

CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS CON EL DAÑO DE LA LENTICELA DEL FRUTO DE AGUACATE CV. HASS EN PLANTACIONES COLOMBIANAS

Cataño-Useche, Carolina¹; Villegas-Escobar, Valeska¹; Mosquera, Sandra¹; **Saavedra-Porras, Susan²**

¹Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad EAFIT.

²Avofruit S.A.S Cartama. Correo-e: ssaavedra@cartama.com

Resumen

El daño a la lenticela es una afectación que limita la producción de aguacate cv. Hass. Daños de lenticela severos afectan la calidad del fruto y disminuyen su valor. Existe escasa información acerca de la causalidad de esta afectación y la que está disponible es inconsistente. Este estudio tuvo como objetivo caracterizar los microorganismos cultivables asociados a lenticelas sintomáticas con el fin de evaluar su participación en el desarrollo del daño de la lenticela de aguacate cv. Hass. En el estudio, 63 microorganismos fueron aislados a partir de frutos con síntomas típicos del daño de la lenticela provenientes de dos unidades productivas pertenecientes al grupo Cartama y con prevalencias diferenciales del daño. Estos microorganismos fueron identificados molecularmente y su potencial patogénico evaluado en frutos sanos. No se evidenciaron diferencias entre los aislados provenientes de las dos unidades productivas los cuales estuvieron enriquecidos en *Colletotrichum* spp. capaces de generar afectaciones en frutos sanos. Muchos de los géneros aislados ya habían sido asociados al daño de la lenticela, sin embargo, otros como *Phyllosticta* y *Nigrospora* no habían sido reportados. El potencial patogénico de *Phyllosticta* fue corroborado. A pesar de que no se logró agente causal del daño de la lenticela pues el daño no pudo ser replicado *in vitro*, los resultados de este estudio aportan al entendimiento del daño de la lenticela de aguacate cv Hass y da pie a futuras evaluaciones.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., Fitopatógenos, Agente causal.

CHARACTERIZATION OF MICROORGANISMS ASSOCIATED WITH THE LENTICELLE DAMAGE OF THE CV. HASS AVOCADO FRUIT IN COLOMBIAN PLANTATIONS

Abstract

Damage to lenticels is an affectation that limits the production of Hass avocado. Severe lenticel damage affects the quality of the fruit and reduces its value. There is little information about the causality of this affectation and what is available is inconsistent. The objective of this work was to characterize the cultivable microorganisms associated with symptomatic lenticels to evaluate their participation in the development of damage to Hass avocado lenticels. At work, 63 microorganisms were isolated from fruits with typical symptoms of lenticel damage from two farms belonging to the Cartama group and with differential prevalence of damage. These microorganisms were identified molecularly, and their pathogenic potential evaluated in healthy fruits of. There were no differences between the isolates from the two farms, which were enriched in *Colletotrichum* spp. capable of causing damage to healthy fruits. Many of the isolated genera had already been associated with lenticel damage, however, others such as *Phyllosticta* and *Nigrospora* had not been reported. The pathogenic potential of *Phyllosticta* was corroborated. Although the causal agent of the lenticel damage was not achieved since the damage could not be replicated *in vitro*, the results of this work contribute to the understanding of the damage of the Hass avocado lenticel and give rise to future evaluations.

Key words: *Persea americana* Mill., Phytopathogens, Causal agent.

Introducción

Colombia cuenta con casi 15.5 mil ha cultivadas de *Persea americana* cv. Hass que producen cerca de 95.3 mil t de fruta al año. Gran parte de esta fruta se exporta a países como Canadá, Estados Unidos, países de la Unión Europea, Rusia, entre otros. A pesar de su reciente apogeo, este cultivo no alcanza su potencial productivo en el país. El rendimiento de estos cultivos se estima es alrededor de 9.0 t ha⁻¹, el cual es bajo, considerando que el rendimiento potencial de *P. americana* cv. Hass es cercano a las 30 t ha⁻¹ (Mesa, 2020).

Múltiples factores son determinantes para los rendimientos y la calidad de la fruta en los cultivos de *P. americana* cv. Hass. La producción de *P. americana* cv. Hass es favorecida por climas fríos moderados típicos de los pisos térmicos que se encuentran entre los 1800 a 2600 msnm en el país (Bernal y Diaz, 2020). Los manejos a que se someten los árboles también son determinantes pues unos buenos manejos resultan en un mayor número de frutos que satisfacen los estándares de calidad para exportación (Bernal y Diaz, 2020). Por el contrario, las enfermedades y afectaciones que impactan los frutos durante la postcosecha son factores limitantes. Entre estas enfermedades y afectaciones, el daño de la lenticela se destaca, este se caracteriza por la aparición de manchas de color café oscuro o negro bien definidas con diámetros entre 1 mm y 5 mm que se desarrollan alrededor de la lenticela y se limita al exocarpo del fruto (Everett et al., 2008).

Para *P. americana* cv. Hass, las pérdidas derivadas del daño de la lenticela se estiman cercanas a USD 4.8 por Ton, un valor superior a las pérdidas causadas por otros factores como daños producidos por ácaros, quemaduras solares y golpes (Ramírez-Gil et al., 2020). Las causas del daño de la lenticela no son claras, actualmente, el estrés mecánico sufrido por el fruto durante la cosecha y la postcosecha es una de las causas más aceptadas. Se hipotetiza que la necrosis observada en las lenticelas resulta de la oxidación de polifenoles que son liberados por células que mueren a causa del estrés mecánico (Zamora- Magdaleno et al., 2001). Otra posible causa son las infecciones causadas por hongos fitopatógenos.

Con el fin de esclarecer las causas del daño de la lenticela, el presente estudio evaluó la participación de microorganismos fitopatógenos en esta afectación. Específicamente, se determinaron cuáles son los microorganismos cultivables asociados al daño de la lenticela en dos unidades productivas de aguacate cv. Hass ubicadas en dos regiones diferentes de Colombia y se evaluó su capacidad de reproducir el daño.

Materiales y Métodos

Descripción de las unidades productivas y toma de muestras

Se seleccionaron para el estudio dos unidades productivas (UP) del grupo Cartama con diferentes condiciones agroclimáticas y niveles de afectación del daño de la lenticela (Cuadro 1). Se seleccionaron al azar para cada UP 25 frutos maduros (materia seca 24 %) con síntomas típicos del daño de la lenticela y necrosis del pedúnculo de la cosecha principal del 2019. Estos frutos fueron cosechados con sus pedúnculos, sumergidos en una solución de Timorex Gold[®] (Stockton, Israel) a 2 ml L⁻¹ y transportados a la universidad EAFIT en donde se almacenaron por 21 días a 6 °C simulando las condiciones a las que son sometidos los frutos de exportación.

Cuadro 1. Descripción de las condiciones geográficas, climáticas y el nivel de afectación del daño de la lenticela de frutos de aguacate 'Hass' para las dos unidades productivas del grupo Cartama.

Unidad productiva	Altura (msnm)	Precipitación anual (mm)	Temperatura anual promedio (°C)	Ubicación	Humedad relativa anual promedio	Daño lenticela
Sinaí	2000	1670	14.5	Anserma, Caldas	87 %	Alto
Coordenadas: 5°16' 57.12" N 75° 47' 59.23" O						
Escondida	2200	2248	16	Rionegro, Antioquia	85 %	Bajo
Coordenadas: 6° 5' 58.274" N 75° 26' 30.48" O						

Aislamiento de los microorganismos asociados al daño de la lenticela

Para cada UP, se tomaron muestras de alrededor 25 mm² de área y 3 mm de profundidad con tejido sano y sintomático del exocarpo, y del pedúnculo de 20 frutos para los aislamientos fúngicos. Los 5 frutos restantes se emplearon para los aislamientos bacterianos. En estos frutos se tomaron muestras similares, pero solo del exocarpo. Para los aislamientos fúngicos, las muestras de exocarpo o de pedúnculo fueron sembradas en cajas Petri con PDA (agar de papa y dextrosa marca Oxoid) al 50 % y se incubaron a 30 °C hasta observar crecimiento micelial. El micelio resultante fue sometido a múltiples pases en PDA al 50 % hasta la obtención de colonias puras las cuales fueron almacenadas en glicerol al 20 % a -80 °C y activadas en PDA al 50 % por 8 días a 30 °C para su caracterización. Para los aislamientos bacterianos, se emplearon muestras compuestas que constituían en 4 muestras de exocarpo provenientes de un mismo fruto. Estas muestras compuestas se pasaron a un Erlenmeyer de 250 con 50 ml de buffer fosfato

(1.0 M, pH: 7) e incubaron por 24 horas a 120 rpm y 30 °C. El sobrenadante se recuperó y centrifugo a 4500 rpm por 15 minutos, y el pellet resultante se sembró en cajas Petri con agar tripticasa de soya al 50 % por agotamiento. Las cajas fueron incubadas a 30 °C por 48 horas, tiempo a partir del cual se evidenciaron las colonias bacterianas.

Caracterización e identificación de los microorganismos asociados al daño de la lenticela

La caracterización morfológica de las colonias de los aislados se hizo visualmente a partir de colonias fúngicas crecidas en PDA y colonias bacterianas crecidas en TSA. Para las cepas fúngicas se caracterizó la morfología del micelio y de estructuras reproductivas. Para las cepas bacterianas, las células se tiñeron con la tinción Gram y se caracterizó su morfología.

En el caso de los hongos, la homogenización del micelio se hizo con nitrógeno líquido y fuerza mecánica y la extracción de DNA se hizo con el DNeasy powersoil kit siguiendo las indicaciones del fabricante. Para las bacterias, la extracción de DNA se hizo empleando el protocolo de Dellaporta et al. (1983).

Para la identificación molecular de los aislados fúngicos se extrajo DNA genómico de la biomasa obtenida a partir de cultivos de 48 horas en caldo Sabroud (Merck, Alemania) o en TSB para los bacterianos. Un volumen de 2.5 µl del DNA genómico extraído se empleó en reacciones de PCR de 25 µl de GoTaq® Green Master (Promega, Madison, WI) según las instrucciones del fabricante. Las amplificaciones resultantes fueron enviadas a Macrogen (Corea del sur) para su secuenciamiento en ambas direcciones (forward y reverse) con el método Sanger empleando como primers de secuenciamiento los mismos primers empleados para la amplificación en la PCR.

Para la asignación taxonómica, los electroferogramas de las dos secuencias obtenidas (forward y reverse) fueron visualizadas y los extremos de las secuencias trimados manualmente teniendo la calidad de la secuencia como criterio. Estas secuencias fueron alineadas empleando un alineamiento global con free end gaps y un costo de matriz con el 65 % de similaridad en Geneious Prime (versión 2020.2.4) para obtener una secuencia consenso por organismo. En los casos en los que no se contaba con ambas secuencias, es decir, cuando la calidad de una de ellas no era confiable, se empleó una única secuencia en lugar de la secuencia consenso.

Para los aislados bacterianos, la asignación se hizo comparando las secuencias de cada aislado con otras secuencias reportadas en el GenBank empleando la herramienta Nucleotid Basic Local Aligment Search Tool (Altschul et al., 1990). Para los aislados fúngicos, un alineamiento similar al empleado para obtener las secuencias consenso se realizó incluyendo las secuencias de los aislados y secuencias de cepas tipo de organismos asociados a patologías de aguacate. El alineamiento obtenido se empleó para la construcción de un árbol filogenético por medio del método estadístico maximum likelihood en MEGA (Versión X-64). Este análisis empleó una sustitución tipo nucleotídica con el modelo kimura2-parameter y un tratamiento de gaps de deleción completa y el método filogenético empleado fue remuestreo (“botstrap”) con 100 réplicas. La agrupación del árbol filogenético obtenido fue empleada para la asignación taxonómica de los aislados fúngicos.

La prueba exacta de Fisher se empleó para evaluar diferencias entre los aislados fúngicos procedentes de las dos UP y de los dos tejidos de aislamiento (exocarpo y pedúnculo). Para el análisis se utilizó el programa R Core Team, 2020, del cual se usó la función ‘fisher.test’ del paquete Stats versión 4.04. usando un nivel de confianza del 95% en el análisis de los datos. Por su parte, la diversidad alfa de las comunidades fúngicas aisladas se calculó empleando la función ‘Diversity’ del paquete Vegan versión 2.5.7 (Oksanen et al., 2020).

Ensayos de patogenicidad

Para la preparación de los inóculos para los ensayos de patogenicidad, los aislados fueron activados en PDA al 50 % o en TSA al 50 % y crecidos en tubos falcón de 15 ml con 10 ml de caldo Sabroud para los aislados fúngicos y TSB para los bacterianos.

Se realizaron dos ensayos de patogenicidad de tamizaje con el fin de identificar los aislados con potencial patogénico. Estas evaluaciones incluyeron todos los aislados fúngicos y bacterianos, y fueron seguidas por una tercera evaluación la cual solo incluyo los aislados con potencial patogénico.

Resultados y Discusión

Se obtuvo un total de 63 aislados a partir del exocarpo y del pedúnculo de frutos de aguacate cv. Hass con síntomas típicos del daño de la lenticela (Cuadro 2). El 82.5 % de los aislados (52) fueron fúngicos y los demás (11) bacterianos. De los aislados fúngicos, 30 provenían de frutos de la UP El Sinaí, correspondientes a 16 aislados del pedúnculo y 14 del exocarpo del fruto. Los

22 restantes provenían de frutos de la UP La Escondida, con 6 aislados del pedúnculo y 16 del exocarpo del fruto. En el caso de los aislados bacterianos, 4 provenían del exocarpo de frutos de la UP El Sinaí y 7 del exocarpo de frutos de la UP La Escondida. Estas evaluaciones no incluyeron aislados bacterianos provenientes del pedúnculo.

Cuadro 2. Microorganismos aislados a partir lenticelas sintomáticas y pedúnculos necrosados de frutos de *Persea americana* cv. Hass con síntomas típicos del daño de la lenticela discriminados según la procedencia.

Microorganismo	Unidad productiva				Total
	Sinaí		Escondida		
	Tejido Vegetal				
	Pedúnculo	Fruto	Pedúnculo	Fruto	
Hongos	16	14	6	16	52
Bacterias	NA	4	NA	7	11
Aislados con asignación taxonómica					
Hongos	8	11	6	11	36
Bacterias		4		6	10

NA: No aislados

Caracterización morfológica de los aislados

Todos los aislados fúngicos presentaron micelio septado y en su mayoría colonias algodonosas y filamentosas, con patrones de colores y texturas variables (Figura 1A-H). Los aislados se clasificaron en 8 grupos morfológicos definidos con base en las morfologías de colonias predominantes observadas (Figura 1 B-H). Los grupos 1 y 2 contenían el mayor número de aislamientos con el 22.6 % (12 aislados) y el 21.0 % (11 aislados). Seguido por el grupo 3 con el 13.2 % (7 aislados), el grupo 4 y 5 con el 9.4 % (5 aislados), cada uno, el grupo 6 con el 5.6 % (4 aislados) y el grupo 7 con un 3.8 % (2 aislados). Los demás aislados (7 aislados) no fueron incluidos en los grupos morfológicos pues tenían una morfología de colonia distintiva o la morfología no fue caracterizada pues estos perdieron viabilidad durante el proceso de almacenamiento (16 aislados). Algunos aislados desarrollaron estructuras reproductivas bajo las condiciones evaluadas. Tres tipos de estructuras fueron observados (Figura 1 I-K). Las estructuras más comunes fueron esporas unicelulares, cilíndricas y hialinas (Figura 1 I) observadas para la mayoría de los aislados del grupo morfológico 2 (9 aislados) y tres aislados del grupo morfológico 4. Dos aislados de los grupos morfológicos 4 y 5 presentaron esporas semicilíndricas y melanizadas con septos horizontales y verticales (Figura 1 J) y un aislado del grupo 3 presento estructuras melanizadas circulares (Figura 1 K).

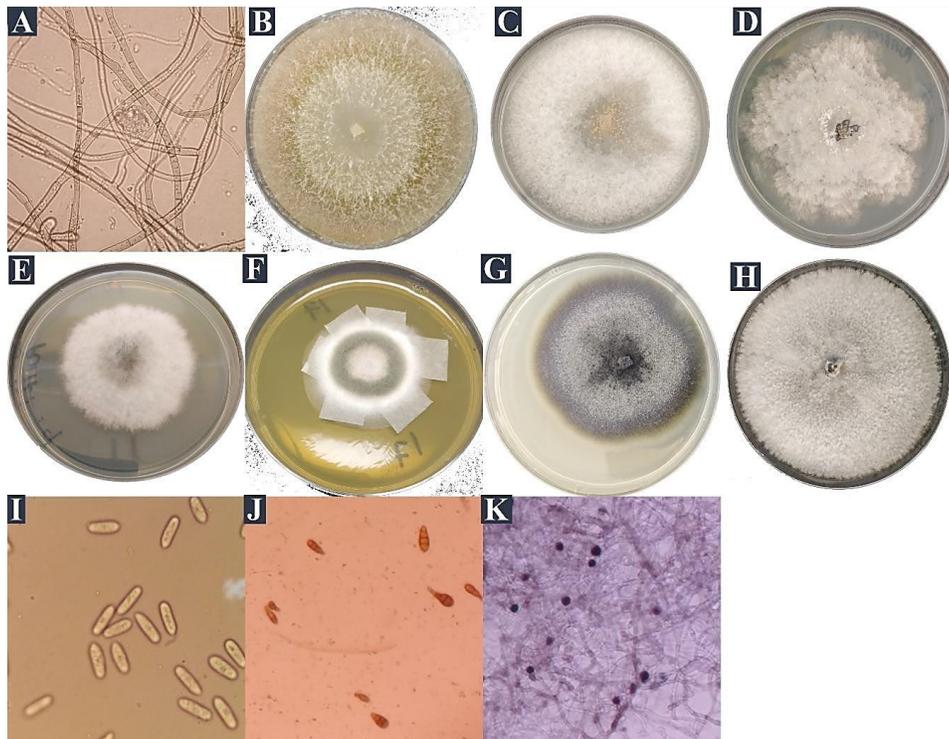


Figura 1. Caracterización morfológica de los aislados fúngicos obtenidos a partir lenticelas sintomáticas y pedúnculos necrosados de frutos de aguacate cv. Hass con síntomas típicos del daño de la lenticela provenientes de las unidades productivas El Sinaí y La Escondida. A) Imagen representativa del micelio septado. B-H) Fotos representativa de los ocho grupos morfológicos. J-K) Imágenes de las estructuras reproductivas formadas por los aislados fúngicos. Las fotos corresponden a cultivos de 8 días en PDA al 50 %.

En el caso de los aislados bacterianos, todos fueron cocobacilos Gram negativos y solo dos morfologías de colonia fueron evidenciadas. Estas morfologías de colonias se emplearon para dividir los aislados bacterianos en dos grupos morfológicos (Figura 2) en donde el grupo morfológico A fue predominante con el 72.2 % de los aislados (8 aislados).

Asignación taxonómica de los aislados

La asignación a nivel de género se logró para 36 aislados fúngicos (69.2 %) a través de técnicas moleculares. Entre los 16 aislados que no fueron identificados estaban aquellos que perdieron viabilidad durante el proceso de almacenamiento (15 aislados) o aislados con electroferogramas de baja calidad que imposibilitaron la asignación taxonómica (1 aislado). El género *Colletotrichum* fue predominante con 13 aislados (36.1 %). Otros géneros observados fueron *Neurospora*, con seis aislados (16.6 %), *Nigrospora*, *Diaporthe* y *Phyllosticta*, cada uno con 3 aislados (8.3 %),

Bipolaris con 2 aislados (5.5 %), *Daldinia* y *Entoanema*, con un aislado cada uno (2.7 %). Cuatro aislados (11.1 %) recibieron una asignación preliminar entre los géneros *Cytospora* y *Diaporthe*. La composición de las comunidades fúngicas aisladas no difería de una UP a la otra con un nivel de confianza del 95 % según la prueba de Fisher (Figura 3A, $P=0.074$). Aunque, la comunidad aislada de El Sinaí fue ligeramente más diversa según la probabilidad de Simpson (0.78 comparada a 0.75 para La Escondida). Mientras que los géneros *Colletotrichum*, *Bipolaris*, *Nigrospora*, *Neurospora*, *Cytospora* y *Diaporthe* fueron aislados de ambas UP, géneros como *Entoanema* y *Phyllosticta* fueron exclusivos del Sinaí y *Daldinia* de La Escondida.

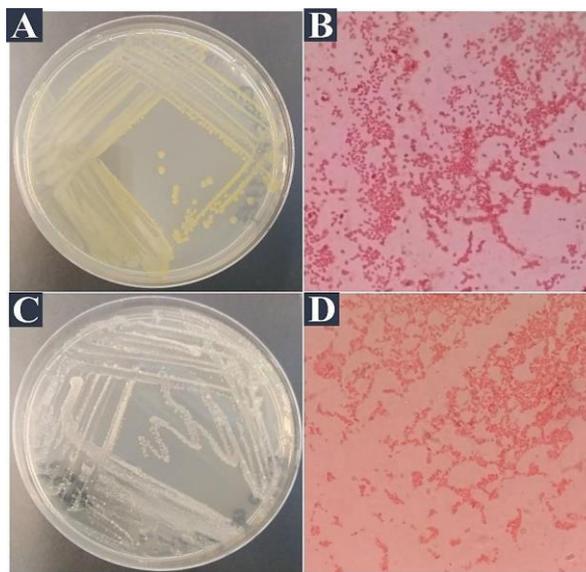


Figura 2. Caracterización morfológica de los aislados bacterianos obtenidos a partir de lenticelas sintomáticas de frutos de *Persea americana* cv. Hass con síntomas típicos del daño de la lenticela provenientes de las unidades productivas El Sinaí y La Escondida. A y C) Imágenes representativa de los dos grupos morfológicos. B-D) Imágenes representativas de las tinciones de Gram. Las fotos corresponden a cultivos de 4 días en TSA.

Contrario a lo observado para las UP, las comunidades fúngicas aisladas provenientes del exocarpo del fruto difirieron a las provenientes del pedúnculo (Figura 3B, $P<0.001$), siendo la comunidad del pedúnculo más diversa (probabilidad de Simpson de 0.82 comparada a 0.64 para el exocarpo del fruto). *Colletotrichum* fue el género prevalente en el exocarpo del fruto representando el 52.2 % de aislados provenientes de este tejido, respectivamente. En el pedúnculo, los géneros dominantes fueron *Neurospora*, representando el 30.8 % de los aislados (4 aislados), y *Nigrospora*, representando el 23.1 % (3 aislados).

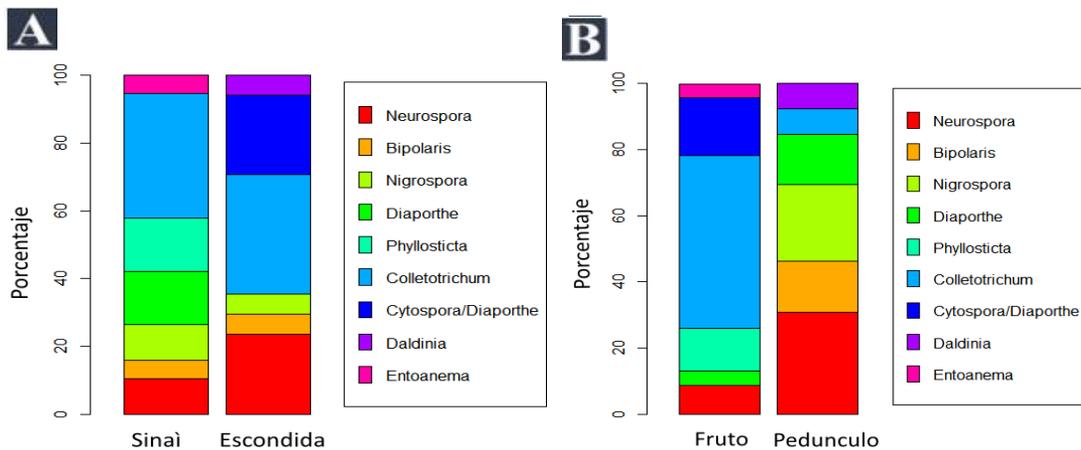


Figura 3. Comunidades fúngicas aisladas a partir de lenticelas sintomáticas y pedúnculos necrosados de frutos de *Persea americana* cv. Hass con síntomas típicos del daño de la lenticela discriminados según A) la unidad productiva (El Sinai y La Escondida) y B) el tejido de aislamiento (fruto y pedúnculo).

La diversidad en los aislados bacterianos fue baja observándose un género dominante (*Pantoea*) asignado al 60.0 % de los aislados (6 aislados). Los demás aislados fueron asignados a los géneros *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, y la familia Enterobacteriaceae.

Ensayos de Patogenicidad

El 30.1 % de los aislados fúngicos (16 aislados) generaron alguna afectación al ser inoculados en frutos sanos de aguacate cv. Hass en los ensayos de tamizaje. Cuatro tipos de afectaciones fueron identificadas (Figura 4): Aumento del número o tamaño de las lenticelas necrosadas (Figura 4A), crecimiento micelial, (Figura 4B), pudrición del fruto (Figura 4C) y aparición de islas verdes (Figura 4D). Todas estas afectaciones coincidieron con el sitio de inoculación y fueron independiente del tipo de inoculación. Los aislados bacterianos también fueron incluidos en estas evaluaciones, sin embargo, ninguno causó afectaciones por lo que fueron considerados como aislados sin potencial patogénico.

Entre los aislados más patogénicos se encontró *Colletotrichum*, que fue recurrente con cinco aislados pertenecientes a este género, *Neurospora* (1 aislado), *Bipolaris* (1 aislado), *Phyllosticta* (1 aislado) y *Cytospora* (1 aislado).

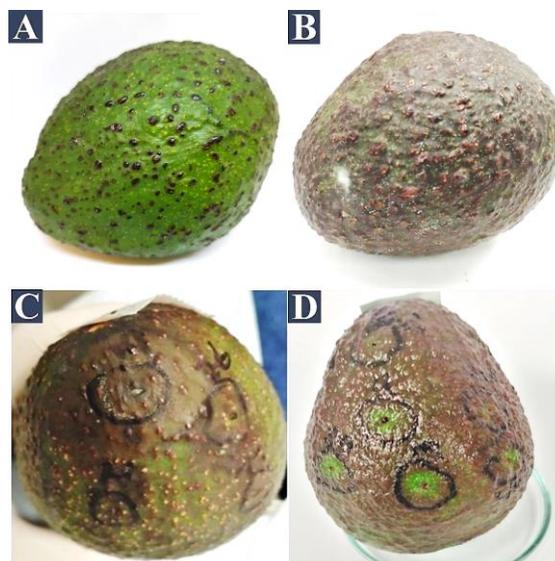


Figura 4. Afectaciones observadas en frutos sanos de *Persea americana* cv. Hass inoculados con los aislados fúngicos obtenidos a partir de lenticelas sintomáticas y pedúnculos necrosados de frutos de *Persea americana* cv. Hass con síntomas típicos del daño de la lenticela provenientes de las unidades productivas El Sinaí y La Escondida. Imágenes típicas de, A) el aumento en las lenticelas, B) el crecimiento micelial en el exocarpo del fruto, C) la pudrición del fruto alrededor de la inoculación, y D) desarrollo de islas verdes.

Muchas de las cepas fúngicas encontradas pertenecían a géneros como *Colletotrichum* y *Diaporthe* que ya habían sido reportados como géneros asociados al daño de la lenticela de *P. americana* cv. Hass en trabajos similares (Darvas, Jozsef, 1982; Tamayo Molano, 2007). Sin embargo, otros géneros como *Phyllosticta* y *Nigrospora*, que también fueron aislados, no habían sido reportados. Independiente de haber sido asociados al daño de la lenticela, la mayoría de los géneros aislados han sido reconocidos por incluir hongos fitopatógenos capaces de producir síntomas como chancros, antracnosis, manchas negras y tizón en diversos cultivos (Baayen et al., 2002; Fang et al., 2020).

Un número limitado de trabajos han evaluado la relación entre el daño de la lenticela y fitopatógenos bacterianos (Scortichini, 2010; Smith, 1925). En particular, Smith (1925) atribuye el daño de la lenticela del aguacate a *Bacterium citriputeale*, actualmente, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Entre los aislados bacterianos, solo un aislado pertenecía al género *Pseudomonas*, pero este no mostró potencial patogénico. *Pantoea*, que fue el género más común, también incluye algunos fitopatógenos capaces de causar chancros en cítricos y tizón en arroz (Sherafati et al., 2014). Sin embargo, este no ha sido reportado como fitopatógeno de aguacate lo que es consecuente con nuestras observaciones de que ninguno de nuestros aislados causó daño en *P.*

americana cv. Hass. Entre nuestros aislados bacterianos también observamos *Bacillus* sp., *Paenibacillus* sp. *Enterobacteriaceae* sin embargo estos tampoco han sido reportados como patógenos de aguacate y no generaron síntomas.

En este trabajo, no encontramos evidencia de que las diferentes severidades del daño de la lenticela observado para las UP este asociado a diferencias en la composición y la diversidad de las comunidades fúngicas. Las comunidades aisladas no fueron diferentes entre las UP a un nivel de confianza del 95 %, aunque vale mencionar que si se observaron diferencias a un nivel de confianza del 90 %. Otra observación importante es que algunos géneros estuvieron limitados a una UP específica. Por ejemplo, *Phyllosticta* spp. y *Entoanema* spp. solo fueron aislados del Sinaí y *Daldinia* spp de La Escondida. Por el contrario, *Colletotrichum* spp., *Bipolaris* spp., *Nigrospora* spp, *Neurospora* spp. y *Cytospora/Diaporthe* spp. fueron aislados de ambas UP. Esto es importante porque, mientras que estos géneros comunes podrían ser considerados como parte de la microflora típica del cultivo de *P. americana* cv. Hass., aquellos no comunes podrían ser pensados como géneros variables que dependen de las condiciones agroclimáticas de la UP.

Durante el estudio no se logró completar los postulados de Koch, por lo que no podemos asegurar que el agente causal del daño de la lenticela este entre los microorganismos aislados, sin embargo, los resultados son de importancia pues aportan al entendimiento del daño de la lenticela de aguacate cv Hass. Nuevos géneros con potencial patogénico fueron encontrados además de los comúnmente asociados con este daño. Esto reafirma lo observado por estudios previos y aporta conocimiento nuevo. Este estudio da pie a futuros estudios en los que se evalúen algunas de las preguntas que surgieron durante este ¿Existe una microflora común del cultivo de aguacate cv. Hass y otra variable que depende de las condiciones agroclimáticas de cada cultivo? ¿Qué implicaciones tienen esta microflora variable? ¿Existe una fase de latencia en el ciclo de vida del agente causal del daño de la lenticela que dificulta la replicación del daño *in vitro*? Futuras evaluaciones que incluyan más sitios de muestreo y evaluaciones de patogenicidad en campo permitirán dar respuesta a algunas de estas preguntas.

Literatura Citada

- Altschul, S., W. Gish, W. Miller, E. Myers, & D. Lipman. 1990. BLAST PROGRAMS, Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 215:403-410.
- Baayen, R. P., P. J. M. Bonants, G. Verkley, G. C. Carroll, H. A. Van Der Aa, M. De Weerd, I. R. Van Brouwershaven, G. C. Schutte, W. Maccheroni, C. Glienke de Blanco, and J. L. Azevedo. 2002. Nonpathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*, identified as a

- cosmopolitan endophyte of woody plants, *G. mangiferae* (*Phyllosticta capitalensis*). *Phytopathology* 92(5):464-477.
- Bernal, J. A., y C. A. Díaz (Compiladores.). 2020. Actualización tecnológica y buenas prácticas agrícolas (BPA) en el cultivo de aguacate (2.^a Ed.). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Agrosavia. Mosquera, Colombia. 772 p.
- Darvas, J. M. 1982. Etiology and Control of Some Fruit Diseases of Avocado (*Persea americana* Mill.) at Westfalia Estate. Doctor in Science on Agriculture thesis. University of Pretoria. Pretoria, South Africa.
- Everett, K., I. C. Hallett, J. Rees-George, R. W. Chynoweth, and H. A. Pak. 2008. Avocado lenticel damage: The cause and the effect on fruit quality. *Postharvest Biol. Technol.* 48(3):383-390.
- Fang, X., K. Qin, S. Li, S. Han, & T. Zhu. 2020. Whole genome sequence of *Diaporthe capsici*, a new pathogen of walnut blight. *Genomics* 112(5):3751-3761.
- Mesa Callejas, R. J. 2000. Indicadores e instrumentos monetarios. *Lecturas de Economía* 52:167-194.
- Oksanen, J., F. G. Blanchet, M. Friendly, R. Kindt, P. Legendre, D. McGinn, R. P. Minchin, R. B., O'Har, G. L. Simpson, P. Solymos, M. H. Stevens, E. Szoecs, and H. Wagner. 2020. Vegan: Community Ecology Package. R Package Version 2.5-7. <https://cran.r-project.org/package=vegan>
- Ramírez-Gil, J. G., J. H. López, and J. C. Henao-Rojas. 2020. Causes of Hass avocado fruit rejection in preharvest, harvest, and packinghouse: Economic losses and associated variables. *Agronomy* 10(1):8.
- Scortichini, M. 2010. Epidemiology and predisposing factors of some major bacterial diseases of stone and nut fruit trees species. *J. Plant Pathol.* 92(1):73-78.
- Sherafati, F., P. Khodaygan, M. Azadvar, E. Sedaghati, R. Saberi-Riseh, and S. Baghaee-Ravari. 2014. Association of *Pantoea agglomerans* with the citrus bacterial canker disease in Iran. *J. Crop Prot.* 3(3), 345–355.
- Smith, C. O. 1925. Blast of avocados - a bacterial disease. *Calif. Avocado Assoc. Ann. Rep.* 26:72-74.
- Tamayo Molano, J. P. 2007. Enfermedades del Aguacate. *Politecnica* 4(4):51-70.
- Walters, D. R., N. McRoberts, and B. D. L. Fitt. 2008. Are green islands red herrings? Significance of green islands in plant interactions with pathogens and pests. *Biol. Rev.* 83(1):79-102.
- Zamora-Magdaleno, T., E. Cárdenas-Soriano, J. F. Cajuste-Bontemps, and M. T. Colinas-León. 2001. Anatomía del daño por rozamiento y por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. en fruto de aguacate 'Hass'. *Agrociencia* 35(2):237-244.