

# ***Neopestalotiopsis* sp. and *Colletotrichum karstii*, causal agents of leaf spots on camedor palm (*Chamaedorea quezalteca*) in Mexico**

## ***Neopestalotiopsis* sp. y *Colletotrichum karstii* agentes causales de manchas foliares en palma camedor (*Chamaedorea quezalteca*) en México**

**Martibel Sarmiento-Chacón, Vidal Hernández-García, Luis Alfredo Rodríguez-Larramendi, Miguel Ángel Salas-Marina\***, Laboratorio de biofertilizantes y bioinsecticidas, Facultad de Ingeniería sede Villa Corzo, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Carretera Villa Corzo Ejido Monterrey Km 3.0. CP. 29000, Chiapas, México; **Claudio Ríos-Velasco**, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo-CIAD, C.P. 31570, Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

\*Corresponding autor: miguel.salas@unicach.mx.

**Received:** February 13, 2022.

**Accepted:** April 05, 2023.

Sarmiento-Chacón M, Hernández-García V, Rodríguez-Larramendi LA, Salas-Marina M and Ríos-Velasco C. 2023. *Neopestalotiopsis* sp. and *Colletotrichum karstii*, causal agents of leaf spots on camedor palm (*Chamaedorea quezalteca*) in Mexico. Mexican Journal of Phytopathology 41(2): 165-181.

**DOI:** <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2302-7>

First DOI publication: April 21, 2023.

Primera publicación DOI: 21 de Abril, 2023.

**Abstract.** Since 2020, camedor palm (*Chamaedorea quezalteca*) plantations in the Frailesca region, Chiapas, Mexico, have been affected by foliar diseases that induce leaf spot and anthracnose symptoms that reduce production, leaf quality and thus the loss of their commercial value. The objectives of this work were to identify the causal agents and to quantify the incidence and

**Resumen.** Las plantaciones de palma camedor (*Chamaedorea quezalteca*) de la región Frailesca, Chiapas, México, desde el 2020 son afectadas por enfermedades foliares que inducen síntomas de mancha foliar y antracnosis que reducen la producción, calidad de las hojas y con ello la pérdida de su valor comercial. Los objetivos de este trabajo fueron identificar los agentes causales y cuantificar la incidencia y severidad de las enfermedades foliares en plantaciones de palma camedor. De manera recurrente se aislaron dos hongos, uno de hojas con síntomas de mancha foliar y otro de antracnosis, ambos fueron identificados morfológicamente y molecularmente mediante la secuenciación del espaciador de transcripto interno (ITS5/ITS4), las pruebas de patogenicidad se realizaron en plantas sanas donde se inocularon conidios de los hongos, y en campo se cuantificó la incidencia y severidad de la enfermedad con apoyo de una escala pictográfica. Los hongos identificados fueron

severity of foliar diseases in plantations of camedor palm. Two fungi were recurrently isolated, one from leaves with leaf spot symptoms and the other with anthracnose, both were identified morphologically and molecularly by sequencing the internal transcribed spacer (ITS5/ITS4), pathogenicity tests were performed on healthy plants where fungal conidia were inoculated, and in the field the incidence and severity of the disease were quantified with the support of a pictographic scale. The fungi identified were *Neopestalotiopsis* sp. in leaf spot symptoms and *Colletotrichum karstii* in anthracnose, both pathogens reproduced the same symptoms observed in the field, by means of pathogenicity tests. Disease incidence and severity percentages were transformed to area under the disease progress curve (AUDPC), these diseases presented an annual average incidence and severity of 35.33% (AUDPC= 14180) and 39.16% (AUDPC=12885) for leaf spot, 19.5% (AUDPC= 7123) and 55.83% (AUDPC= 20380) for anthracnose, respectively.

**Key words:** Palmae, Areacaceae, leaf spot, anthracnose.

The Palmae family (Arecaceae) is classified into six subfamilies with 4,000 species and 200 genera worldwide (Ahmad *et al.*, 2020). Palms present a morphological and ecological diversity, and they are usually found in regions with tropical, subtropical and Mediterranean climates. For the most part, palms are used for esthetic and ornamental purposes, but some species are also used for food (Howard, 2001). In the horticultural industry, ornamental palms represent 404 million dollars, that is, 10% of the total production (Hodges *et al.*, 2011). In addition, from the ecological standpoint, these plants reduce

*Neopestalotiopsis* sp. en síntomas de mancha foliar y *Colletotrichum karstii* en antracnosis, ambos patógenos reprodujeron los mismos síntomas observados en campo, a través de las pruebas de patogenicidad. Los porcentajes de incidencia y severidad de las enfermedades se transformaron a área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), estas enfermedades presentaron un promedio anual de incidencia y severidad de 35.33% (ABCPE= 14180) y 39.16% (ABCPE=12885) para mancha foliar, 19.5% (ABCPE= 7123) y 55.83% (ABCPE= 20380) para antracnosis, respectivamente.

**Palabras clave:** Palmae, Areacaceae, mancha foliar, antracnosis.

La familia Palmae (Arecaceae) se clasifica en seis subfamilias con 4000 especies y 200 géneros en todo el mundo (Ahmad *et al.*, 2020). Las palmas presentan una diversidad morfológica y ecológica, se encuentran habitualmente en regiones climáticas tropicales, subtropicales y mediterráneas. En su mayoría, las palmas se usan con fines estéticos y de ornato, pero algunas especies se utilizan también para alimentación (Howard, 2001). En la industria hortícola, las palmas ornamentales representan 404 millones de dólares, es decir, el 10% de la producción total (Hodges *et al.*, 2011). Además, desde el punto de vista ecológico estas plantas disminuyen la contaminación ambiental y tienen un efecto positivo en la atmósfera (El-Juhany, 2010). Las palmas ornamentales son afectadas por factores bióticos, como los insectos y las enfermedades, y abióticos, como la temperatura, la nutrición y la composición del suelo (Schmidhuber y Tubiello, 2007; Aldana *et al.*, 2009). Diferentes hongos fitopatógenos, bacterias, virus y nematodos reducen el valor estético de las palmas en diferentes etapas, provocando síntomas que incluyen marchitez, tizón, manchas,

environmental pollution and have a positive effect on the atmosphere (El-Juhany, 2010). Ornamental palms are affected by biotic factors, such as insects and diseases, and abiotic factors such as temperature, and soil nutrition and composition (Schmidhuber and Tubiello, 2007; Aldana *et al.*, 2009). Different phytopathogenic fungi, bacteria, viruses and nematodes reduce the esthetic value of plants in different stages, causing symptoms that include wilting, blight, spot, root rot, stem and petiole rot, diamond scale and leaf sheath diseases, as well as wilting from *Fusarium oxysporum* (Broschat *et al.*, 2014). Recent studies carried out on *Chamaedorea cataractarum*, *C. seifrizii* and *C. costaricana* reported some pathogens responsible for the diseases of these palms, as in *Ganoderma* spp., which causes stem base rot, a lethal disease with an enormous potential for spreading (Shakeel *et al.*, 2020). Another one of the main pathogens in palms is *Phytophthora palmivora*, which causes the devastating disease called lethal palm bud rot (Broschat *et al.*, 2014; Shakeel *et al.*, 2020). Likewise, there have been reports of the leaf spot disease complex *Helminthosporium*, caused by a group of fungi (*Drechslera setariae*, *Exserohilum rostratum* and *Phaeotrichoconis crotalariae*) (Shakeel *et al.*, 2020).

In Central America, the genus *Chamaedorea* is distributed in Guatemala, El Salvador, Honduras and in southern Mexico, as part of the montane cloud forest and tropical evergreen forest (Granados *et al.*, 2004; López *et al.*, 2005). In Chiapas, the genus *Chamaedorea* is found in depressions of the Sierra Madre de Chiapas and in the Lacandona jungle (Buda Arango *et al.*, 2014) in altitudes ranging from 900 to 2300 masl (Martínez *et al.*, 2011). For the case of the region known as the Frailesca, Chiapas, *Chamaedorea quezalteca*, commonly known as the camedor palm, is the most planted species for commercial use.

podredumbre de la raíz, podredumbre del tallo y del pecíolo, cascarilla de diamante y enfermedades de la vaina de la hoja, así como marchitamiento por *Fusarium oxysporum* (Broschat *et al.*, 2014). Estudios recientes realizados en *Chamaedorea cataractarum*, *C. seifrizii* y *C. costaricana* reportaron algunos patógenos responsables de las enfermedades en estas palmas, como *Ganoderma* spp., causante de la podredumbre basal del tallo, enfermedad letal que tiene un enorme potencial de propagación (Shakeel *et al.*, 2020). Otro de los principales patógenos de las palmas es *Phytophthora palmivora*, que provoca la enfermedad devastadora denominada pudrición letal del cogollo de las palmas (Broschat *et al.*, 2014; Shakeel *et al.*, 2020). Así mismo, se ha reportado la enfermedad de mancha foliar complejo *Helminthosporium*, provocado por un grupo de hongos (*Drechslera setariae*, *Exserohilum rostratum* y *Phaeotrichoconis crotalariae*) (Shakeel *et al.*, 2020).

En centroamérica el género *Chamaedorea* se distribuye en Guatemala, El Salvador, Honduras y al sur de México, formando parte del bosque mesófilo de montaña y del bosque tropical perennifolio (Granados *et al.*, 2004; López *et al.*, 2005). En Chiapas, el género *Chamaedorea* se localiza en las depresiones de la Sierra Madre de Chiapas y en la Selva Lacandona (Buda Arango *et al.*, 2014) en altitudes que van desde los 900 a 2300 msnm (Martínez *et al.*, 2011). Para el caso de la región Frailesca, Chiapas, *Chamaedorea quezalteca* conocida comúnmente como palma camedor es la especie que más se cultiva para su uso comercial.

*Chamaedorea quezalteca* se ha extraído desde los años cuarenta para abastecer los mercados florísticos internacionales, primordialmente a Estados Unidos, por lo que actualmente se le ha considerado como un producto forestal no maderable (PFNM) (Pérez *et al.*, 2012), esta actividad económica resulta factible para pequeñas comunidades rurales,

*Chamaedorea quezalteca* has been extracted since the 1940s to supply world flower markets, mainly in the United States, therefore it has been considered a non-timber yielding product (Pérez *et al.*, 2012). This economic activity is feasible for small rural communities, since it does not require sophisticated technology (Evans, 1993). For many rural producers, this represents participating in a subsistence economy towards a market economy, which has meant the increase of their income.

Since 2020, in the Frailesca region, Chiapas, the camedor palm plantations have been affected by two foliar diseases foliar spot and anthracnose which reduce the production and quality of leaves, which has a direct impact on the incomes of producers. In Mexico there are currently no reports of leaf diseases related to the camedor palm (*Chamaedorea quezalteca*). Therefore, the aims of this research were to identify the causal agents, quantify the incidence and severity of the leaf diseases leaf spot and anthracnose in commercial camedor palm plantations.

## MATERIALS AND METHODS

**Gathering biological material.** Twenty leaf samples of each of the leaf spot and anthracnose diseases were gathered from eight-year-old camedor palms located in the Sierra Morena ( $16^{\circ} 08'51.6''$  LN –  $93^{\circ} 36' 30.06''$  LW) and Plan de Ayala ( $15^{\circ}90'47.22''$  LN- $93^{\circ}21'25.00''$  LW) ejidos of the municipal area of Villa Corzo, Chiapas. The samples were placed in plastic bags with paper towels, labeled and sent to the Laboratory of Biofertilizers and Bioinsecticides of the Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas in Villa Corzo, and they were stored in a container with water until used.

ya que no requiere tecnología sofisticada (Evans, 1993). Esto representa para varios productores rurales la participación en una economía de subsistencia hacia una economía de mercado, lo que ha significado el aumento de sus ingresos económicos. Desde el 2020, en la región Frailesca Chiapas, las plantaciones de palma camedor son afectadas por dos enfermedades foliares, mancha foliar y antracnosis, que disminuyen la producción y la calidad de las hojas, lo que impacta directamente el ingreso económico de los productores. Actualmente en México no se cuenta con ningún reporte de enfermedades foliares asociadas a la palma camedor (*Chamaedorea quezalteca*). Por lo que los objetivos de esta investigación fueron identificar los agentes causales, cuantificar la incidencia y severidad de las enfermedades foliares, mancha foliar y antracnosis en plantaciones comerciales de palma camedor.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Colecta de material biológico.** 20 muestras de hojas de cada una de las enfermedades de mancha foliar y antracnosis se colectaron en plantaciones de palma camedor de ocho años de edad ubicados en los Ejidos Sierra Morena ( $16^{\circ} 08'51.6''$  LN –  $93^{\circ} 36' 30.06''$  LW) y Plan de Ayala ( $15^{\circ}90'47.22''$  LN- $93^{\circ}21'25.00''$  LW) del municipio de Villa Corzo, Chiapas. Las muestras se colocaron en bolsas de plástico acondicionadas con papel absorbente, se etiquetaron y trasladaron al Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Sede Villa Corzo y se conservaron en un recipiente con agua hasta su uso.

**Aislamiento y purificación de los hongos.** Las hojas de palma camedor con síntomas de mancha

**Fungus isolation and purification.** The camedor palm leaves with symptoms of leaf spot and anthracnose were dissected into pieces of 0.5 cm<sup>2</sup> each, washed with 70% ethanol for 3 minutes and with 10% sodium hypochlorite for 10 min, then washed twice with sterile distilled water for 2 min. Ten pieces with each of the symptoms were planted in a potato dextrose agar (PDA) medium in triplicate and incubated at 28 °C, a 12:12 light/darkness photoperiod for 10 days; the mycelial growth of the fungi was monitored every 24 hours and purified by hyphal tipping and monosporic culture (Ruiz-Cisneros *et al.*, 2017).

**Morphological identification.** Out of the 30 pieces of tissue planted in PDA, 10 fungi were isolated from each of the symptoms of leaf spot and anthracnose that were the first to emerge from the tissues after 48 hours. They were identified morphologically at a genus level via their reproductive structures observed under an optical microscope (Axiolab 5, Carl Zeiss) and with the aid of taxonomical keys (Barnett and Hunter, 2006; Watanabe, 2002).

**Molecular identification.** For the molecular identification, the fungus isolated from the leaves with symptoms of leaf spot and the anthracnose fungus were planted in Petri dishes with PDA covered with a sheet of sterile cellophane and incubated for 7 days at 28 °C. The mycelium was harvested and frozen using liquid nitrogen; the DNA was then extracted following the protocol by Raeder and Broda (1989). The total DNA was used to amplify the internal transcribed spacer (ITS) of the 18S of the rDNA using oligos ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') and ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') with the following conditions of amplification from an initial denaturing step at 94 °C for 5 minutes, followed by 30 cycles (denaturation at 94 °C for

foliar y antracnosis se diseccionaron en trozos de 0.5 cm<sup>2</sup>, se lavaron con etanol al 70 % por 3 minutos y con hipoclorito de sodio al 10 % por 10 min, posteriormente se lavaron dos veces con agua destilada estéril por 2 min. Se sembraron 10 trozos de cada uno de los síntomas en medio papa dextrosa agar (PDA) por triplicado e incubados a 28 °C, fotoperíodo 12:12 luz/oscuridad por 10 días, el crecimiento micelial de los hongos fue monitoreado cada 24 horas y purificados por punta de hifa y cultivo monospórico (Ruiz-Cisneros *et al.*, 2017).

**Identificación morfológica.** De los 30 trozos de tejido sembrados en PDA se aislaron 10 hongos de cada uno de los síntomas de mancha foliar y antracnosis que fueron los primeros que emergieron de los tejidos después de 48 h, se identificaron morfológicamente a nivel de género mediante sus estructuras de reproducción observadas en un microscopio óptico (Axiolab 5, Carl Zeiss) y con el apoyo de claves taxonómicas (Barnett and Hunter, 2006; Watanabe, 2002).

**Identificación molecular.** Para la identificación molecular, el hongo aislado de las hojas con síntomas de mancha foliar y el hongo de antracnosis se sembraron en cajas petri con PDA cubierto con un celofán estéril y se incubó por 7 días a 28 °C. El micelio fue cosechado y congelado con nitrógeno líquido, se extrajo el ADN siguiendo el protocolo de Raeder and Broda (1989). El ADN total se utilizó para amplificar el espaciador de transcripto interno (ITS) del 18S del rADN utilizando los oligos ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') con las siguientes condiciones de amplificación de una etapa inicial de desnaturación de 94 °C por 5 minutos, seguidos de 30 ciclos (extensión 94 °C 30 s, alineamiento 60 °C 30 s, extensión 72 °C por 45 s) y una extensión final de 72 °C por 10 minutos,

30 s, annealing at 60 °C for 30 s, extension at 72 °C for 45 s) and a final extension of 72 °C for 10 minutes, where the fragment may be from 710 to 850 pb, depending on the fungal species (White *et al.*, 1990). The amplicons of the polymerase chain reaction (PCR) were sequenced by the Sanger method in an ABI (Applied Biosystems) sequencer. The sequences were compared with the NCBI data base using the de BLAST algorithm (Altschul *et al.*, 1990).

**Pathogenicity test.** Koch's postulates were carried out on fields under the shade in the facilities of the Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), using two-year old seedlings planted in 5 kg polyethylene bags and natural soil substrate from the same plantations. Both fungi isolated and previously identified were planted in a PDA medium at 28 °C in a 12:12 light/darkness photoperiod for 15 days. The inoculation of *Neopestalotiopsis* sp. was carried out directly and consisted in taking the conidia from the acervuli with a hypodermic needle and inoculating the leaves of the plants via a small lesion in the epidermis (Rebollar *et al.*, 2020), and for *C. karstii*, a conidial solution was used with  $1 \times 10^6$  spores mL<sup>-1</sup> and 10 µL were inoculated. For both fungi, five plants were inoculated (two leaves per plant). The inoculated plants were sprayed with sterile distilled water, covered with plastic bags and were uncovered on the third day. They were kept under regular irrigation and observation until the symptoms of the diseases appeared. Samples were taken from the symptoms obtained and the inoculated fungi were reisolated, following the process described above. Five control plants were used with sterile water and the experiment was carried out in duplicate.

**Field incidence and severity.** To quantify the incidence of the leaf diseases in the camedor palm,

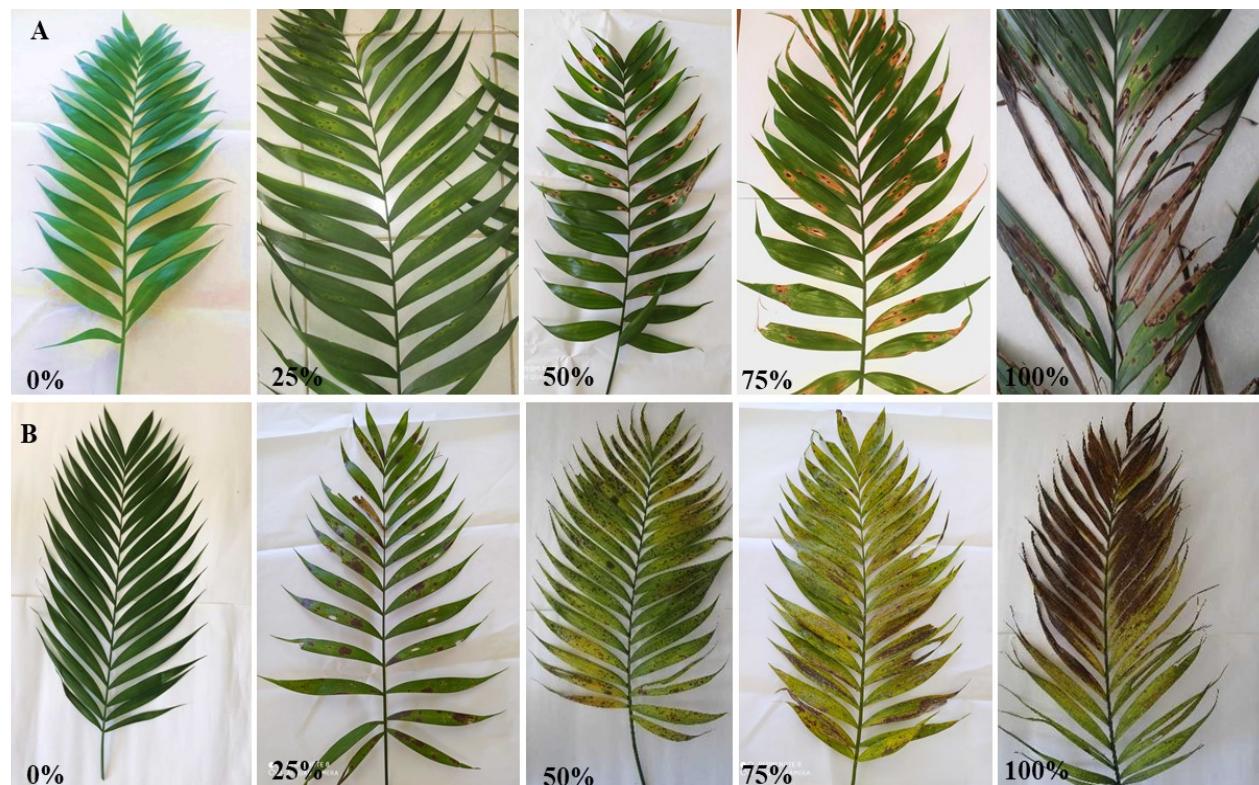
donde el fragmento puede ser de 710 a 850 pb según la especie de hongo (White *et al.*, 1990). Los amplicones de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fueron secuenciados por el método de Sanger en un secuenciador ABI (Applied Biosystems). Las secuencias fueron comparadas con la base de datos NCBI usando el algoritmo de BLAST (Altschul *et al.*, 1990).

**Prueba de patogenicidad.** Los postulados de Koch se realizaron en condiciones de campo bajo sombra en las instalaciones de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), se usaron plántulas de dos años de edad sembradas en bolsa de polietileno de 5 kg y sustrato suelo natural de las mismas plantaciones. Los dos hongos aislados e identificados previamente se cultivaron en medio PDA a 28 °C fotoperíodo 12:12 luz/oscuridad por 15 días. La inoculación de *Neopestalotiopsis* sp. se realizó de manera directa y consistió en tomar los picnidios de los acérvulos con una aguja hipodérmica e inocular las hojas de las plantas a través de una ligera herida a la epidermis (Rebollar *et al.*, 2020) y para *C. karstii* se utilizó una solución de conidias de  $1 \times 10^6$  esporas mL<sup>-1</sup> y se inocularon 10 µL. Para ambos hongos se inocularon cinco plantas (dos hojas por planta). Las plantas inoculadas se asperjaron agua destilada estéril, se cubrieron con bolsas de plástico y se descubrieron al tercer día. Se mantuvieron en irrigaciones regulares y en observación hasta que aparecieron los síntomas de las enfermedades. De los síntomas obtenidos se tomaron muestras y se reaislaron los hongos inoculados siguiendo el protocolo previamente descrito. Se utilizaron cinco plantas control inoculadas con agua estéril y el experimento se realizó por duplicado.

**Incidencia y severidad en campo.** Para cuantificar la incidencia de las enfermedades foliares de palma camedor, se seleccionó una parcela de 1 ha de ocho

a 1 ha, eight-year-old plot in the Sierra Morena *ejido* was chosen, a five-point sampling was carried out, 20 plants were labeled and sampled in each point, the number of plants with symptoms were quantified out of a total of 100, samples were taken every 2 months in a year in the same points and the same plants and in each one, the values of the five points were averaged. For the severity of the diseases, a pictographic scale of damages was created with values from 1 to 5, where 1 represents 0% damage; 2, 1-25% damage; 3, 26-50% damage; 4, 51-75% damage and 5, 76-100% damage (Figure 1). The percentage of damage was measured directly from each of the plants quantified in the incidence

años de edad ubicada en el ejido Sierra Morena, se hizo un muestreo de cinco de oros, en cada punto se etiquetaron y muestrearon 20 plantas, se cuantificó el número de plantas con síntomas de un total de 100 plantas, los muestreos se realizaron cada dos meses durante un año en los mismos puntos y mismas plantas y en cada uno se promedió los valores de los cinco puntos. Para la severidad de las enfermedades se construyó una escala pictográfica de daño con valores de 1-5; donde 1 representa (0% de daño), 2 (1-25% de daño), 3 (26-50% de daño), 4 (51-75% de daño) y 5 (76-100% de daño) (Figura 1), el porcentaje de daño se midió de manera directa de cada una de las plantas cuantificadas en la



**Figure 1.** Pictographic damage scales with values from 1 to 5, where 1 represents 0% damage; 2, 1-25% damage; 3, 26-50% damage; 4, 51-75% damage and 5, 76-100% damage for foliar spot (A) and anthracnose (B) diseases.

**Figura 1.** Escalas pictográficas de daño con valores de 1-5, donde 1 representa (0% de daño), 2 (1-25% de daño), 3 (26-50% de daño), 4 (51-75% de daño) y 5 (76-100% de daño) para las enfermedades mancha foliar (A) y antracnosis (B).

of the disease. The percentages of incidence and severity of the disease were converted into values of areas under the disease progress curve (AUDPC) (Pedroza and Samaniego, 2009).

## RESULTS AND DISCUSSION

**Morphological and molecular identification.** Out of the leaves with symptoms of leaf spot, 10 fungal cultures were isolated and purified, which, based on morphological analyses formed on PDA medium, all were identified as *Neopestalotiopsis* sp., since they displayed characteristics of cottonlike filamentous fungi with elevated, initially white hyphae, acervuli that look like small black pustules with abundant spindle-shaped conidia with three central pigmented cells and hyaline basals (dimensions from 13.22 to 15.88 µm in length x 2.82 to 3.59 µm in width), with two to four apical appendages (measuring 5.99 x 8.49 µm in length x 0.67 x 1.21 µm in width) and a peduncle in the basal cells (Barnett and Hunter, 2006; Watanabe, 2002) (Figure 2). Structures with similar characteristics were reported by Rebollar *et al.* (2020) in strawberry crops and by Gerardo-Lugo *et al.* (2020) in mango crops: three central cells colored yellow and 3 apical appendages with a peduncle in the basal cells. However, the morphological characteristics of the phytopathogenic fungi, and particularly *Neopestalotiopsis* can vary and be modified by the environmental conditions and these are not reliable as a form of identification (Maharachchikumbura *et al.*, 2011). Studies carried out by Acosta-González (2022) confirm that there are differences in the diameter of the final growth, as well as coloring, the texture of the mycelium, the production of acervuli, the elevation of the mycelium and the margins of the genus *Neopestalotiopsis*. Molecular identification was based on the analysis of the

incidencia de la enfermedad. Los porcentajes de incidencia y severidad de la enfermedad se transformaron a valores de áreas bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) (Pedroza y Samaniego, 2009).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Identificación morfológica y molecular.** De las hojas con síntomas de mancha foliar se aisló y purificó 10 colonias de hongos, que con base a los análisis morfológicos formadas en medio PDA todas fueron identificadas como *Neopestalotiopsis* sp., ya que presentaron características de hongo filamentoso algodonoso con hifas elevadas inicialmente de color blanco, acérvulos que parecen pequeñas pústulas de color negro brillante con abundante conídios de forma fusiformes con tres células centrales pigmentadas y las basales hialinas (dimensiones de 13.22 a 15.88 µm de longitud x 2.82 a 3.59 µm de ancho), con dos a cuatro sétulas apicales (medidas 5.99 x 8.49 µm de longitud y 0.67 x 1.21 µm de ancho) y un pedicelos en las células basales (Barnett and Hunter, 2006; Watanabe, 2002) (Figura 2). Estructuras con características similares fueron reportadas por Rebollar *et al.* (2020) en cultivo de fresa y Gerardo-Lugo *et al.* (2020) en cultivo de mango, tres células centrales pigmentadas de color amarillo y 3 sétulas apicales con un pedicelos en las células basales; sin embargo, las características morfológicas de los hongos fitopatógenos y en especial *Neopestalotiopsis* pueden variar y ser modificadas por las condiciones ambientales y estas no son confiables como medio de identificación (Maharachchikumbura *et al.*, 2011). Estudios realizados por Acosta-González (2022) confirmaron que hay diferencias en el diámetro del crecimiento final, así como la coloración, la textura del micelio, la producción de acérvulos, la elevación del micelio

consensus sequence of gene 18S rDNA (ITS5/ITS4) that displayed a high similarity with *Neopestalotiopsis* sp. with a coverage of 99% and a percentage of similarity of 99.48%, the sequence was registered in the GenBank with accession number ON860658 (White *et al.*, 1990).

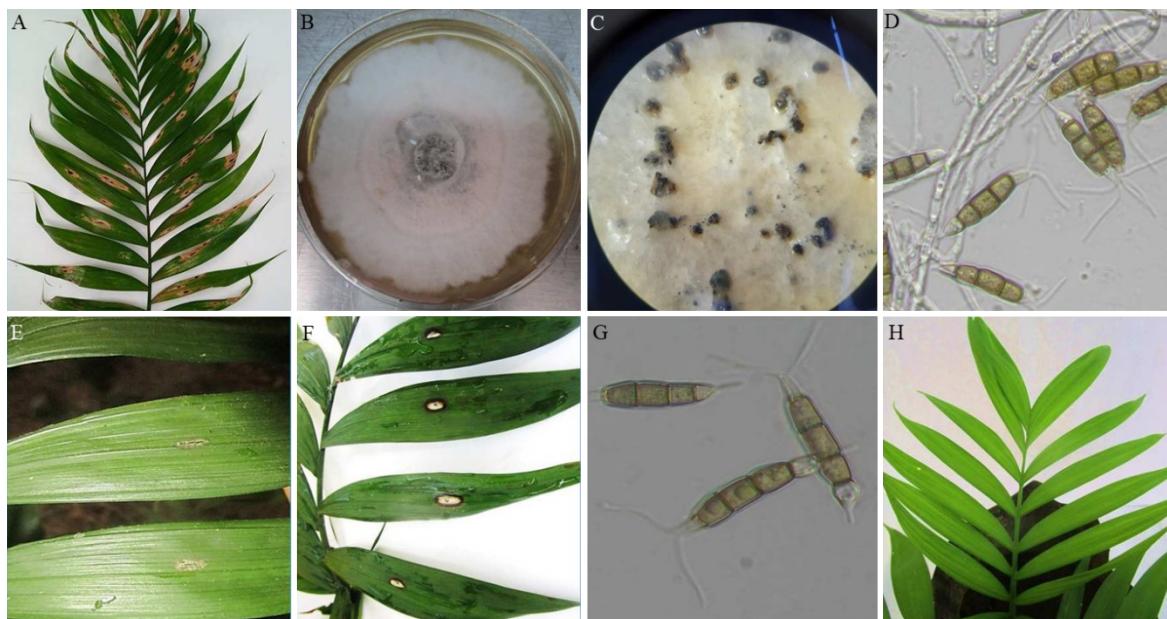
For the symptom of anthracnose, *Colletotrichum karstii* was identified as the causal agent, and the identification was carried out from 10 frequent fungal isolations, which were characterized for being filamentous, for the cultures forming asexual reproduction sporodochia with pale maroon semi-spherical hyaline conidia, either simple or branched or erect (dimensions 6.47 to 8.59 µm in length x 2.69 to 3.31 µm in width), conidiophores 17.04 to 33.35 µm in height (Barnett and Hunter, 2006; Watanabe, 2002) (Figure 3). Similar characteristics to this fungus were reported in other crops such as strawberries in Brazil (Soares, 2021) and papaya crops in Mexico (Pacheco *et al.*, 2022). The molecular identification was obtained by the amplification of gene 18S rDNA (ITS5/ITS4), which displayed a high level of similarity with *Colletotrichum karstii* with a coverage of 100% and a percentage of similarity of 99.83%; it was registered in the GenBank with accession number ON799261 (White *et al.*, 1990).

**Pathogenicity tests.** The plants inoculated with *Neopestalotiopsis* sp. presented the first symptoms of leaf spot after four days, and after eight days, the symptoms of small, oval-shaped spots with a black dot in the middle were marked and defined, just like those observed in the field. The control presented no symptoms. The plants with symptoms were used to reisolate the pathogen and *Neopestalotiopsis* sp. was confirmed as the leaf spot disease (Figure 2). These results agree with those reported by Khoo *et al.* (2022), who found that *Ixora chinensis* plants inoculated with

y los márgenes del género *Neopestalotiopsis*. La identificación molecular se basó en el análisis de la secuencia consenso del gen 18S rDNA (ITS5/ITS4) que presentó una alta similitud con *Neopestalotiopsis* sp. con una cobertura de 99% y un porcentaje de similitud de 99.48%, la secuencia fue registrada en el GenBank con número de acceso ON860658 (White *et al.*, 1990).

Para el síntoma de antracnosis se identificó a *Colletotrichum karstii* como agente causal de esta enfermedad, la identificación se realizó a partir de 10 aislamientos frecuentes de hongos las cuales se caracterizan por ser filamentoso, las colonias forman esporodoquios de reproducción asexual con conidios hialinos, marrón pálido semi esféricos, simples o ramificados o erectos (dimensiones de 6.47 a 8.59 µm de longitud x 2.69 a 3.31 µm de ancho), conidióforos de 17.04 a 33.35 µm de altura (Barnett and Hunter, 2006; Watanabe, 2002) (Figura 3). Características similares de este hongo fueron reportados en otros cultivos como la fresa en Brasil (Soares, 2021) y cultivo de papaya en México (Pacheco *et al.*, 2022). La identificación molecular se obtuvo a través del análisis de la secuencia consenso obtenida por la amplificación del gen 18S rDNA (ITS5/ITS4) que presentó alta similitud con *Colletotrichum karstii* con una cobertura de 100% y un porcentaje de similitud de 99.83%, se registró en el GenBank con el número de acceso ON799261 (White *et al.*, 1990).

**Pruebas de patogenicidad.** Las plantas inoculadas con *Neopestalotiopsis* sp. presentaron los primeros síntomas de mancha foliar a los cuatro días posteriores y a los ocho días, los síntomas de pequeñas manchas ovaladas con un punto negro en el centro fueron marcados y definidos, iguales a los observados en campo. El control no presentó ninguna sintomatología. Las plantas con síntomas se utilizaron para reaislar el patógeno y se corroboró



**Figure 2.** Symptoms of foliar spot in camedor palm leaves in the field, light brown oval-shaped spots with a black dot in the center, affecting the folioles of the leaf (A), marroon-white culture with cottonlike mycelia and abundant acervuli in the center (B), bright black acervuli with abundant conidia (C) and conidia with three pigmented cells in the center and hyalin basals, with apical appendages and basal pedicel (D) *Neopestalotiopsis* sp formed in PDA, symptoms presented four (E) and eight (F) days after inoculation, reisolated conidia produced in PDA from pathogenicity tests (E) and control plant (F).

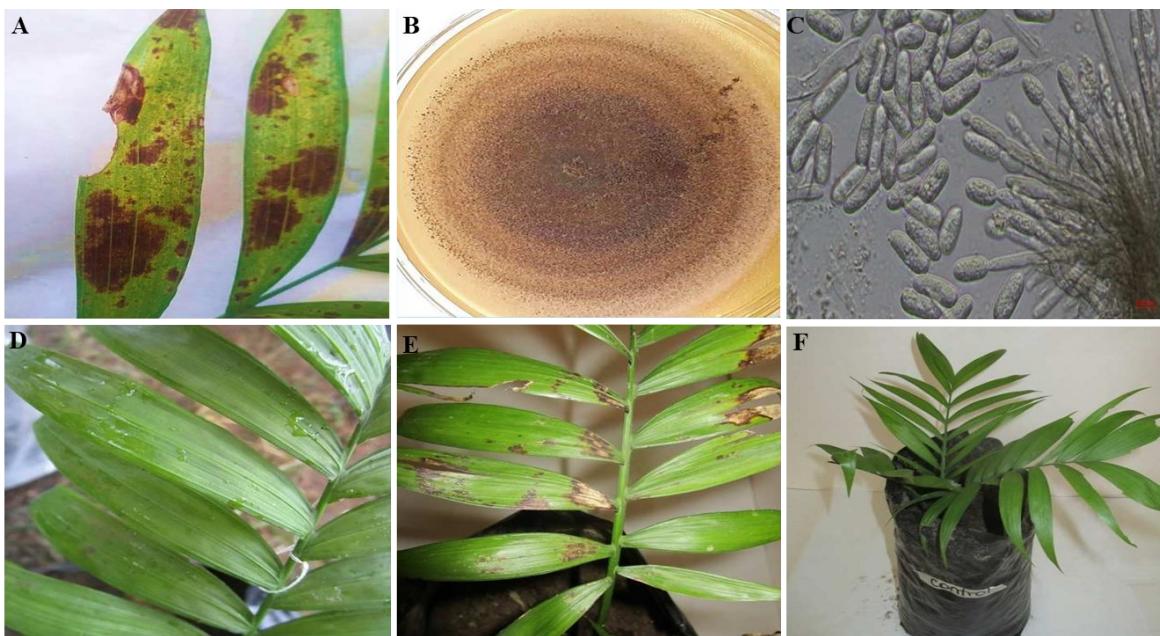
**Figura 2.** Síntoma de manchas foliar en hojas de palma camedor en campo, manchas ovaladas de color café claro con un punto negro en el centro afectando a los foliolos de la hoja (A), colonia blanca-marrón con micelio algodonoso y abundante acérvulos en el centro (B), acérvulos de color negro brillante con abundante conidios (C) y conidios con tres células pigmentadas en el centro y basales hialinas, con sétulas apicales y pedicelo basal (D) de *Neopestalotiopsis* sp formadas en PDA, síntomas presentados a los cuatro (E) y ocho (F) días después de la inoculación, conidias reaisladas producidas en PDA de las pruebas de patogenicidad (E) y planta control (F).

*Neopestalotiopsis cubana* presented symptoms after seven days, whereas mango plant inoculated with *Neopestalotiopsis* sp., and strawberry plants inoculated with *Neopestalotiopsis rosae* presented symptoms 10 days after inoculation (Gerardo-Lugo *et al.*, 2020; Rebollar *et al.*, 2020).

In the pathogenicity test with the fungus *Colletotrichum karstii*, the symptoms of anthracnose became apparent on the third day, with small undefined dark brown spots, and after 11 days, the irregular spots were well defined, reproducing the same symptoms displayed on the field; the fungus was reisolated and identified as *C. karstii* (Figure 3). According to reports by Ayvar-

que *Neopestalotiopsis* sp. es el agente causal de la enfermedad de mancha foliar (Figura 2). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Khoo *et al.* (2022) que encontró que las plantas de *Ixora chinensis* inoculadas con *Neopestalotiopsis cubana* manifestaron los síntomas a los siete días, mientras que las plantas de mango inoculadas con *Neopestalotiopsis* sp., y de fresa inoculadas con *Neopestalotiopsis rosae* presentaron los síntomas a los 10 días después de la inoculación (Gerardo-Lugo *et al.*, 2020; Rebollar *et al.*, 2020).

En la prueba de patogenicidad con el hongo *Colletotrichum karstii*, los síntomas de antracnosis se manifestaron a partir del tercer día con pequeñas



**Figure 3.** Symptom of anthracnose in camedor palm in the field, irregular black spots affect the leaf folioles (A), pale brown colony with abundant sporodochia (B), semi-spherical conidiophores and hyaline conidia (C) of *Colletotrichum karstii* formed in PDA, symptoms manifested after three (D) and 11 days (E) after the inoculation of the pathogenicity test and control plant (F).

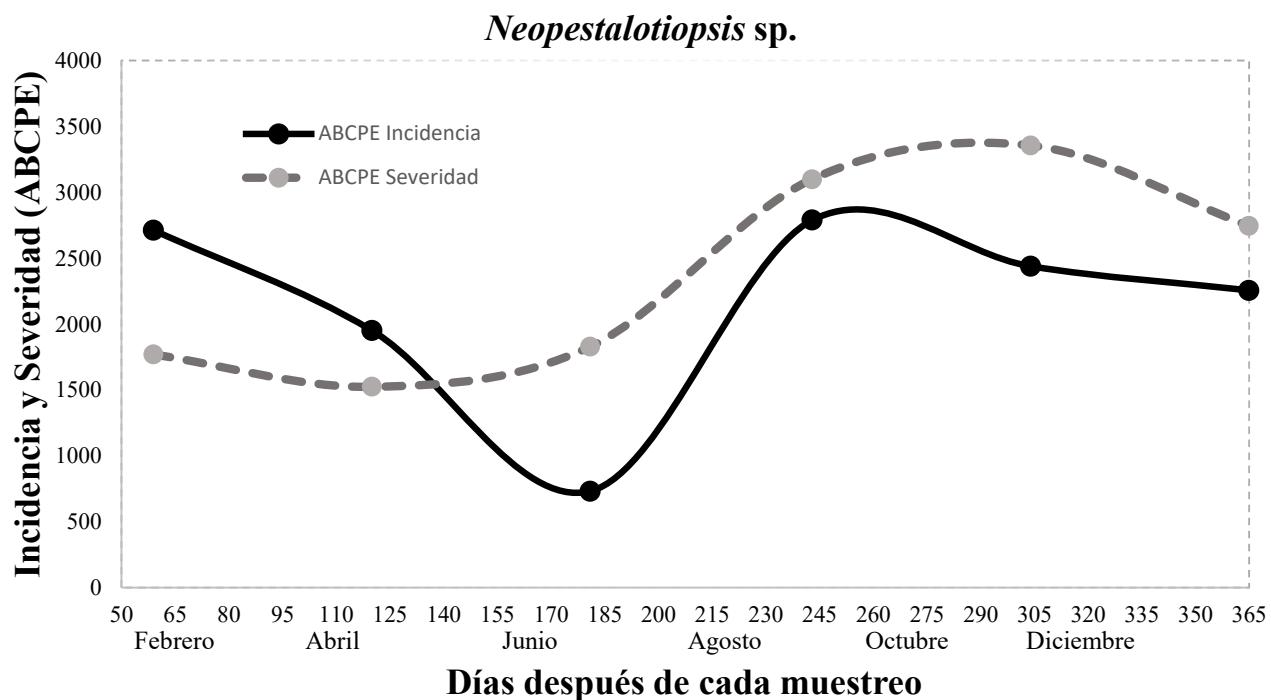
**Figura 3.** Síntoma de antracnosis en palma camedor en campo, manchas irregulares de color negro afectando a los foliolos de la hoja (A), colonia de color marrón pálido con abundante esporodoquios (B), conidióforos y conidios hialinos semiesféricos (C) de *Colletotrichum karstii* formadas en PDA, síntomas manifestados a los tres (D) y 11 días (E) después de la inoculación de la prueba de patogenicidad y planta control (F).

Serna *et al.* (2021), avocado fruits inoculated with the same pathogen displayed symptoms after five days, whereas Fernández-Herrera (2020) coincided that symptoms begin displaying three days after inoculation in *Dendrobium nobile* orchid plants, and seven days later in chili pepper plants (Saini *et al.*, 2016).

**Field incidence and severity.** During the sampling period on the field for the disease caused by *Neopestalotiopsis* sp., the incidence and severity were observed to have an intensity that depended on the weather and management during the progress of the disease (Figure 4). For the month of June, an incidence of 12% was recorded (AUDPC=732), corresponding to one of the driest months of summer sampling, whereas in August,

manchas café obscuras poco definidas y a los 11 días las manchas irregulares estaban bien marcadas reproduciendo los mismos síntomas observados en campo, el hongo fue reaislado e identificado como *C. karstii* (Figura 3). De acuerdo a lo reportado por Ayvar-Serna *et al.* (2021) en frutos de aguacate inoculados con el mismo patógeno manifestaron los síntomas a los cinco días, por su parte Fernández-Herrera (2020) coincide en que los síntomas se empiezan a manifestarse a los tres días posteriores a la inoculación en plantas de orquídeas de *Dendrobium nobile* y a los siete días en frutos de chile (Saini *et al.*, 2016).

**Incidencia y severidad en campo.** Durante el período de muestreo en campo de la enfermedad ocasionada por *Neopestalotiopsis* sp. se observó



**Figure 4. Incidence and severity (area under the disease progress curve) of leaf spot caused by *Neopestalotiopsis* sp. in eight-year-old commercial camedor palm plantations in the year 2021.**

**Figura 4. Incidencia y severidad (área bajo la curva del progreso de la enfermedad) de la mancha foliar provocada por *Neopestalotiopsis* sp. en plantaciones comerciales de palma camedor de ocho años de edad en el año 2021.**

corresponding to the humid season due to rains and the highest anthropogenic activity due to the trimming of palm leaves, the highest value (45%) was presented (AUDPC= 2790). For severity, a similar behavior to incidence was displayed, in which the driest month was April, with a severity of 25% (AUDPC =1525), whereas the rainiest and most humid month was October, with 50% (AUDPC = 3355) (Figure 4). In this sense, it has been reported that in the leaf spot disease caused by *Neopestalotiopsis* in eucalyptus leaves, lesions are most severe when the interaction of the pathogen and the plant are exposed to prolonged humidity periods (Belisario *et al.*, 2019). According to reports by Maharachchikumbura *et al.* (2011), incidence and

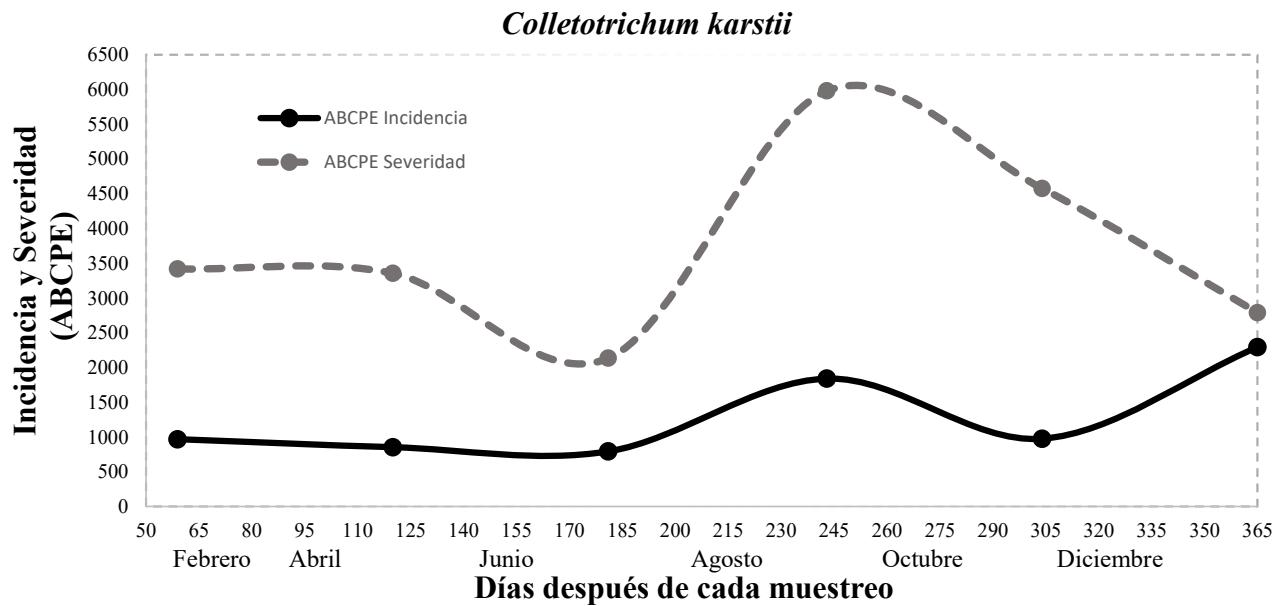
que la incidencia y la severidad presentaron una intensidad dependiente del clima y manejo durante el progreso de la enfermedad (Figura 4). Para el mes de junio se registró una incidencia de 12% (ABCPE=732), correspondiente a uno de los meses más secos de muestreo de verano, mientras que en agosto correspondiente a la temporada húmeda por las lluvias y de mayor actividad antropogénica por los cortes de hojas de palma, se presentó el valor más alto 45% (ABCPE= 2790). Para la severidad se registró un comportamiento similar a la incidencia, el mes más seco abril, se registró 25% de severidad (ABCPE=1525), mientras que el mes mas lluvioso y húmedo octubre 50% (ABCPE= 3355) (Figura 4). En este sentido se ha reportado que la enfermedad

severity are related to the thickness of the leaf and the stage of maturation of leaves, since the hyphae penetrate the spaces between the cells of leaved when they are in a state of maturity, therefore their susceptibility also depends on the thickness of the cuticle and on the production of phytotoxins such as pestalopyrones, hydroxypestalopyrones and pestalocides. It is worth pointing out that, although a minimum incidence of 12% and severity of 25%, palms cannot be marketed, since the commercial part of the camedor palm is comprised of its leaves, and the slightest damage they have stops them from complying the quality standards established by the market, according to De los Santos (2005), in the market report for camedor palm in Mexico.

Regarding the behavior of the disease caused by *Colletotrichum karstii* in the month of June, an incidence of 13% was displayed (AUDPC= 793), which corresponds to a hot season and the start of the rainy season in the region, whereas the highest value was registered in December, with 37% (AUDPC= 2257), a season with cool temperatures and a high relative humidity (Figure 5). Regarding severity, the disease had a similar behavior to that of incidence, where the highest value was recorded in June, with 35% (AUDPC= 2135), and in August to October, when temperatures are cooler with a high relative humidity due to heavy rainfalls, severity was 65% (AUDPC= 4030) and 75% (AUDPC = 4575) respectively (Figure 5). In this sense, environmental factors are important for the dissemination and progress of the disease, mostly relative humidity and rainfall play a part in the epidemiology of *Colletotrichum karstii* in citrus orchards (Mayorking *et al.*, 2019). Studies performed by Velho *et al.* (2014) mention that the incidence and severity caused by this pathogen can defoliate apple trees and it is favored by high levels of humidity and high temperatures. Likewise, *Colletotrichum* and *Pestalotiopsis* have been

de manchas foliares provocada por *Neopestalotiopsis* en hojas de eucalipto, las lesiones son mas severas cuando la interacción del patógeno y la plantas se exponen a periodos prolongados de humedad (Belisario *et al.*, 2019). Según lo reportado por Marharachchikumbura *et al.* (2011) la incidencia y la severidad están asociadas al grosor de la lámina foliar y a la etapa de maduración de las hojas ya que las hifas penetran en los espacios de las células de las hojas cuando se encuentran en estado maduro por lo que, la susceptibilidad de éstas, también depende del grosor de la cutícula y de la producción de fitotoxinas como pestalopironas, hidroxipestalopironas y pestalocidos. Es importante señalar que, aunque se haya registrado una incidencia mínima de 12% y severidad del 25% las palmas no pueden ser comercializadas, ya que la parte comercial de la palma camedor son sus hojas y con el mínimo daño que presenten, no cumplen con los estándares de calidad establecidos por el mercado según lo menciona De los Santos (2005), en el informe de mercado de la palma camedor en México.

En cuanto al comportamiento de la enfermedad ocasionada por *Colletotrichum karstii* en el mes de junio se presentó una incidencia de 13% (ABCPE= 793) que corresponde a una estación de calor e inicio de las lluvias en la región, mientras que el valor más alto se registró en el mes de diciembre con 37% (ABCPE= 2257), época que se presentan temperaturas frescas y alta humedad relativa (Figura 5). Con respecto a la severidad la enfermedad tuvo un comportamiento similar al de incidencia donde el valor más bajo se registró en junio con 35% (ABCPE= 2135), y en agosto a octubre donde la temperatura es más fresca con alta humedad relativa por las lluvias torrenciales se presentó una severidad de 65% (ABCPE= 4030) y 75% (ABCPE= 4575) respectivamente (Figura 5). En este sentido, los factores ambientales son importantes para la diseminación y progreso de la enfermedad,



**Figure 5.** Incidence and severity (area under the disease progress curve) of anthracnose caused by *Colletotrichum karstii* in eight-year-old commercial camedor palm plantations in the year 2021.

**Figura 5.** Incidencia y severidad (área bajo la curva del progreso de la enfermedad) de antracnosis provocada por *Colletotrichum karstii* en plantaciones comerciales de palma camedor de ocho años de edad en el año 2021.

reported as potential fungi that cause leaf spots in palm, where the disease is disseminated by spores that are easily scattered by wind and rain (Tariq *et al.*, 2015).

## CONCLUSIONS

According to the morphological, molecular characterizations and pathogenicity tests, *Neopestalotiopsis* sp. has been concluded to be the causal agent of leaf spots and *Colletotrichum karstii* is responsible for the anthracnose disease in

principalmente humedad relativa y precipitación juegan un papel en la epidemiología de *Colletotrichum karstii* en huertos de cítricos (Mayorking *et al.*, 2019). Estudios realizados por Velho *et al.* (2014) mencionan que la incidencia y severidad provocada por este patógeno puede defoliar los árboles de manzana y se ve favorecido por la alta humedad y la temperatura. Asimismo, se ha reportado a *Colletotrichum* y *Pestalotiopsis* como hongos potenciales, agentes causales de manchas foliares en palma donde la enfermedad es diseminada por esporas fácilmente dispersada por el viento y la lluvia (Tariq *et al.*, 2015).

camedor palm. The progress of the incidence and severity of these diseases depend on the factors of relative humidity cause by rains and by agronomic management, which reduces palm quality and production. Therefore, this is the first report in Mexico on these pathogens related to the plantation of camedor palm (*Chamaedorea quezalteca*).

#### ACKNOWLEDGEMENTS

To the Plan de Ayala and Sierra Morena ejidos, both from the municipal area of Villa Corzo, Chiapas, for collaborating in this research project and to the Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo - Unidad Cuauhtémoc Chihuahua (Food and Development Research Center - Cuauhtémoc, Chihuahua Unit) for the support in the molecular identification of the pathogens.

#### LITERATURE CITED

- Acosta-González U. 2022. Caracterización de aislamientos de *Neopestalotiopsis* spp. y efecto de fungicidas en pre y post-infección en el cultivo de fresa (tesis doctoral), Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México. 133p. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/handle/123456789/1443>
- Ahmad I, Saeed HAR and Khan MAS. 2020. Ornamental Horticulture: Economic Importance, Current Scenario and Future Prospects. Pp:3-40. In: I. Ul Haq and S. Ijaz, (Eds.), Etiology and Integrated Management of Economically Important Fungal Diseases of Ornamental Palms. Sustainability in Plant and Crop Protection. Vol. 16. Springer, Cham. 274p. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-56330-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-56330-1_1)
- Aldana de la TJA, Aldana de la TR, Calvache GH y Franco BPN. 2009. Manual de plagas de la palma de aceite en Colombia. (en línea) Colombia. Cenipalma. Bogotá, Colombia. 198p. <http://repositorio.fedepalma.org/handle/123456789/107711>.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW and Lipman JD. 1990. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology 215: 403-410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Ayvar-Serna S, Díaz-Nájera JF, Vargas-Hernández M, Camacho-Tapia M, Valencia-Rojas GA, Lima NB and Tovar-Pedraza JM. 2021. First report of *Colletotrichum jiangxiense* causing avocado anthracnose in Mexico. Plant Disease 105(2): 502. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-20-0459-PDN>
- Barnett H and Hunter B. 2006. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition, The American Phytopatological Society Minnesota, Estados Unidos. 240p.
- Belisário R, Aucique-Pérez CE, Abreu LM, Salcedo SS, de Oliveira WM and Furtado SS. 2019. Infection by *Neopestalotiopsis* spp. occurs on unwounded eucalyptus leaves and is favoured by long periods of leaf wetness. Plant Pathology 69: 194-204. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2020.10.004>
- Broschat TK, Elliott ML and Hodel DR. 2014. Ornamental palms: biology and horticulture. Pp:1-120. In: M. H. Meyer, M. S. Reid and D. Swietlik (Eds.), Horticultural reviews. Wiley-Blackwell. 488p. <https://doi.org/10.1002/9781118916827.ch01>
- BudaArango G, Trench Ty Durand L. 2014. El aprovechamiento de palma camedor en la Selva Lacandona, Chiapas, México: ¿Conservación con desarrollo?. Estudios sociales. Revista de alimentación contemporánea y desarrollo regional 22(44): 199-223.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con la caracterización morfológica, molecular y las pruebas de patogenicidad, se concluye que *Neopestalotiopsis* sp. es el agente causal de las manchas foliares y *Colletotrichum karstii* responsable de la enfermedad antracnosis en palma camedor. El progreso de la incidencia y severidad de estas enfermedades son dependientes de los factores de humedad relativa ocasionada por las lluvias y manejo agronómico, esto reduce la calidad y producción de palma, por lo cual, este es el primer reporte en México de estos patógenos asociados al cultivo de palma camedor (*Chamaedorea quezalteca*).

#### AGRADECIMIENTOS

A los ejidos de Plan de Ayala y Sierra Morena, ambos del municipio de Villa Corzo, Chiapas por colaborar en este proyecto de investigación y al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo - Unidad Cuauhtémoc Chihuahua por el apoyo en la identificación molecular de los patógenos.

~~~~~ Fin de la versión en Español ~~~~~

- De los Santos Espinoza J, Paniagua JL y González A. 2005. Informe de mercado de la palma camedor (*Chamaedorea* spp.). Grupo Mesófilo A.C. Oaxaca México. 26p. [https://assets.publishing.service.gov.uk/media/57a08c7240f0b64974001214/R7925i\\_Palma\\_camedora.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/media/57a08c7240f0b64974001214/R7925i_Palma_camedora.pdf)
- El-Juhany LI. 2010. Degradation of date palm trees and date production in Arab countries: Causes and potential rehabilitation. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 4(8): 3998–4010. <https://www.researchgate.net/publication/236229832>
- Evans M. 1993. Conservation by commercialization. Pp:815-822. In: C. Hladik A. Hladik O. Linares. H. Pagezy. A. Semple and M. Hadley, (Eds.), Tropical Forests, People and Food: Biocultural Interactions and Applications to Development. MAB Series. Vol. 13. UNESCO. 852p.
- Fernández-Herrera E, Rentería-Martínez ME, Ramírez-Bustos II, Moreno-Salazar SF, Ochoa-Meza A and Guillén-Sánchez D. 2020. *Colletotrichum karstii*: causal agent of anthracnose of *Dendrobium nobile* in Mexico. Canadian Journal of Plant Pathology 42 (4):514-519. <https://doi.org/10.1080/07060661.2020.1731711>
- Gerardo-Lugo SS, Tovar-Pedraza JM, Maharachchikumbura SS, Apodaca-Sánchez MA, Correia KC, Sauceda-Acosta CP and Beltrán-Peña H. 2020. Characterization of *Neopestalotiopsis* species associated with mango grey leaf spot disease in Sinaloa, Mexico. Pathogens 9(10): 788. <https://doi.org/10.3390/pathogens9100788>
- Granados SD, Hernández GMA, López RGF y Santiago LM. 2004. El cultivo de palma camedor (*Chamaedorea* sp.) en sistemas agroforestales de Cuichapa, Veracruz. Revista Fitotecnia Mexicana 27:233-241. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61027303>
- Hodges RJ, Buzby JC and Bennett B. 2011. Postharvest losses and waste in developed and less developed countries: opportunities to improve resource use. The Journal of Agricultural Science 149:37-45. <https://doi.org/10.1017/S0021859610000936>
- Howard FW. 2001. Insect pests of palms and their control. Pesticide Outlook, 12, 240–243. <https://doi.org/10.1039/B110547G>
- Khoo YW, Tan HT, Khaw YS, Li S and Chong KP. 2022. First Report of *Neopestalotiopsis cubana* Causing leaf blight on *Ixora chinensis* in Malaysia. Plant Disease 106 (10): 2747. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-22-0277-PDN>
- López C, Chanfon S y Segura G. 2005. La riqueza de los bosques mexicanos: más allá de la madera. Experiencias de comunidades rurales. Montana, México, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y CIFOR. 200 p. <https://www.cifor.org/knowledge/publication/1890>
- Maharachchikumbura SS, Guo LD, Chukeatirote E, Bahkali AH and Hyde KD. 2011. *Pestalotiopsis*: morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. Fungal diversity 50 (1):167-187. <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0125-x>
- Martínez-Camilo R, González-Espinoza M, Pérez-Farrera MA, Quintana-Ascencio PF and Ruiz-Montoya L. 2011. Evaluation of leaf harvesting effect on *Chamaedorea quezalteca* Standl. & Steyermark. (Palmae), in the El Triunfo Biosphere Reserve, Chiapas, México. Agrociencia 45(4): 507-518. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30219802009>
- Mayorquin JS, Nouri MT, Peacock BB, Trouillas FP, Douhan GW, Kallsen C and Eskalen A. 2019. Identification, Pathogenicity, and Spore Trapping of *Colletotrichum karstii* Associated with Twig and Shoot Dieback in California. Plant disease 103(7):1464-1473. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-18-1425-RE>
- Pacheco-Esteva MC, Soto-Castro D, Vásquez-López A, Lima NB and Tovar-Pedraza JM. 2022. First Report of *Colletotrichum chrysophilum* Causing Papaya Anthracnose in Mexico. Plant Disease 106 (12):3213. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-22-0681-PDN>
- Pedroza SA and Samaniego JA. 2009. Análisis del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) en patosistemas agrícolas. Pp:179-189. In: Bautista ME, Soto RL and Pérez PR. 2009. Tópicos selectos de estadística aplicada a la fitosanidad. Primera Edición. Colegio de Posgraduados y IPN- CIIDIR-Oaxaca. 235p.
- Pérez-Farrera MA, Martínez-Camilo R, Martínez-Meléndez N, López-Mendoza S, Espinoza-Medinilla EE, Sánchez-Kramsky S y Ruiz-Castillejos C. 2012. Monitoreo de la palma camedor (*Chamaedorea quezalteca*, Arecaceae) en la reserva de la biosfera La Sepultura, en el Estado de Chiapas, México. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Facultad de Ciencias Biológicas. Informe Técnico Final, CONANP. Tuxtla Gutiérrez, México. 112 p.
- Raeder U and Broda P. 1989. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. Letters in Applied Microbiology 1:17-20. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1985.tb01479.x>
- Rebollar-Alviter A, Silva-Rojas HV, Fuentes-Aragón D, Acosta-González U, Martínez-Ruiz M and Parra-Robles BE. 2020. An emerging strawberry fungal disease associated with root rot, crown rot and leaf spot caused by *Neopestalotiopsis rosae* in Mexico. Plant Disease 104(8):2054-2059. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2493-SC>
- Ruiz-Cisneros MF, Rios-Velasco C, Berlanga-Reyes DI, Ornelas-Paz JJ, Acosta-Muñiz CH, Romo-Chacón A, Zamudio-Flores PB, Pérez-Corral DA, Salas-Marina MA, Ibarra-Rendón, JE and Fernández-Pavía SP. 2017. Incidence and causal agents of root diseases and its antagonists in apple orchards of Chihuahua, Mexico. Revista Mexicana de Fitopatología 35(3):437-462. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1704-3>
- Saini TJ, Gupta SG, Char BR, Zehr UB and Anandalakshmi R. 2016. First report of chilli anthracnose caused by *Colletotrichum karstii* in India. New Disease Reports 34:6. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2016.034.006>
- Schmidhuber J and Tubiello FN. 2007. Global food security under climate change. Proceedings of the National

- Academy of Sciences 104(50):19703–19708. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701976104>
- Shakeel Q, Wu M, Zhang J and Zia-Ul-Haq. 2020. Fungal Diseases of Cat Palm (*Chamaedorea cataractarum*), Bamboo Palm (*Chamaedorea seifrizii*) and Cluster Palm (*Chamaedorea costaricana*). Pp:125-140. In: I. Ul Haq and S. Ijaz (eds), Etiology and Integrated Management of Economically Important Fungal Diseases of Ornamental Palms. Sustainability in Plant and Crop Protection, Vol 16. Springer, Cham. 274p. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-56330-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-56330-1_6)
- Soares VF, Velho AC., Carachenski A, Astolfi P and Stadnik MJ. 2021. First Report of *Colletotrichum karstii* Causing Anthracnose on Strawberry in Brazil. Plant Disease 105 (10): 3295. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-21-0518-PDN>
- Tariq RMS, Shahzad S and Rajput AQ. 2020. Fungal Diseases of Foxtail Palm (*Wodyetia bifurcata*). Pp:115-123. In: I. Ul Haq and S. Ijaz (eds), Etiology and Integrated Management of Economically Important Fungal Diseases of Ornamental Palms. Sustainability in Plant and Crop Protection, Vol 16. Springer, Cham. 274p. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-56330-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-56330-1_6)
- Velho AC, Stadnik MJ, Casanova L, Mondino P and Alaniz S. (2014). First report of *Colletotrichum karstii* causing Glomerella leaf spot on apple in Santa Catarina State, Brazil. Plant Disease 98(1):157-157. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-13-0498-PDN>
- Watanabe T. (2002). Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. Second edition. CRC PRESS. Boca Raton, Florida, USA. 486 p.
- White TJ, T. Brunts, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp:315-322. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky and T. J. White (Eds.), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, New York. 482p. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>