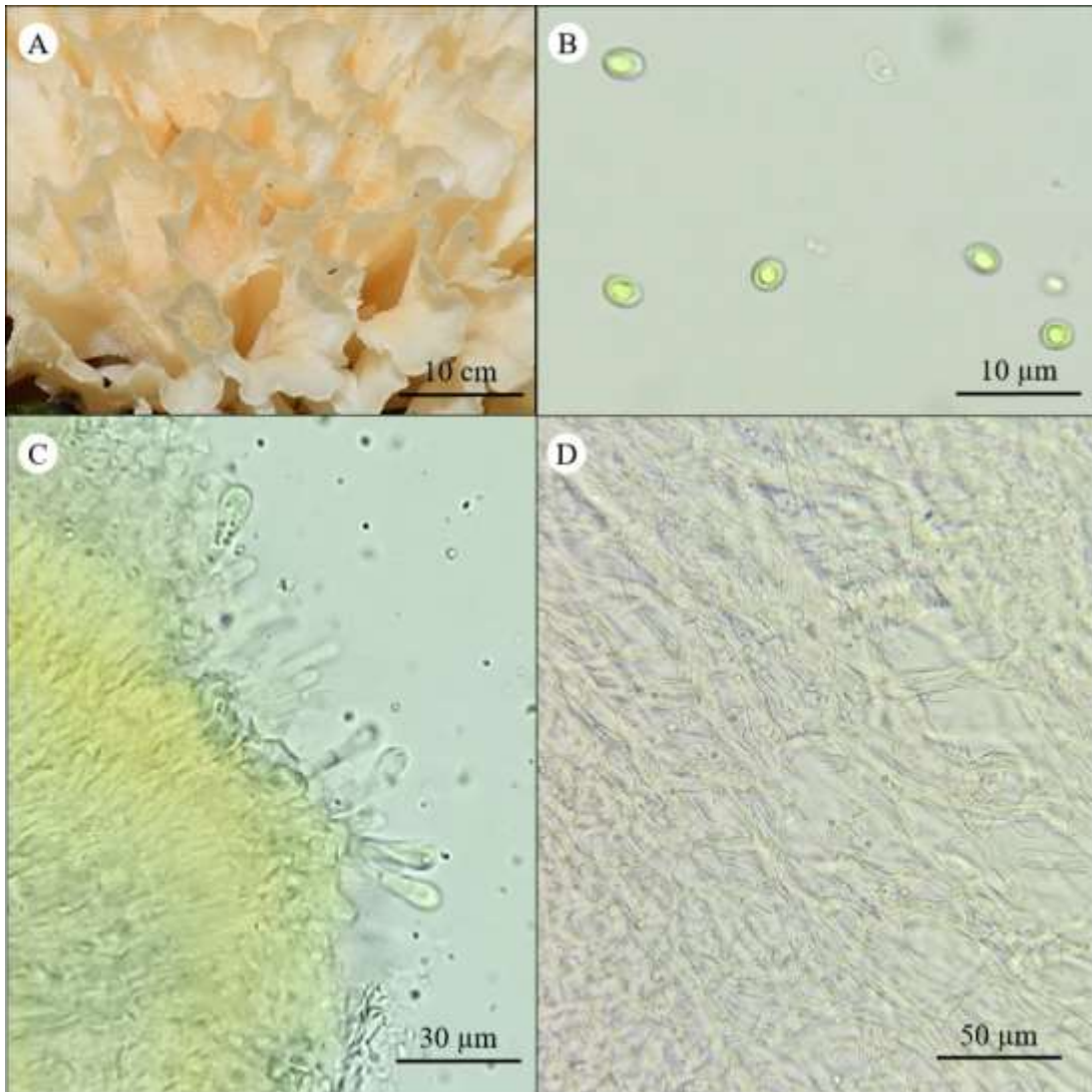


Figura 4. Estructuras macro y microscópicas de *Hydnopolyporus fimbriatus* recolectado en San Andrés Coru de árboles de aguacate con síntomas de pudrición blanca. basidioma (A); esporas (B); basidios (C); trama hifal (D).



Figura 5. Morfología de basidiomas de *Hydnopolyporus fimbriatus*. basidiomas unidos a la raíz de árbol de aguacate en la zona de goteo (A); basidiomas adheridos alrededor del tallo de aguacate (B); basidiomas unidos a la raíz de árboles de aguacate (C y D).

4.5 Caracterización molecular

El ADN extraído de los basidiomas, oscilaron entre los 260 y los 1688 ng/ μ L, mientras que la relación de absorbancia 260/280 nm fue de 1.70-1.97 por lo que se consideró puro ya que coincide con lo publicado por Wilfinger *et al.* (2009), quienes mencionan que una muestra de ADN con valor de 1.80 es aceptada como pura.

4.6 Análisis filogenético

Las secuencias ITS (ITS5, ITS4) LSU (LOR0F, LR5r) rpb2 (BRPB2-6R2, BRPB2-7R2) tef1 (EF1-B-F1, EF1-B-R) de los basidiomas UMSH 2, UMSH 3, UMSH 4, UMSH 5, UMSH 6, UMSH 7, UMSH 8, UMSH 9, UMSH 10, UMSH 11, UMSH 12, UMSH 13, UMSH 14, UMSH 15, UMSH 19, UMSH 22, UMSH 25, UMSH 35 y UMSH UPN, mostraron 99% de identidad con *Hydnopolyporus fimbriatus*, especie que ha sido reportada filogenéticamente como miembro de la familia Irpicaceae (He *et al.*, 2019; Justo *et al.*, 2017 y Wijaya-Wardene *et al.*, 2020). La alineación de las secuencias concatenadas de los basidiomas junto a las secuencias tomadas del Gen Bank permitió la construcción del árbol filogenético de acuerdo al método de máxima verosimilitud. La topología presentó miembros de los géneros: *Emmia*, *Flavodon*, *Irpex*, *Efibula*, *Byssomerulius*, *Phanerochaetella*, *Ceriporiopsis*, *Gloeoporus*, *Ceriporia*, *Leptoporus*, *Meruliopsis*, *Crystallicutis*, *Trametopsis*, *Meruliopsis*, *Bjerkandera* los cuales al igual que *Hydnopolyporus* se clasifican dentro de la familia Irpicaceae (Spirin, 2013), además de una secuencia de la especie *Phanerochaete chysosporium* la cual se empleó como grupo externo ya que en otros estudios se utilizó de manera exitosa para obtener una correcta topología (Figura 6) (Justo *et al.*, 2017; He *et al.*, 2019; Wijaya-Wardene *et al.*, 2020).

Hydnopolyporus fimbriatus constituye un taxón monofilético de hongos de pudrición blanca dentro de la familia Irpicaceae (He *et al.*, 2019; Wijaya-Wardene *et al.*, 2020). En el dendograma de máxima verosimilitud obtenido aquí, las cepas aisladas se agruparon con el clado *Hydnopolyporus* con una probabilidad del 100% de identidad además de 16 clados bien sustentados dentro de la familia Irpicaceae con una probabilidad posterior de 0.88 a 1 y Bootstrap de 80% a 100%, de acuerdo con Kusaba y Tsuge, (1995) y Arnold *et al.* (2007) un soporte superior o igual a 70% brinda una información confiable sobre el posicionamiento de una especie, los géneros *Emmia*, *Flavodon* e *Irpex* se ubicaron como grupos hermanos con una relación muy cercana de 99% a 100% de bootstrap, esta topología ha sido reportada para la familia Irpicaceae. Sin embargo, Chen *et al.* (2021) y Li *et al.* (2022) reportaron que los géneros *Hydnopolyporus*, *Emmia* y *Flavodon* se clasifican dentro del género *Irpex*. Este hecho explica su relación tan cercana en el árbol de máxima verosimilitud.

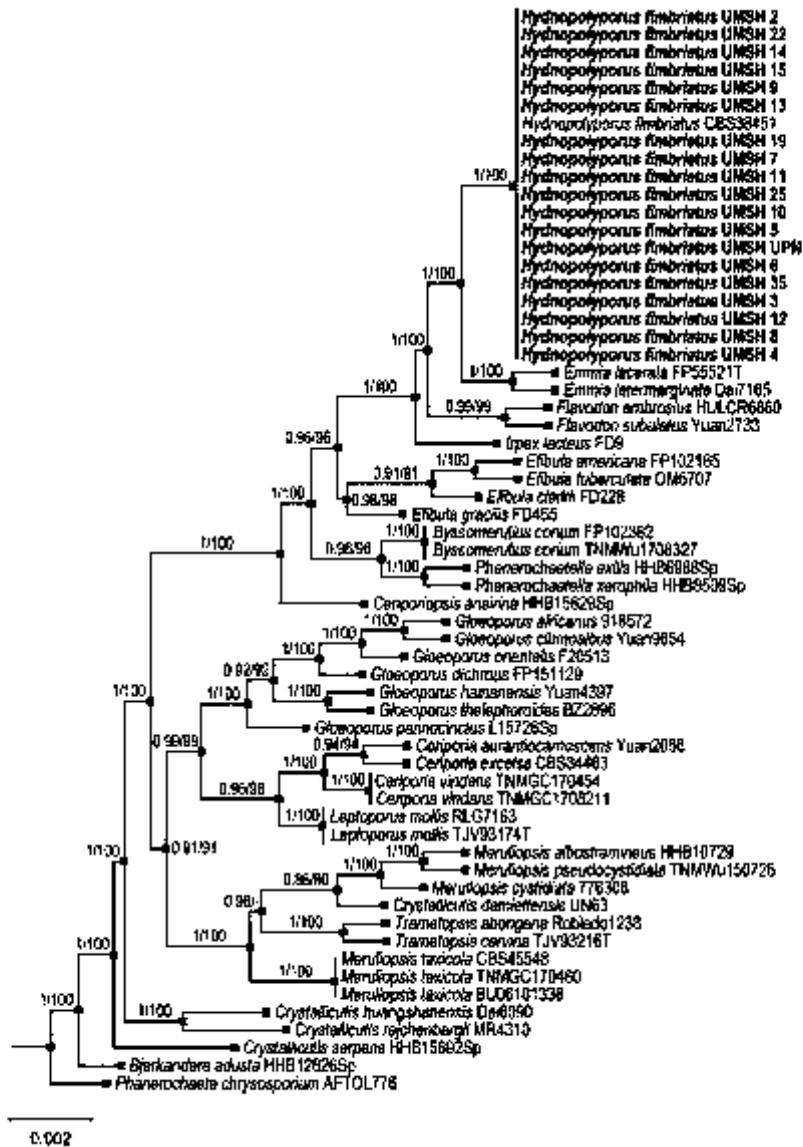


Figura 6. Árbol filogenético de máxima verosimilitud para los basidiomas de *Hydno polyporus finbriatus* (Fr) D.A. Reid, recolectados de árboles de aguacate en la franja aguacatera. Las relaciones filogenéticas se basan en la alineación de secuencias ITS, LSU, rpb2 y tef1 concatenadas. El soporte de los clados se representa con una línea gruesa correspondiente con probabilidad bayesiana posterior $PP \geq 0.95$. Probabilidad posterior (a la izquierda de la barra) del análisis bayesiano y compatibilidad con Bootstrap (a la derecha de la barra).

4.7 Pruebas de patogenicidad

Cinco días después de que se estableció el experimento se observó avance del micelio entre el sustrato y el contenedor de plástico transparente, así como la colonización de raíces de la plántula. Los primeros síntomas en las plantas de aguacate se presentaron a los 14 días posteriores a su inoculación, y fueron amarillamiento y defoliación apical, (Figura 7 A), a los 35 días se registró necrosis radicular y flacidez apical, (Figura 7 B y C), a los 63 días defoliación casi completa y a los 77 días se observó la primera plántula muerta, Así como formación de basidiomas adheridos al tallo de las plántulas, (Figura 7 D, E y F).

Los signos y síntomas desarrollados por el fitopatógeno en las plántulas de aguacate durante las pruebas de patogenicidad coincidieron con lo reportado en los árboles enfermos observados en los huertos de la franja aguacatera.

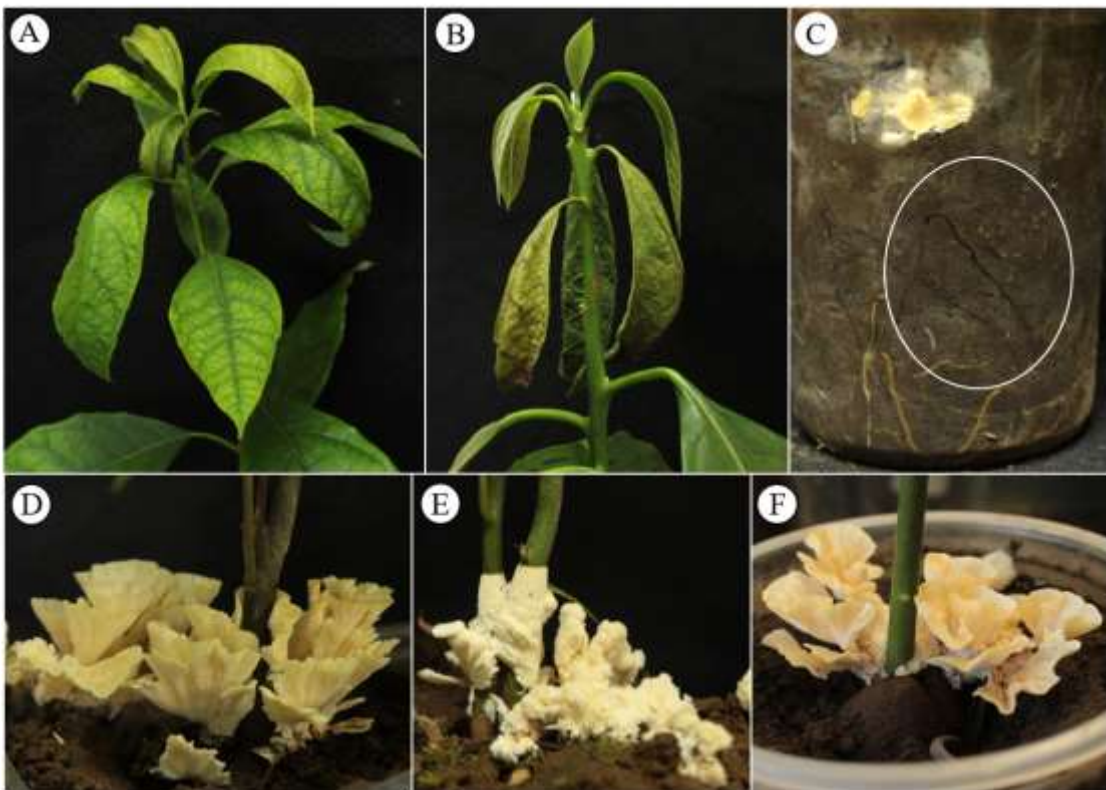


Figura 7. Síntomas y signos en plántulas de aguacate inoculadas con cepas de *Hydnopolyporus fimbriatus*: amarillamiento (A); flacidez apical (B); necrosis de raíz (C); basidiomas de *Hydnopolyporus fimbriatus* adheridos al tallo de plántulas de aguacate (D, E yF).

4.7.1 Virulencia de *Hydnopolyporus fimbriatus*

El análisis de varianza realizado para los datos obtenidos de la virulencia de 19 cepas de *Hydnopolyporus fimbriatus*, recolectadas en la franja aguacatera del estado de Michoacán; detectó diferencia altamente significativa de ($P < 0.001$) para esta variable. El tiempo transcurrido para que se presentaran los primeros síntomas en las plántulas de aguacate, fluctuó entre 14 y 21 días. La cepa UMSH 12 del municipio de Tancitaro y la UMSH 11 del municipio de Parácuaro presentaron mayor virulencia. En contraste, las cepas UMSH 7 y UMSH 8 del municipio de Ario de Rosales; UMSH 10 del municipio de Parácuaro y UMSH 22 del municipio de Peribán fueron las menos virulentas, sin embargo con base en la comparación de medias todas las cepas son estadísticamente similares en cuanto a esta variable, todas provocaron síntomas de enfermedad en las plántulas de aguacate en comparación con las plantas testigo las cuales no mostraron ningún síntoma, (Figura 8). La variación en la virulencia de otros fitopatógenos se ha documentado en diversos estudios, inclusive en cepas que provienen de la misma área geográfica (Huberli *et al.*, 2001).

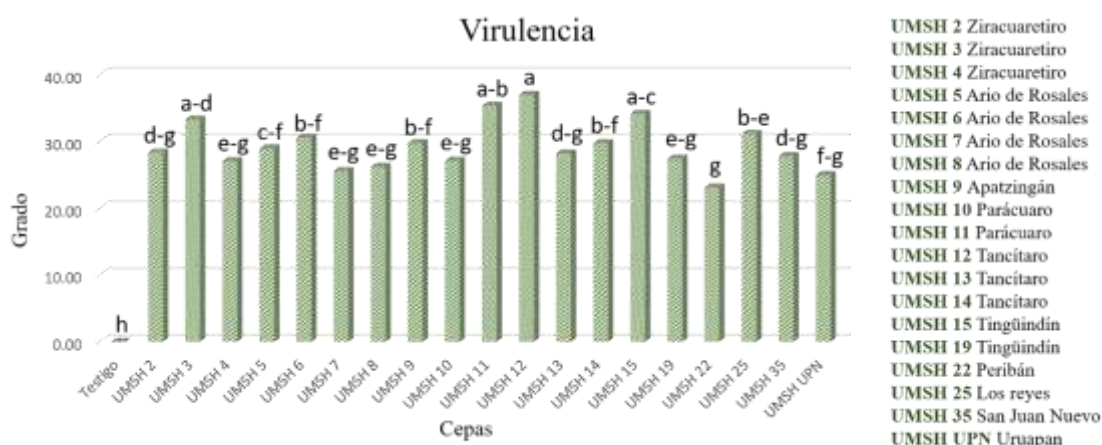


Figura 8. Virulencia de 19 cepas de *Hydnopolyporus fimbriatus* aisladas en huertos de aguacate inoculadas en plántulas de aguacate (Tukey $\alpha=0.05\%$).

4.7.2 Severidad de *Hydnopolyporus fimbriatus*

La severidad de la enfermedad en plántulas de aguacate inoculadas con cada una de las 19 cepas de *Hydnopolyporus fimbriatus*, indico que existe variabilidad; las cepa UMSH 7 recolectada en el municipio de Ario de Rosales mostro una mayor capacidad para producir la muerte de las plántulas a los 77 días posteriores a la inoculación (grado 4, escala de Lara, 2008). Las cepas UMSH 2, UMSH 3 y UMSH 4 del municipio de Ziracuaretiro; UMSH 5 y

UMSH 6 del municipio de Ario de Rosales; UMSH 9 del municipio de Apatzingán; UMSH 10 y UMSH 11 del municipio de Parácuaro; UMSH 12, UMSH 13 y UMSH 14 del municipio de Tancitaro; UMSH 19 del municipio de Tingüindín; UMSH 22 del municipio de Peribán; UMSH 25 del municipio de Los Reyes; UMSH 35 del municipio de San Juan Nuevo se consideraron con una severidad intermedia en el mismo lapso de tiempo (77 días) a diferencia de las cepas anteriores, los síntomas producidos fueron marchitamiento y muerte apical (grado 3, escala de Lara, 2008). Las cepas UMSH 8 del municipio de Ario de Rosales UMSH 15 del municipio de Tingüindín y UMSH UPN del municipio de Uruapan provocó una severidad menor, ocasionó el síntoma de amarillamiento (grado 2, escala de Lara, 2008) a los 77 días. Estos resultados coinciden con lo publicado por Cha *et al.*, (2009) quienes reportan diferentes etapas de desarrollo de la enfermedad ocasionada por distintas especies de *Armillaria*, por otra parte en un estudio realizado sobre basidiomicetos de pudrición blanca se observó la presencia de síntomas hasta los 2 años posteriores a su inoculación, pero solamente hubo defoliación y 4% de infección radicular por lo que se sugirió que es necesario hacer evaluaciones por más tiempo y estresar las plantas de acuerdo a las condiciones de su hábitat natural (Piercey-Normore 2000).

En este trabajo se estudió por primera vez a la especie *H. fimbriatus* como fitopatógeno, así como la sintomatología que produce en árboles de aguacate ya que solo se había reportado como necrotrofo de *Hevea brasiliensis* Kunth) Mull. Arg. (Fidalgo, 1963) *Quercus humboldtii* Kotschy ex A. DC., *Myrcianthes leucoxylla* (Ortega) McVaugh, *Eucalyptus globulus* Labill. (Wright y Alberto 2006), hasta esta investigación no se tenía caracterizado como agente fitopatógeno en ningún otro cultivo de interés agrícola.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados y bajo las condiciones en las que se llevó a cabo la presente investigación, se concluyó lo siguiente:

- 1) Las características culturales y morfológicas de las 19 cepas de *Hydnopolyporus* presentes en el cultivo de aguacate fueron similares a las reportadas para la especie *Hydnopolyporus fimbriatus*.
- 2) Las secuencias comparadas en el BLAST tienen un 99% de identidad con la especie *Hydnopolyporus fimbriatus*.
- 3) Las pruebas moleculares permitieron identificar la especie *Hydnopolyporus fimbriatus*.
- 4) Los síntomas provocados en las plántulas de aguacate inoculadas con las cepas de *Hydnopolyporus* fueron pudrición de raíz, amarillamiento foliar, defoliación además de la presencia de basidioma adheridos al tallo de las plántulas.
- 5) Todas las cepas de *Hydnopolyporus fimbriatus*, fueron fitopatogénicas a *Persea americana* Miller var. *drymifolia*.

VI. LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2005.** Plant Pathology. 5th Edicion. Elsevier. United States of America. 922 p. analysis. Fungal Divers. 34, 187–196.
- Angelini, P. Bistocchi, G. Arcangeli, A. Bricchi, E. and Venanzoni, R. 2015.** Diversity and ecological distribution of macrofungi in a site of community importance of umbria (Central Italy). Open Ecol. J. 8, 1-8. Doi: <https://doi.org/10.2174/1874213001508010001>.
- Arantes, V. and Goodell, B. 2014.** Current understanding of brown-rot fungal biodegradation mechanisms: a review. ACS (Am.Chem. Soc.) Symp. Ser. 3-21. <https://doi.org/10.1021/bk-2014-1158.ch001>.
- Arnold, A. Henk, D. Eells, R. Lutzoni, F. and Vilgalys, R. 2007.** Diversity and phylogenetic affinities of foliar fungal endophytes in loblolly pine inferred by culturing and environmental PCR. Mycologia. 99, 185–206. Doi: <https://doi.org/10.1080/15572536.2007.11832578>
- Asran, M. R. and Buchenauer. H. 2003.** “Pathogenicity of *Fusarium Graminearum* Isolates on Maize (*Zea Mays* L.) Cultivars and Relation with Deoxynivalenol and Ergosterol Contents / Pathogenität von *Fusarium Graminearum* Isolatzen and Mais- (*Zea Mays* L.) Sorten Und Beziehung Zu Deoxynivalenol- Und Ergosterol-Gehalten.” Zeitschrift Für Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz / Journal of Plant Diseases and Protection. 110:3, 209–219. Doi: <http://www.jstor.org/stable/43215506>.
- Bandala, V. M. Guzmán, G. y Montoya, L. 1993.** Los hongos del grupo de los poliporáceos conocidos en México. Rev. Forest. 13, 1–55.
- Berbee, M. L. 2001.** The phylogeny of plant and animal pathogens in the Ascomycota. Physiological and Molecular Plant Pathology. 59:4, 165-187. Doi: <https://doi.org/10.1006/pmpp.2001.0355>
- Berg, B. and McLaugherty, C. 2008.** Plant litter: Decomposition, humus formation, carbon sequestration. 2nd. Edicion. Berlin Heidelberg, Germany: Springer - VerlagBerlin, Heidelberg. 338 p.
- Binder, M. Justo, A. Riley, R. Salamov, A. Lopez-Giraldez, F. Sjøkvist, E. Copeland, A. Foster, B. Sun, H. Larsson, E. Larsson, K.H. Townsend, J. Grigoriev, I. V. and Hibbett, D. S. 2013.** Phylogenetic and phylogen overview of the Polyporales.

- Mycologia. 105:6, 1350-1373. Doi: [10.3852/13-003](https://doi.org/10.3852/13-003)
- Botschuijver, S. Roeselers, G. and Levin, E. 2017.** Intestinal Fungal Dysbiosis Associates With Visceral Hypersensitivity in Patients With Irritable Bowel Syndrome and Rats. *Gastroenterology*. 153:4, 1026-1039. Doi: [10.1053/j.gastro.2017.06.004](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.06.004)
- Boyce, J. S. 1961.** *Forest Pathology*. New York, Mc. Graw-Hill. Nueva York, 572 p.
- Burgess, T. and Wingfield, M. J. 2006.** Impact of fungal pathogens in natural forest ecosystems: a focus on Eucalypts. In: *Microorganisms in Plant Conservation and Biodiversity*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 285-306. Doi: https://doi.org/10.1007/0-306-48099-9_11.
- Butler, D. K. and Metzenberg, R. L. 1989.** Premeiotic change of nucleolus organizer size in *Neurospora*. *Genetics*. 122:4, 783–791. Doi: [10.1093/genetics/122.4.783](https://doi.org/10.1093/genetics/122.4.783)
- Calle, V. A. E. 2017.** Descripción morfológica de macrohongos de las familias Meruliaceae, Meripilaceae y Ganodermataceae de los parques Nacionales Yasuni y Sangay. [Tesis de licenciatura no publicada]. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Castello, J. D. Leopold, D. J. and Smallidge, P. J. 1995.** Pathogens, patterns, and processes in forest ecosystems. *Bioscience*. 45, 16-24. Doi: <https://doi.org/10.2307/1312531>
- Cha, J. Y. Lee, S. Y. Chun, K W. Lee, S.Y. Haha, O. and Sho, J. 2009.** *Armillaria* root rot caused by *Arimillaria tabescens* on *Prunussalicina* in a Korean garden. *J. Fac. Agr., Kuyushu Univ.* 54:2, 273-277.
- Chen, C. C. Chen, C. Y. and Wu, S. H. 2021.** Species diversity, taxonomy and multi-gene phylogeny of phlebioid clade (Phanerochaetaceae, Irpicaceae, Meruliaceae) of Polyporales. *Fungal Divers.* 111:1, 337-442. Doi: [10.1007/s13225-021-00490-w](https://doi.org/10.1007/s13225-021-00490-w)
- Cifuentes-Blanco, J. Villegas-Ríos, M. García-Sandoval, R. Vidal-Gaona, G. Sierra-Galván, S. Valenzuela-Garza, R. Pérez-Ramírez, L. y Morales-Torres, E. 2005.** Distribución de macromicetos: una aproximación al análisis de áreas de endemismo. In: Luna, I., J. J. Morrone y D. Espinosa (eds.). *Biodiversidad de la Sierra Madre Oriental*. Comisión Nacional para el Estudio de la Biodiversidad. México, D.F. México. 355–374 pp.
- Clausen, C. and Kartal, S. 2003.** Accelerated detection of brown-rot decay: Comparison of soil block test, chemical analysis, mechanical properties, and immunodetection. *Forest Product Journal*. 53:11, 90-94.

- Core-Team, R. R. A. 2019.** Language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Cui, L. Morris, A. and Ghedin, E. 2013.** The human mycobiome in health and disease. *Genome Medicine*. 5:63, 1–12. Doi: <https://doi.org/10.1186/gm467>
- Cullen, D. and Kersten, P. J. 2004.** Enzymology and molecular biology of lignin degradation. In R. Brambl and G.A. Marzulf (Eds.). *Biochemistry and molecular biology*. 2nd Edición. Springer-Verlag. Berlin. 249-273 pp.
- Culley, T. M. y Wolfe, A. 2001.** Estructura genética de la población de la especie de plantas cleistogama *Viola pubescens* Aiton (Violaceae), según lo indicado por aloenzimas y marcadores moleculares ISSR. *Heredity*. 86, 545-556.
- Dhiraj, K. R. and Shankarsinh K. R. 2015.** Anatomical characterisation of wood decay pattern in *Azadirachta indica* A. Juss. by the white-rot fungi *Irpex lacteus* Fr. (Fr.) and *Phanerochaete chrysosporium* Burds. *Anales de Biología*. 37, 97-106. Doi: <http://dx.doi.org/10.6018/analesbio.37.10>
- Díaz-Moreno, R. Marmolejo, J. G. y Valenzuela, R. 2005.** Flora micológica de bosques de pino y pino-encino en Durango, México. *Ciencia (UANL)*. 8, 362–369.
- Dujon, B. Sherman, D. y Fischer, G. 2004.** Genome evolution in yeasts. *Nature*. 430, 35-44.
- Eastwood, D. H. Grigoriev, I. V. Berka, R. M. Blanchette, R. A. Kersten, P. Martinez A. T. Vicuna, R. and Cullen, D. 2012.** Comparative genomics of *Ceriporiopsis subvermispora* and *Phanerochaete chrysosporium* provide insight into selective ligninolysis. *Proc Natl Acad Sci EE. UUUSA*. 109:14, 5458–5463. Doi: 10.1073/pnas.1119912109.
- El-Gharabawy, H. Leal-Dutra, C. A. and Griffith, G. W. 2021.** *Crystallicutis* gen. Nov. (Irpiceae, Basidiomycota), including *C. damiettensis* sp. nov., found on *Phoenix dactylifera* (date palm) trunks in the Nile Delta of Egypt. *Fungal Biology*. 125, 447-458. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.01.004>
- Fidalgo, O. 1963.** Studies on the type species of *Hydnopolyporus*. *Mycologia*. 55:6, 713–727. Doi:10.1080/00275514.1963.12018063
- Floudas, D. and Hibbett, D. S. 2015.** Revisiting the taxonomy of *Phanerochaete* (Polyporales, Basidiomycota) using a four gene dataset and extensive ITS sampling.

- Fungal Biology. 119:8, 679-719. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.04.003>
- Frandsen, P. B. Calcott, B. Mayer, C. and Lanfear, R. 2015.** Automatic selection of partitioning schemes for phylogenetic analyses using iterative k-means clustering of site rates. BMC Evolutionary Biology. 15, 1–17. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12862-015-0283-7>
- Fuentes, M. Aviles, M. Rios M. Y. Gonzalez, A. Navarro, G. V. Zepeda, G. and Rojas, G. M. 1997.** Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants. Journal of ethnopharmacology. 87:1, 85-88.
- Fusco, V. Pasciuta, V. Lumia, V. Matere, A. Valerio, B. Bertinelli, G. B. Sansone, D. Brunetti, A. and Pilotti M. 2022.** Root and stem rot, and wilting of olive tree caused by *Dematophora necatrix* and associated with *Emmia lacerata* in Central Italy. Eur J Plan Pathol. 163, 71-96. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02458-1>
- Galagan, J. E. Henn, M. R. Ma, L. J. Cuomo, A. Ch. and Birren, B. 2005.** Genomics of the fungal kingdom: insights into eukaryotic biology. National Library of Medicine. 15, 1620-1631. Doi: 10.1101/gr.3767105
- Galicia, L. Gamboa, C. A. M. Cram, S. Chávez, V. B. Peña. R. V. Saynes V. y Siebe, C. 2016.** Almacén y dinámica del carbono orgánico del suelo en bosques templados de México. Terra Latinoamericana. 34: 1-29.
- Geml, J. Gravendeel, B. Van Der Gaag, K. J. Neilen, M. Lammers, Y. Raes, N. Semenova, T. A. Knijff, and Noodeloos, E. M. 2014.** The contribution of DNA metabarcoding to fungal conservation: diversity assessment, habitat partitioning and mapping red-listed fungi in protected coastal *Salix repens* communities in the Netherlands. PLoS One. 9:6, e99852. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099852>
- Gilbertson, R. L. and Ryvarden, L. 1986.** North American Polyporales, (Vol. 1) I. Fungiflora. 433 pp.
- Go, W. Z. Chin, K. L. H'ng, P. S. Wong, M. Y. Luqman, C. A. Surendran, A. Tan, G. H. Lee, C. L. Khoo, P. S. and Kong, W. J. 2021.** Virulence of *Rigidoporus microporus* isolates causing White root rot disease on rubber trees (*Hevea brasiliensis*) in Malaysia. Plants. 10, 2123. Doi: <https://doi.org/10.3390/plants10102123>.
- Gutiérrez-Contreras, M. Lara-Chávez, Ma. B. N. Guillén, A. H. Chávez, B. A. T. 2010.**

Agroecología de la franja aguacatera en Michoacán, México. *Interciencia*. 35, 647-653.

Guzmán, G. 2008. Hongos de parques y jardines y sus relaciones con la gente. Hablemos de ciencia y tecnología. Instituto de biología. 244 p.

Guzmán-Dávalos, L. y Fragoza-Díaz, G. 1994. Los hongos registrados del estado de Jalisco. *Bol. IBUG*. 2, 109–160.

Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and análisis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41, 95–98.

He, M-Q. Zhao, R-L. Hyde, K. D. Begerow, D. Kemler, M. Yurkov, A. Mckenzie, E. H. C. Raspe, O. Kakishima, M. Sanchez-Ramirez, S. Vellinga, E. C. Halling, R. Papp, V. Zmitrovich, I. V. Buyck, B. Ertz, D. Wijayawardene, N. N. Ciu, B-K. Schoutteten, N. Liu, X-Z. Li, T-H. Yao, Y. Zhu, X. Liu, A. Li, G. Zhang, M. Ling Z. Cao, B. Antonin, V. Boekhout, T. Denise, B. B. Crop, E. D. Decock, C. Dima, B. Dutta, A. K. Fell, J. W. Geml, J. Ghobad-Nejhad, M. Giachini, A. J. Gibertoni, T. B. Gorjón, S. P. Haelewaters, D. He, S. Hodgkinson, B. P. Horak, E. Hoshino, T. Justo, A. Woon, L. Y. Menolli, J. N. Mesic, A. Moncalvo, J. Muller, G. M. Nagy, L. G. Henrik, N. R. Noordeloos, M. Nuytinck, J. Orihara, T. Ratchadawan, C. Rajchenberg, M. Silva-Filho, A. G. S. Aloisio, S. M. Tkalcec, Z. Valenzuela, R. Verbeken, A. Vizzini, A. Wartchow, F. Wei, T. Weib, M. Zhao, C. and Kirk, P. M. 2019. Notes, outline and divergence times of Basidiomycota. *Fungal Diversity*. 99, 105-367. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00435-4>

He, K. Chen, G. Zeng, G. Huang, Z. Guo, Z. Huang, T. Peng, M. Shi, J. and Hu, L. 2017. Applications of white rot fungi in bioremediation with nanoparticles and biosynthesis of metallic nanoparticles. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 101, 4853-4862. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8328-z>.

Hennon, P. E. 1995. Are heart rot fungi major factors of disturbance in gap-dynamic forests? *Northwest Sci.* 69, 284-293.

Heredia, F. Morera, G. y Robledo, G. Cangnolo, L. y Urcelay, C. 2014. Interacciones entre hongos de la madera (Agaricomycete) y árboles nativos y exóticos de un ecosistema urbano (CordobaCórdoba, Argentina). *BOSQUE*. 35:3, 391-398.

- Heredia, G. 1989.** Estudio de los hongos de la Reserva de la Biósfera El Cielo, Tamaulipas. Consideraciones sobre la distribución y ecología de algunas especies. *Acta Botánica Mexicana*. 7, 1-18. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57400701>
- Herrera-Fonseca, M. J. Guzmán-Dávalos, L. y Rodríguez, O. 2002.** Contribución al conocimiento de la micobiota de la región de San Sebastián del Oeste, Jalisco, México. *Acta Bot. Mex.* 58, 19–50.
- Hibbett, D. S. Bauer, R. Binder, M. Giachini, A. J. Hosaka, K. and Justo, A. 2014.** Agaricomycetes. In D. J. McLaughlin, and J. W. Spatafora (Eds.), *Systematics and Evolution*. 2nd Edicion. *The Mycota: A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research*. Berlin, Heidelberg: 373-429 pp. Springer-Verlag.
- Hibbett, D. S. Binder, M. Bischoff, J. F. Blackwell, M. Cannon, P. F. Eriksson, O. E. and Zhang, N. 2007.** A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*. 111:5, 509–547. Ddoi:10.1016/j.mycres.2007.03.004
- Hibbett, D. S. Ohman, A. Glotzer, D. Nuhn, M. Kirk, P. and Nilsson, R. H. 2011.** Progress in molecular and morphological taxon discovery in Fungi and options for formal classification of environmental sequences. *Fung Biol Rev.* 25, 38–47.
- Huberli, D. Tommerup, I. C. Dombrowski, M. P. Calver, C. and Hardy, J. G. E. S. 2001.** Phenotypic variation in a clonal lineage of two *Phytophthora cinnamomi* populations from Western Australia. *Micol. Res.* 105:9, 1053-1064.
- Huelsenbeck, J. P. and Ronquist, F. 2001.** MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*. 17:8, 754–755. Doi:<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/17.8.754>
- Hyde, K. D. Xu, J. Rapin, S. Jeewon, R. Lumyong, S. Niego, A. G. T. Abeywickrama, P. D. Aluthmuhandiram, J. V. S. Brahamanage, R. S. Brooks, S. Chaiyasen, A. Chethana, K. W. T. Chomnunti, P. Chepkirui, C. Chuankid, B. De Silva, N. I. Doilom, M. Faulds, C. Gentekaki, E. Gopalan, V. Kakumyan, P. Harishchandra, D. Hemachandran, H. Hongsanan, S. Karunarathna, A. Karunarathna, S. C. Khan, S. Kumla, J. Jayawardena, R. S. Liu, J. K. Liu, N. Luangharn, T. Macabeo, A. P. G. Marasinghe, D. S. Meeks, D. Mortimer, P. E. Mueller, P. Nadir, S. Nataraja, K. N. Nontachaiyapoom, S. O'Brien, M. Penkhrue, W. Phukhamsakda, C. Ramanan, U. S. Rathnayaka, A. R. Sadaba, R. B. Sandargo, B. Samarakoon, B. C. Tennakoon, D. S. Siva, R. Sriprom, W.**

- Suryanarayanan, T. S. Sujarit, K. Suwannarach, N. Suwunwong, T. Thongbai, B. Thongklang, N. Wei, D. Wijesinghe, S. N. Winiski, J. Yan, J. Yasanthika, E. and Stadler, M. 2019.** The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Divers.* 97, 1-136. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00430-9>.
- INEGI. 1998.** Cartas Estatales de fenómenos climáticos del estado de Michoacán. Secretaría de Programación y Presupuesto.
- Justo, A. Miettinen, O. Floudas, D. Ortiz-Santana, B. Sjökvist, E. Lindner, D. Nakasone, K. K. Niemelä, T. Larsson, K. H. and Ryvarden, L. 2017.** A revised family-level classification of the Polyporales (Basidi- omycota). *Fungal Biol.* 121, 798–824. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.05.010>
- Katoh, K. and. Standley, D. M. 2013.** MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution.* 30:4, 772–780. Doi: <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Katoh, K. Misawa, K. Kuma, K. and Miyata, T. 2002.** MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research.* 30:14, 3059–3066. Doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>
- Katoh, K. Rozewicki, J. and Yamada, K. D. 2017.** MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics.* 20:4, 1160–1166. Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>
- Kellis, M. Birren, B. W. and Lander, E. S. 2004.** Proof and evolutionary analysis of ancient genome duplication in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature.* 428, 617-624.
- Kinge, T. R. Goldman, G. Jacobs, A. Ndiritu, G. G. and Gryzenhout, M. 2020.** A first checklist of macrofungi for South Africa. *Myco-Keys.* 63, 1-48. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.63.36566>.
- Kirk, P. M. Cannon, P. F. David, J. C. Minter, D. W. and Stalpers, J. A. 2008.** Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. 10th Edicion. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK: CAB International Press.771 p.
- Kornerup, A. and Wanscher, J. H. 1978.** Methuen handbook of colour. 3a. Eedicion. Eyne Methuen. Londres, UK. 252 p.
- Kusaba, M. and Tsuge, T. 1995.** Phylogeny of *Alternaria* fungi known to produce host-

- specific toxins on the basis of variation in internal transcribed spacers of ribosomal DNA. *Curr. Genet.* 28, 491-498. Doi: <https://doi.org/10.1007/BF00310821>
- Landeros, F. Castillo, J. Guzmán, G. y Cifuentes, J. 2006.** Los hongos (macromicetos) conocidos en el Cerro el Zamorano (Querétaro-Guanajuato), México. *Rev. Mex. Micol.* 22, 3-25.
- Lanfear, R. Calcott, B. Kainer, D. Mayer, C. and Stamatakis, A. 2014.** Selecting optimal partitioning schemes for phylogenomic datasets. *BMC Evolutionary Biology.* 14, 1–14. Doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2148-14-82>
- Lanfear, R. Frandsen, P. B. Wright, A. M. Senfeld, T. and Calcott, B. 2017.** PartitionFinder 2: New methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution.* 34, 772–773. Doi: <https://doi.org/10.1093/molbev/msw260>
- Langer, G. J, Bußkamp, J. Terhonen, E. and Blumenstein, K. 2021.** Fungi inhabiting woody tree tissues. In: *Forest Microbiology.* Elsevier. 175-205. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822542-4.00012-7>.
- Lara, Ch. Ma. B. N. 2008.** Variabilidad fenotípica y patogénica de *Phytophthora cinnamomi* Rands en la franja aguacatera de Michoacán, México. Tesis de doctorado Universidad Autónoma de Nayarit.
- Largent, D. L. 1973.** How to Identify Mushrooms to Genus (Vol. 1). Macroscopic Features. Eureka, CA: Mad River Press. 151 p.
- Larsson, K. H. 2007.** Re-thinking the classification of corticioid fungi. *Mycological Research.* 111:9, 1040-1063. Doi <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.08.001>
- Larsson, K. H. Larsson, E. and K~oljalg, U. 2004.** High phylogenetic diversity among corticioid homobasidiomycetes. *Mycological Research.* 108:9, 983-1002. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0953756204000851>
- Li, Y. He, S-H. Chen, C-C. Nakasone, K. K. and Ma H-X. 2022.** Global Taxonomy and Phylogeny of Irpicaceae (Polyporales, Basidiomycota) With Descriptions of Seven New Species and Proposals of Two New Combinations. *Frontiers in Microbiology.* 13, 1-26. Doi:10.3389/fmicb.2022.911978
- Maddison, W. P. and Maddison, D. R. 2021.** Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.70. Available from <http://mesquiteproject.org> (accessed 16 April

2022).

- Martínez-González, C. R. Ramírez-Mendoza, R. Jiménez-Ramírez, J. Gallegos-Vázquez, C. and Luna-Vega, I. 2017.** Improved method for genomic DNA extraction for *Opuntia Mill.* (Cactaceae). *Plant Methods*. 13:82, 1–10. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0234-y>
- Matheny, P. B. Wang, Z. and Binder, M. 2007.** Contributions of *rpb2* and *tef1* to the phylogeny of mushrooms and allies (Basidiomycota, Fungi). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 43, 430–451.
- Mayer, T. Blachowicz, A. Probst, A. J. Vaishampayan, P. Checinska, A. Swarmer, T. de Leon, P. and Venkateswaran, K. 2016.** Microbial succession in an inflated lunar/Mars analog habitat during a 30-day human occupation. *Microbiome*. 4:22 Doi: <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0167-0>
- Medina-Jaritz, N. B. Palacios-Pacheco, M. R. y Valenzuela-Garza, R. 2012.** Adiciones al conocimiento de los hongos Poliporoides de Chiapas. *Acta Botánica Mexicana*. 101, 95–126.
- Mendoza, C. J. 2021.** Especies de *Ganoderma* asociadas a la pudrición de raíz en *Persea americana* Miller var *drymifolia* (Schltdl. y Cham) S.F. Blake. Tesis de maestría. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.
- Mohanta, T. K. and Bae, H. 2015.** The diversity of fungal genome. *Biological Procedures Online*. 17:8, 2-9. Doi: 10.1186/s12575-015-0020-z
- Molina-Sánchez, S. A. Delgado, P. González-Rodríguez, A. González, C. Gómez-Tagle, R. A. G. and Lopez-Toledo, L. 2019.** Spatio-temporal approach for identification of critical conservation areas: a case study with two pine species from a threatened temperate forest in Mexico. *Biodiversity and Conservation*. 28, 1863–1883. Doi: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa178>
- Montero, C. J. C. Garcia A. D. Olvera, M. E. I. y Lara C. S. I. 2016,** Sistemática de la nomenclatura binomial a la genómica, *Ciencia Nicolait*. 68, 52-79.
- Morales, G. J. L. 2009.** Enfermedades de importancia económica en el cultivo del aguacate en Michoacán, México., INIFAP. 44 p.
- Moreno-Rivas, E. I. y Díaz-Lezcano, M. I. 2021.** Arbolado urbano de la zona metropolitana de Asuncion (Paraguay) y hongos descomponedores asociados. *CEDAMAZ*. 11:2, 93-98. Doi:10.54753/cedamaz.v11i2.1176

- Mujica, M. I. Perez, M. F. Jakalski, M. Martos, F. and Selosse, M.A. 2020.** Soil P reduces mycorrhizal colonization while favors fungal pathogens: observational and experimental evidence in *Bipinnula* (Orchidaceae). *FEMS Microbiology. Ecology.* 96:11, 1-1321. Doi: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa178>.
- Muñiz-Villareal, H. M. 2014.** Control de hongos fitopatógenos de importancia agrícola utilizando como agente causal a *Bacillus thuringiensis* (Berliner). Maestría en ciencias biológicas con acentuación en microbiología, Universidad Autónoma de Nueva León. 14 p.
- Nava, R. y Valenzuela, R. 1997.** Los poliporáceos de México IV. Especies poco conocidas. *Reporte Científico.* 13, 182–193.
- Nguyen, L. D. N. Viscogliosi, E. and Delhaes, L. 2015.** The lung mycobiome: An emerging field of the human respiratory microbiome. *Frontiers in Microbiology.* 6:89, 1–9. Doi: [10.3389/fmicb.2015.00089](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00089)
- Niego, A. G. Rapior, S. Thongklang, N. Raspe, O. Jaidee, W. Lumyong, S. and Hyde, K. D. 2021.** Macrofungi as a nutraceutical source: promising bioactive compounds and market value. *J. Fungi.* 7, 397. <https://doi.org/10.3390/jof7050397>.
- Ohr, M. Halliday, A. N. and Peacot, D. R. 1991.** Isotopic evidence for punctuated clay diagenesis, Texas Gulf Coast., *Earth and Planet. Sci. Lett.* 105, 110-126. in press
- Olalde, L. G. G. Raya, M. Y. A. Apáez, B. P. Vargas-Sandoval, M. Pedraza, S. M. E. Raymundo, T. Valenzuela, G. R. and Lara-Chávez, Ma. B. N. 2020.** Characterization of *Fusarium* spp., A Phytopathogen of avocado (*Persea americana* Miller var. *drymifolia* (Schltdl. And Cham.)) in Michoacan, Mexico. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias.* 52, 301–316.
- Old, K. M. Lee, S. See, S. J. K. and Yuan, Z. Q. 2000.** A Manual of Diseases of Tropical Acacias in Australia, South-East Asia and India. Center for International Forestry Research (CIFOR). Bogor, Indonesia. Doi: <https://doi.org/10.17528/cifor/000639>.
- Ordaz, O. J. A. 2017.** Identificación genética y patogénica de especies de *Armillaria* (Vahl.: Fr.) Karsten asociadas a *Persea americana* Miller variedad *drymifolia* (Schltdl. Y Cham.) S.F. Blake. Tesis de maestría. Universidad Michoacana de san Nicolas de Hidalgo.
- Paré, L. 2010.** La relación campo-ciudad: elementos para agendas en común. *Revista ALASRU.* 5, 95–112.

- Piercey-Normore, M. D. and Bérubé J. A. 2000.** Artificial inoculation with *Armillaria ostoyae* in established conifers stressed by defoliation, planting, and thinning in Newfoundland. Canadian Forest Service, Natural Resources Canada. 30, 1758-1765.
- Prospero, S. Rigling, D. and Holdenrieder, O. 2003.** Population structure of *Armillaria* species in managed Norway spruce stands in the Alps. *New Phytol.* 158, 365-373.
- Rambaut, A. Suchard, M. A. Xie, D. and Drummond, A.J. 2014.** Tracer v1.6. Available from: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer> (accessed 16 April 2022).
- Raymundo, T. y Valenzuela, R. 2003.** Los poliporáceos de México VI. Los hongos poliporoides del estado de Oaxaca. *Polibotánica*.16, 79–112.
- Rayner, A. D. M. 1995.** Fungi, a vital component of ecosystem function in Woodland. In: D. Allsopp, R.R. Colwell y D.L. Howksworth (eds.). *Microbial Diversity and Ecosystem Function*. CAB International, Cambridge. 231-251.
- Reid, D. A. 1976.** Notes on polypores. 2. *Mem. NY Bot. Gard.* 28:1, 179-198.
- Riley, R. Salamov, A. A. Brown, D. W. Nagy, L. G. Floudas, D. Held, B. W. Levasseur, A. Lombard, V. Morin, E. Otilar, R. Lindquist, E. A. Sun, H. LaButti, K. M. Schmutz, J. Jabbour, D. Luo, H. Baker, S. E. Pisabarro, A. G. Walton, J. D. Blanchette, R. A., Henrissat, B. Martin, F. Cullen, D. Hibbett, D. S. and Grigoriev, I. V. 2014.** Extensive sampling of basidiomycete genomes demonstrates inadequacy of the white-rot/brown-rot paradigm for wood decay fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 111, 9923-9928. <https://doi.org/10.1073/pnas.1400592111>.
- Rodríguez, O. Garza, M. y Guzmán-Dávalos, L. 1994.** Inventario preliminar de los hongos del Volcán de Tequila, estado de Jalisco, México. *Rev. Mex. Mic.* 10, 103–111.
- Rodriguez-Couto, S. 2017.** Industrial and environmental applications of white-rot fungi. *Mycosphere.* 8, 456-466. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/8/3/7>.
- Ryvarden, L. 1991.** Genera of Polypores, Nomenclature and Taxonomy. *Synopsis fungorum* (Vol. 5.) Fungiflora A/S. 266 p, Oslo.
- Salinas, V. D. Cruz, M. A. Peraza, M. A Y. Valenzuela, L. B. Calderón, V. C. L. Sandoval, C. E. Martínez, A. C. J. Cuadras, C. E. J. Romero, R. L. J. Castro L. M. L. y Magallanes, T. M. A. 2021.** Manual para el establecimiento del cultivo de aguacate en la zona centro norte de Sinaloa. 1er Edición. CODESIN. 124 p.

- Schoch, C. L. Seifert, K. A. Huhndorf, S. Robert. V. Spouge, J. L. Levesque, C. A. and Chen, W. 2012.** Fungal Barcoding Consortium. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Science, USA.* 109, 6241-6246 Pp.
- Schwarze, F. W. M. R. Engels, J. and Mattheck, C. 2000.** *Fungal Strategies of Wood Decay in Trees.* Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg. Doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-57302-6>.
- Shenoy, B. D. Rajesh, J. and Hyde, K. D. 2007.** Impact of DNA sequence-data on the taxonomy of anamorphic fungi. *Fungal Diversity.* 26, 1-54.
- SIAP, 2021.** “Resumen nacional por estado” Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx/resumen-nacional-por-estado/> consultado 12 de enero del 2023
- Sinclair, W. A. and Lyon, H. H. 2005.** *Diseases of trees and shrubs.* 2dn Edición. Comstock Publishing Associates. 660 p.
- Sjökvist, E. Larsson, E. Eberhardt, U. Ryvarden, L. and Larsson, K. H. 2012.** Stipitate stereoid basidiocarps have evolved multiple times. *Mycologia.* 104, 1046–1055. Doi: 10.3852/11-174
- Spirin, W. 2003.** *Antrodiella romellii* (Irpicaceae, Basidiomycetes) in Russia. *Mycena.* 3, 48–52.
- Stamatakis, A. 2014.** RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics.* 30, 1312–1313. Doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
- Stamets, P. 1996.** *Psilocybin Mushrooms of the World.* Ten Speed Press Berkeley, California. 127 p.
- Strope, P. K, Skelly, D. A. Kozmin, S. G, Mahadevan, E. A. Magwene, P. M. Dietrich, S. F. and McCusker H. J. 2015.** The 100-genomes strains, an *S. cerevisiae* resource that illuminates its natural phenotypic and genotypic variation and emergence as an opportunistic pathogen. *Genome Research.* 125, 762–774.
- Suryadi, H. Judono, J. J. Putri, M. R. Eclessia, A. D. Ulhaq, J. M. Agustina, D. N. and Sumiati, T. 2022.** Biodelignification of lignocellulose using ligninolytic enzymes from white-rot fungi. *Heliyon.* 8-08865. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08865>.

- Swiecki, T.J. and Bernhardt, E.A. 2006.** A Delicate balance: Impacts of diseases and insects on the health of California oaks. *Fremontia*. 18, 58-63.
- Tedersoo, L. Bahram, M. Põlme, S. Kõljalg, U. Yorou, N. S. Wijesundera, R. Villarreal, L. R. Vasco-Palacios, A. M. Thu, P. Q. Ave Suija, A. Smith, M. E. Sharp, C. Saluveer, E. Saitta, A. Rosas, M. Riit, T. Ratkowsky, D. Pritsch, K. Põldmaa K. Piepenbring, M. Phosri, Ch. Peterson, P. K. Pärtel, K. Otsing, E. Nouhra, E. Njouonkou, A. L. Nilsson, H. R. Morgado, N. L. Mayor, J. May, W. T. Majuakim, L. Lodge, D. J. Lee, S. S. Larsson, K.-H. Kohout, P. Hosaka, K. Hiiasalu, I. Henkel, T. W. Harend, H. Guo, L.-d. Greslebin, A. Grelet, G. Geml, J. Gates, G. Dunstan, W. Dunk, C. Drenkhan, R. Dearnaley, J. De Kesel, A. Dang, T. Chen, X. Buegger, F. Brearley, F. Q. Bonito, G. Anslan, S. Abell, S. and Abarenkov, K. 2014.** Fungal biogeography. Global diversity and geography of soil fungi. *Science*. 346:6213, 1256688. Doi: 10.1126/science.1256688
- Toledo, R. Alcántar, J. J. Anguiano, J. y Chávez, G. 2009.** Expansión del cultivo del Aguacate y Deforestación en Michoacán. (*Boletín El Aguacatero*) no. 58.
- Trigiano, R. N. Ament, M. H. Windha, M. T. and Moulton, J. K. 2004.** Genetic profiling of red-bracted *Cornus kousa* cultivars indicates significant cultivar synonymy. *HortScience*. 39, 489-492.
- Valenzuela, R. y Huerta, C. P. 2002.** Los Poliporáceos de México V. Algunas especies del norte del estado de Querétaro. *Polibotánica*. 9, 85–122.
- Vilgalys, R. and Hester, M. 1990.** Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology*. 72, 4238–4246. Doi: <https://doi.org/10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990>
- Vu, D. Groenewald, M. de Vries, M. Gehrman, T. Stielow, B. Eberhardt, U. Al-Hatmi, A. Groenewald, J. Z.; Cardinali, G. Houbraeken, J. Boekhout, T. Crous, P. W. Robert, V. and Verkley, G. J. M. 2019.** Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. *Stud. Mycol.* 92, 135–154. Doi: 10.1016/j.simyco.2018.05.001
- White, T. J. Bruns, T. D. Lee, S. and Taylor, J. W. 1990.** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenies. In: Innis, M.A.,

Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. & White, T. (Eds.), PCR Protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, San Diego. 135–322.

Wijaya-Wardene, N. N. Hyde, K. D. Al-Ani, L. K. T. Tedersoo, L. Haelewaters, D. Rajeshkumar, K. C. Zhao, R. L. Aptroot, A. Leontyev, D. V. Saxena, R. K. Tokarev, Y. S. Dai, D. Q. Letcher, P. M. Stephenson, S. L. Ertz, D. Lumbsch, H. T. Kukwa, M. Issi, I. V. Madrid, H. Phillips, A. J. L. Selbmann, L. Pfliegler, W. P. Horváth, E. Bensch, K. Kirk, P. M. Kolaříková, K. Raja, H. A. Radek, R. Papp, V. Dima, B. Ma, J. Malosso, E. Takamatsu, S. Rambold, G. Gannibal, P. B. Triebel, D. Gautam, A. K. Avasthi, S. Suetrong, S. Timdal, E. Fryar, S. C. Delgado, G. Réblová, M. Doilom, M. Dolatabadi, S. Pawłowska, J. Z. Humber, R. A. Kodsueb, R. Sánchez-Castro, I. Goto, B. Silva, D. K. A. de Souza, F. A. Oehl, F. da Silva, G. A. Silva, I. R. Blaszkowski, J. Jobim, K. Maia, L. C. Barbosa, F. R. Fiuza, P. O. Divakar, P. K. Shenoy, B. D. Castañeda-Ruiz, R. F. Somrithipol, S. Lateef, A. A. Karunarathna, S. C. Tibpromma, S. Mortimer, P. E. Wanasinghe, D. N. Phookamsak, R. Xu, J. Wang, Y. Tian, F. Alvarado, P. Li, D. W. Kušan, I. Matočec, N. Mešić, A. Tkalčec, Z. Maharachchikumbura, S. S. N. Papizadeh, M. Heredia, G. Wartchow, F. Bakhshi, M. Boehm, E. Youssef, N. Hustad, V. P. Lawrey, J. D. Santiago, A. L. C. M. A. Bezerra, J. D. P. Souza-Motta, C. M. Firmino, A. L. Tian, Q. Houbraken, J. Hongsanan, S. Tanaka, K. Dissanayake, A. J. Monteiro, J. S. Grossart, H. P. Suija, A. Weerakoon, G. Etayo, J. Tsurykau A. Vázquez, V. Mungai, P. Damm, U. Li, Q. R. Zhang, H. Boonmee, S. Lu, Y. Z. Becerra, A. G. Kendrick, B. Brearley, F. Q. Motiejūnaitė, J. Sharma, B. Khare, R. Gaikwad, S. Wijesundara, D. S. A. Tang, L. Z. *, He, M. Q. Flakus, A. Rodriguez-Flakus, P. Zhurbenko, M. P. McKenzie, E. H. C. Stadler, M. Bhat. D. J. Liu, J. K. Raza, M. Jeewon, R. Nassonova, E. S. Prieto, M. Jayalal, R. G. U. Erdoğdu, M. Yurkov, A. Schnittler, M. Shchepin, O. N. Novozhilov, Y. K. Silva, F. A. G. S. Gentekaki, E. Liu, P. Cavender, J. C. Kang, Y. Mohammad, S. Zhang, L. F. Xu, R. F. Li, Y. M. Dayarathne, M. C. Ekanayaka, A. H. Wen, T. C. Deng, C. Y. Pereira, O. L. Navathe, S. Hawksworth, D. L. Fan, X. L. Dissanayake, L. S. Kuhnert, E. Grossart, H. P. and Thines, M. 2020. Outline of Fungi and fungus-like taxa. *Mycosphere*. 11: 1060–1456. Doi 10.5943/mycosphere/11/1/8

- Wingfield, B. D. Maphosa, L. Coetzee, M. P. A. Mwenje, E. and Wingfield, M. J. 2009.** Characterisation of Zimbabwean *Armillaria* using IGS-1 sequences and AFLP analysis. *Fungal Divers.* 34, 187–196.
- Wright, J. E. y Alberto, E. 2006.** Hongos: Guía de los hongos la región Pampeana II. Hongos sin laminillas. L.O.L.A., Buenos Aires 410 p.
- Wu, G. Feng, B. Xu, J. Zhu, X. T. Li, Y. C., Zeng, N. K. Hosen, M. I. and Yang, Z. L. 2014.** Molecular phylogenetic analyses redefine seven major clades and reveal 25 new generic lineages in the fungal family Boletaceae. *Fungal Diversity.* 69, 93–115. Doi: 10.1007/s13225-014-0283-8
- Xie, C. Gong, W. Zhu, Z. Zhou, Y. Xu, C. Yan, L. Hu, Z. Ai, L. and Peng, Y. 2021.** Comparative secretome of white-rot fungi reveals co-regulated carbohydrate-active enzymes associated with selective ligninolysis of ramie stalks. *Microb. Biotechnol.* 14, 911-922. Doi: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13647>.
- Zhang, Z. Schwartz, S. Wagner, L. and Miller, W. 2000.** A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *Journal of Computational Biology.* 7, 203–214.
- Zhao, C. L. Cui, B. K. Song, J. and Dai, Y. C. 2015.** Fragiliporiaceae, a new family of Polyporales (Basidiomycota). *Fungal Diversity.* 70, 115-126.
- Zhu, M. Q. Cao, Z. M. and Li, Z. Q. 2004.** Evolution of Polyporales Classification and Advances on Taxonomic Studies of Polyporales in China. *Journal-Northwest Forestry University.* 19:1, 98-101. Recuperado de: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-XBLX200401028.htm