

Aislamiento e identificación del fitopatógeno causal de viruela o “negrilla” en *Agave salmiana* de municipios del estado de Hidalgo, México

Isolation and identification of the causal phytopathogen of smallpox or “negrilla” in *Agave salmiana* from municipalities of the state of Hidalgo, Mexico

Jessica Hernández José ¹, Edna María Hernández Domínguez ², Erick López Vázquez ², Jorge Álvarez Cervantes ²

¹ Ingeniería en Biotecnología, Universidad Politécnica de Pachuca, Dirección de Investigación Innovación y Posgrado.

² Cuerpo Académico Manejo de Sistemas Agrobiotecnológicos Sustentables, Universidad Politécnica de Pachuca. Carretera Pachuca-Cd. Sahagún km 20, Ex Hacienda de Santa Bárbara, Zempoala, C.P. 43830, Hidalgo, México.

RESUMEN

Antecedentes: La viruela o negrilla es una enfermedad presente en las hojas de *Agave* spp., manifestándose con manchas foliares de color negro parecido al hollín. Se ha reportado que el daño es causado por *Asterina mexicana*, sin embargo, se desconoce si es el único hongo que causa dicha enfermedad.

Objetivo: Identificar por métodos microbiológicos y moleculares el agente causal de viruela o negrilla en plantas de *Agave salmiana* de diferentes municipios del estado de Hidalgo, México.

Métodos: Se utilizaron métodos microbiológicos y moleculares para la identificación de hongos causantes de viruela o negrilla en plantas de *Agave salmiana*.

Resultados y conclusiones: Dentro del análisis, las cepas que se aislaron de las lesiones en hojas de *A. salmiana* mostraron características macroscópicas y microscópicas correspondientes al género *Curvularia* y la identificación molecular comprobó la presencia de *Curvularia lunata*. De lo anterior se deduce que la enfermedad de viruela o negrilla presente en *A. salmiana* no necesariamente puede ser causada por *A. mexicana*, siendo el primer reporte donde se aísla *C. lunata* de un hospedero atípico como agave.

Palabras clave: fungi, Ascomycota, fitopatógenos, viruela del agave

ABSTRACT

Background: Smallpox or “negrilla” is a disease present in the leaves of *Agave* spp., manifesting itself with black leaf spots similar to soot. It has been reported that the damage is caused by *Asterina mexicana*, however, it is unknown if it is the only fungus that causes this disease.

Objective: To identify, by microbiological and molecular methods, phytopathogenic fungi that cause smallpox or bold in *Agave salmiana* plants from different municipalities of the State of Hidalgo, Mexico.

Methods: Microbiological and molecular methods were used to identify fungi that cause smallpox or “negrilla” in *Agave salmiana* plants.

Results and conclusions: Within the analysis, the strains that were isolated from the lesions of smallpox or bold in *A. salmiana* leaves showed macroscopic and microscopic characteristics corresponding to the genus *Curvularia* and the molecular identification confirmed the presence of *Curvularia lunata*. From the foregoing, it can be deduced that the smallpox or bold disease present in *A. salmiana* cannot necessarily be caused by *A. mexicana*, being the first report where *C. lunata* is isolated from an atypical host such as agave.

Keywords: fungi, Ascomycota, phytopathogens, smallpox agave

ARTICLE HISTORY

Received 08/February/2022 / Accepted 31/August/2022
On line 03 September 2022

CORRESPONDING AUTHOR

✉ Jorge Álvarez Cervantes, e-mail: jorge_ac85@upp.edu.mx
Orcid: 0000-0002-0379-5588

INTRODUCCIÓN

El agave, conocido como maguey es endémico de Latinoamérica y Estados Unidos de Norteamérica, perteneciente a la familia de *Agavaceae* donde cuenta con nueve géneros y 340 especies (Reynoso *et al.* 2012). Su distribución en México es asimétrica debido a que se desarrollan mejor en los climas áridos y semiáridos, por lo que son abundantes en la Sierra Madre Occidental y Oriental, en el Altiplano mexicano y la península de Baja California (García *et al.* 2010, Pérez *et al.* 2016). En el estado de Hidalgo, México, las principales zonas magueyeras en las que se encuentra *Agave salmiana* son: Singuilucan, Epazoyucan, Zempoala, Cardonal, Ixmiquilpan, Arenal, Actopan, San Agustín Tlaxiaca, Apan, Tepeapulco y el Valle de Mezquital, la cual se aprovecha en la obtención de aguamiel, pulque, penca, mixiote y obtención de gusanos de maguey. Siendo Hidalgo uno de los estados donde hay una gran producción de pulque contando con 194 mil 579 toneladas, representando el 78.14 % de la producción nacional (Álvarez Duarte *et al.* 2018). Las agavaceas se han utilizado para cubrir necesidades básicas como alimento, fibras, forrajes, medicamentos y de construcción, además este tipo de planta es primordialmente utilizada para la elaboración de bebidas alcohólicas (Angeles Vázquez *et al.* 2017).

En los últimos años el cultivo del maguey se ha visto afectado por enfermedades ocasionadas por hongos patógenos y plagas, causando daños severos a nivel cultivo, producción y económico; por lo que la planta no puede ser utilizada y se recurre a su eliminación (SENASICA 2017). Las principales plagas y enfermedades son el picudo del agave, el escarabajo rinoceronte, la marchitez marginal, la pudrición del cogollo y la viruela o negrilla (CESAVEG 2008).

La viruela o negrilla es una enfermedad presente en las pencas de las plantas de *Agave*, en la cual se observan manchas foliares de color negro parecidas al hollín. Reportes indican que el posible daño es causado por un hongo llamado *Asterina mexicana*. Usualmente afecta a las pencas inferiores y cuando la enfermedad es más avanzada llega a necrosar la penca (Pérez *et al.* 2017). *Asterina mexicana* es un hongo patógeno perteneciente a la familia Microtiriaceae del orden de hongos Microtiriales, aunque de igual forma se relaciona dentro de los Discomicetos por la falta de dehiscencia (el cual es un sistema de abertura natural del pericarpio) y del

epitecio (formación constituida por una masa amorfa, que puede recubrir la parte apical de las ascas y los parafisos) (Ohm *et al.* 2010). Sin embargo, se desconoce si es el único hongo causante de la enfermedad o si existen otros hongos.

Por lo anterior, en este trabajo, se colectaron hojas de *A. salmiana* en las regiones del San José el Salto, Epazoyucan, Chilcuaultla, el Cardonal y Zempoala del estado de Hidalgo, con la finalidad de identificar por métodos microbiológicos y moleculares, el agente causal de viruela o negrilla en plantas de *Agave salmiana*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Se realizó un muestreo de 10 plantas de *Agave salmiana* para cada una de las regiones Epazoyucan, Zempoala Chilcuaultla, San José el Salto y el Cardonal en el Estado de Hidalgo, colectando 3 hojas por planta con presencia de viruela o negrilla, durante los meses de enero a marzo 2018. El material vegetal fue trasladado y almacenado en el laboratorio a temperatura ambiente, hasta su procesamiento.

Recolección y obtención de esporas

Para la recolección de esporas se utilizó un bisturí estéril y se raspó sobre la cutícula de la hoja, las esporas se almacenaron en tubos eppendorf estériles para su posterior utilización. Antes de realizar el aislamiento y purificación, se realizó un frotis simple, poniendo una gota de agua sobre un portaobjetos y con un asa estéril se tomaron esporas, finalmente se observó a 40x en un microscopio óptico para conocer su morfología y características de la espora.

Aislamiento y purificación

Una vez que se recolectaron las esporas, se prepararon placas con agar papa dextrosa (PDA) el cual se esterilizó a 120 °C por 15 min. Las esporas fueron inoculadas por picadura en el centro de una caja petri, utilizando un asa bacteriológica recta estéril. Este procedimiento se realizó con cada una de las muestras recolectadas de las cinco regiones en estudio. Finalmente, todas las cajas se incubaron a 28 °C por siete días. De las cepas aisladas se realizaron resiembras para lograr la purificación, siguiendo la metodología anteriormente descrita.

Caracterización macroscópica y microscópica

De las cepas puras se determinó la morfología al describiendo su forma, apariencia, color, tamaño y consistencia del micelio. Para la caracterización microscópica del hongo se realizó un microcultivo incubando en cámara húmeda a 28 °C durante una semana. Pasado ese tiempo se tomaron tanto el cubre como el portaobjetos eliminado el agar, cuidando de no dañar las estructuras fúngicas desarrolladas y se montaron para su observación en un microscopio a un aumento de 40x, tiñendo las muestras con lactofenol y azul de algodón (Arias Cifuentes y Piñeros Espinosa 2008).

Identificación molecular de los aislados

Para la identificación molecular se analizaron los resultados de microscopia y derivado que todas las cepas presentaban la misma morfología macro y micro, se seleccionó la cepa aislada de la región de Epazoyucan, de la cual se realizó la extracción de ADN por el método descrito por Weising *et al.* (2005).

El ADN obtenido fue utilizado como molde para la amplificación del espaciador interno ITS de la región del ADN ribosomal del gen ARNr 18S, mediante PCR en un termociclador SimpliAmp Thermal Cycler utilizando los iniciadores universales ITS1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') e ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') (White *et al.* 1990).

Con la finalidad de conocer la integridad del DNA y de los productos de la PCR se realizó una electroforesis en gel de agarosa 1 % (p/v) disuelto en buffer TAE 1X (Tris-Acetato 40 mM, EDTA 2 mM, pH 8). El gel se corrió a 80 V durante 45 min y se tiñó con bromuro de etidio (10 mg/mL) en TAE durante 15 min, posteriormente se observó a través de un fotodocumentador con luz ultravioleta. El tamaño de las moléculas de DNA se determinó comparando la distancia de migración con las correspondientes a un marcador de 100 pb.

La purificación de los productos de amplificación se hizo siguiendo el protocolo descrito a continuación: a cada muestra de PCR se le añadieron 100 µL de isopropanol, y se incubaron en hielo durante 25 min. Posteriormente se centrifugaron a 12 500 rpm por 15 min a 4 °C. Se descartó el sobrenadante y al precipitado se le añadieron 100 µL de etanol al 70 % frío y se incubaron en hielo durante 25 min. Las muestras se volvieron a centrifugar a 12 500 rpm por 15 min a 4 °C, se decantaron y dejaron secar. El precipitado fue resuspendido en 25 µL de agua inyectable.

Las muestras purificadas se enviaron a la Unidad de Síntesis y Secuenciación de ADN (USSDNA) del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los electroferogramas obtenidos fueron transformados a secuencias de nucleótidos en formato de texto, los cuales fueron visualizados y editados de forma manual utilizando el software Chromas lite (<https://technelysium.com.au/wp/chromas/>) y BioEdit v. 7.2.6 (<https://bioedit.software.informer.com/7.2/>). Las secuencias editadas obtenidas se compararon mediante el uso del algoritmo del programa BLAST en la base de datos del GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El material vegetal colectado de *A. salmiana* de las regiones en estudio, presentaban características de la enfermedad viruela o negrilla en Agave (Figura 1). Aunque la información de esta afección es muy limitada, se tienen reportes que el posible agente causal es *A. mexicana* (Civantos 1999), un hongo ascomiceto que ataca sobre todo a las pencas bajas llegando a necrosarlas. Su diseminación puede ser el viento, agua y organismos pequeños como insectos que actúan como vectores (CESAVEG 2008, Lastres y Soza, 2009). Al ser un hongo biotrófico crece de manera directa en los tejidos de las plantas, las cuales se manifiestan como manchas en toda la hoja o parte de ella (Guatimosim *et al.* 2015). Hofmann y Piepenbring (2011), mencionan que los hongos pertenecientes a la familia Asterinaceae crecen en los tallos u hojas verdes de las plantas.

Las esporas obtenidas de las lesiones al ser observadas en microscopio óptico, muestran similitud en su estructura, presentando la pared del ascomato superficial pigmentada de un marrón oscuro, además de triotecio (Figura 2), estas características son similares a Asterinales (Hongsanant *et al.* 2014).

De las esporas se obtuvieron los micelios (50 cepas en total), los cuales presentaron estructuras filamentosas, algodonosas de forma aérea, con pigmentación negruzca en medio PDA (Figura 3), de acuerdo a Meena *et al.* (2017) estas características son similares a la familia Asterinaceae, que posiblemente pudiera ser *A. mexicana*. Sin embargo, hay una gran variedad de hongos que presentan estas características (Anke y Weber 2009). De las observaciones microscópicas



Figura 1. Cultivo de *Agave salmiana* con signos de viruela o negrilla.

se identificó un micelio hialino septado y conidióforos pardos, con conidios curvos en forma de elipse de color marrón con septos transversales. Por lo anterior, se puede descartar que los aislados correspondan a *A. mexicana*, debido a que este fitopatógeno presenta un micelio tipo meliola, con un peritecio pequeño de color marrón que contiene esporas uniseptadas y constreñidas (Ellis y Everhart 1900). Con estos resultados se podría suponer que las cepas aisladas, corresponden al género *Curvularia*, debido a la morfología de los conidios de forma curva y septada. Este género podría estar asociado a la enfermedad de la negrilla en el maguey, debido a que el género *Curvularia* es considerado un fitopatógeno secundario, causando manchas foliares negras además de que está asociado al marchitamiento de plantas (Pérez *et al.* 2009). *Curvularia lunata*, se ha identificado principalmente en plantas de maíz (Zhang *et al.* 2019). Para descartar esta hipótesis, del total de cepas aisladas de las diferentes regiones y al compartir las mismas características, se seleccionó la cepa EZ01 pues compartía las mismas características coloniales y microscópicas con todas las demás.

El amplificado obtenido presentó un tamaño esperado de 500-600 pb. La literatura menciona que para la identificación molecular de *C. lunata* se realiza de las regiones internas transcritas ITS1 e ITS4 entre los ge-

nes ribosomales (rDNA) 18S-5.8S y 5.8S- 28S (Ríos *et al.* 2017). El fragmento de DNA de la cepa EZ01 fue secuenciado y se obtuvo la siguiente secuencia parcial: GTCGTAATATGAAGGCTGTACGCGGCTGTGCTCTCGGGCCAGTTTTGCGGAGGCTGAATTATTTATTACCCTTGTCTTTTGCACACTTGTGTTTCCTGGGCGGGTTCGCCCGCCACCAGGACCACATCATAAACCTTTTTATGCAGTTGCAATCAGCGTCAGTATAACAAATGTAAATCATTTACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTGTACCCTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGCGTTTTTGTCTTTGGTTGCCAAAGACTCGCCTTAAAGGATTGGCAGCCGGCCTACTGGTTTCGCAGCGCAGCACCATTTTTGCGCTTGAATCAGCAAAAGAGGACGGCAATCCATCAAGACTCCTTCTCACGTTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGAA.

Al realizar el análisis BLAST de la secuencia obtenida se encontró un 100 % de similitud con *Curvularia lunata*. El cual es un patógeno facultativo en plantas y suelos, ocasionando daños en las hojas, flores, semillas y tallos, que van desde manchas foliares pequeñas hasta lesiones de mayor tamaño (Estrada y Sandoval 2004).

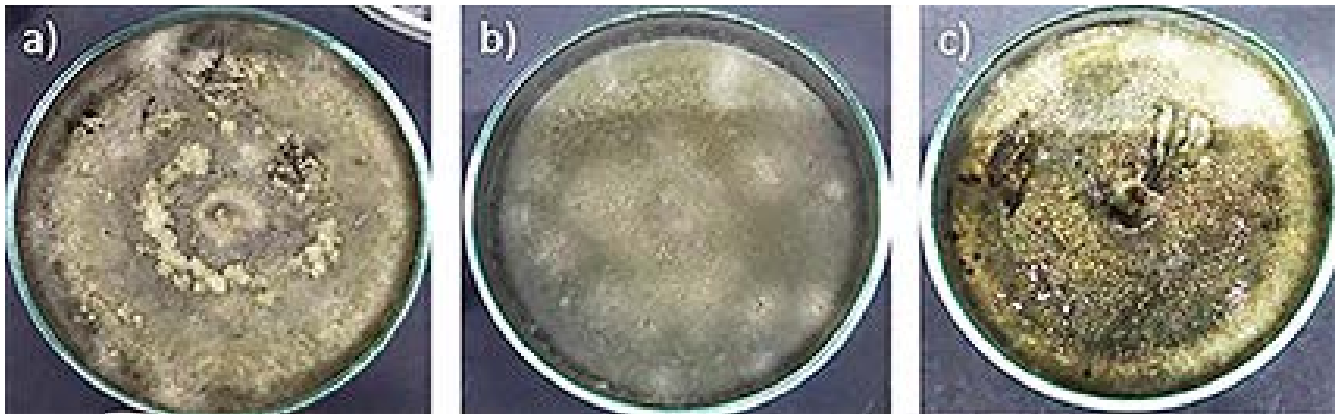


Figura 2. Morfología micelial de hongos aislados a partir de lesiones de viruela o negrilla en hojas de *A. salmiana*: a) cepa DS01 aislada de San José el Salto, b) cepa EZ01 aislada de Epazoyucan y, c) cepa CH01 aislada de Chilcuauhtla, Hidalgo.

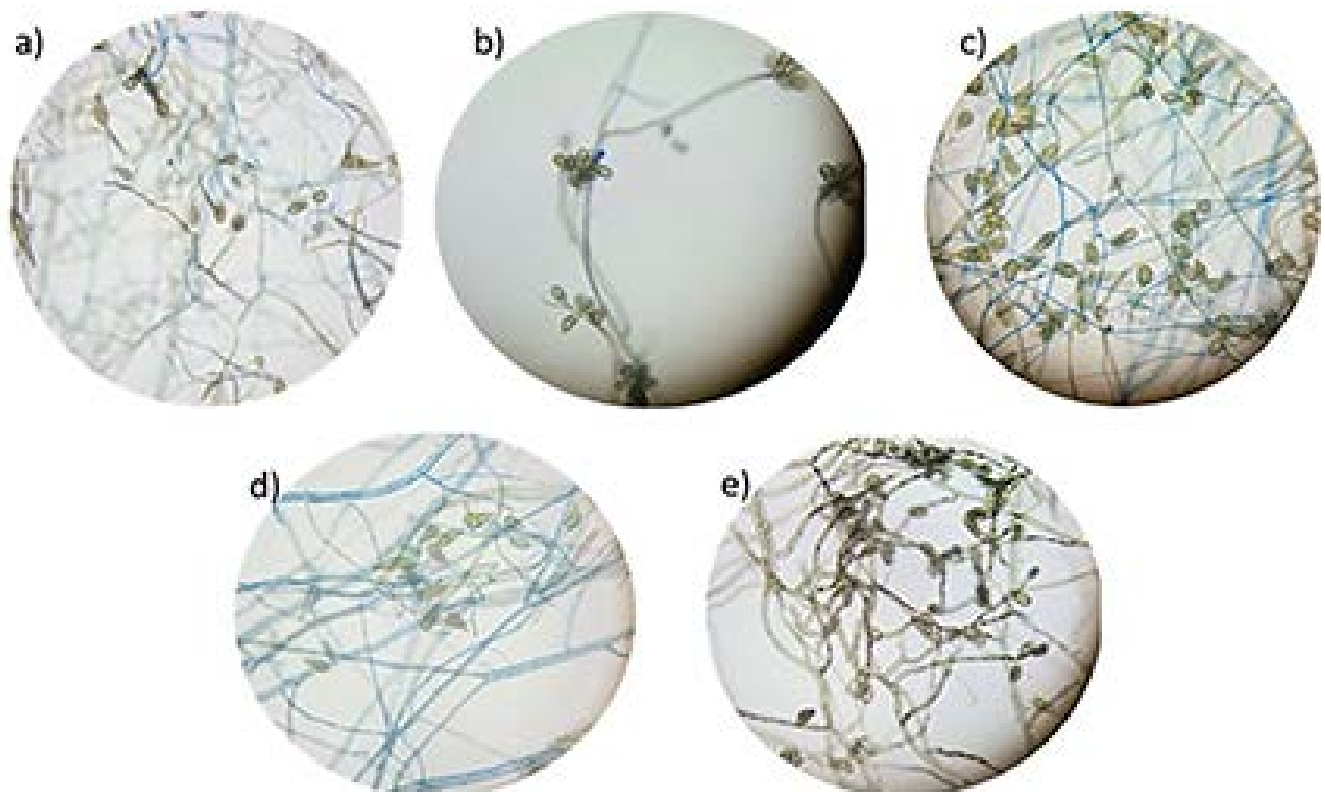


Figura 3. Morfología microscópica de hongos aislados a partir de lesiones de viruela o negrilla en hojas de *A. salmiana*: a) cepa DS01 aislada de San José el Salto, b) cepa EZ01 aislada de Epazoyucan, c) cepa CH01 aislada de Chilcuauhtla, d) cepa CD01 aislada del Cardonal y, e) cepa ZP01 aislada de Zempoala, Hidalgo.

Este hongo es responsable de varias enfermedades en las plantas, especialmente a las que pertenecen a la familia Poaceae, pero en la actualidad con los cambios ecológicos, los efectos que produce dicho hongo se ven en otras plantas, como en este caso el maguey, ya que prevalece en ambientes húmedos y cálidos, además de causar daños a los cultivos de manera significativa, impidiendo la fotosíntesis adecuada, provocando pérdida en la producción agrícola (Garcés *et al.* 2011, Resplandes *et al.* 2018). Sin embargo, se le ha relacionado principalmente como el agente causal de la mancha foliar en maíz (Zhang *et al.* 2019).

Los resultados obtenidos en esta investigación son el primer reporte sobre el aislamiento e identificación de *C. lunata* en un hospedero atípico como lo es *A. salmiana* y con posible asociación a la enfermedad de viruela o negrilla. Reportes han demostrado que *C. lunata* ataca a piñón (*Jatropha curcas*), ocasionando manchas foliares en hojas basales (Cisneros-López *et al.* 2012); en cacao (*Theobroma cacao*) (Cuervo-Parra *et al.* 2017), chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) vara de San José (*Polianthes tuberosa* L.) y piñón (*Pinus pinea* L.) (Cristóbal-Alejo *et al.* 2012). Por otro lado, en otro estudio se identificó a *C. lunata* en *Aloe vera*, presentando síntomas con lesiones circulares en la punta y la superficie abaxial de las hojas. Las lesiones fueron de color rojo claro bordeado por tejidos empapados de agua. A medida que avanzó la enfermedad, las lesiones fueron hundidas, de color granate. En etapas posteriores, las lesiones se secaron y se volvieron de color marrón oscuro (Avasthi 2015).

Las características microscópicas de *C. lunata* indican que el hongo presenta hifas vegetativas tabicadas, ramificadas, subhialinas a pardas, lisas a asperuladas. Con presencia de conidioforos (39-430 µm de largo, 4-9 µm de ancho en la base y 2.5-6 µm de ancho hacia el centro) septados, simples o ramificados, a menudo con una base bulbosa y geniculados o doblados en el ápice, de color marrón claro a oscuro, con paredes celulares más gruesas que las de las hifas vegetativas. Células conidiógenas (4-20 por 3-13 µm) terminales e intercalares, subcilíndricas y subglobosas o de forma irregular. Conidios casi siempre de cuatro celdas, lisos a asperulados, a menudo curvados en la tercera celda desde la base, que es más grande que las otras, células intermedias de color marrón. La colonia es funiculosa a algodonosa, negra olivácea, con un margen fimbriado; reverso negro. Las colonias son algodonosas y

grises en el centro, negruzcas y aterciopeladas hacia la periferia, con un margen fimbriado; marrón inverso en el centro, color crema hacia la periferia (Manamgoda *et al.* 2012). Dichas características corresponden a lo observado en el presente estudio.

CONCLUSIONES

Dentro del análisis, las cepas que se aislaron de las lesiones de viruela o negrilla en hojas de *A. salmiana* mostraron características macroscópicas y microscópicas correspondientes al género *Curvularia* y la identificación molecular corroboró la presencia de *Curvularia lunata*. De lo anterior se deduce que la enfermedad de viruela o negrilla presente en *A. salmiana* no necesariamente puede ser causada por *A. mexicana* y que esta puede estar asociada con *C. lunata*, siendo el primer reporte donde se aísla el fitopatógeno de un hospedero atípico como *A. salmiana*. Es necesario realizar más estudios sobre el comportamiento del hongo y establecer la relación con la enfermedad durante el proceso de infección. Así como, buscar métodos de control biológico que permitan disminuir o erradicar la enfermedad en agaves y con esto ayudar al buen desarrollo de la planta y aumentar su aprovechamiento.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Politécnica de Pachuca (UPPachuca) por el apoyo brindado para la realización de esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Álvarez Duarte MC, García Moya E, Suárez Espinosa J, Luna Cavazos M, Rodríguez Acosta M. 2018. Conocimiento tradicional, cultivo y aprovechamiento del maguey pulquero en los municipios de Puebla y Tlaxcala. *Polibotánica* 45, 205-222. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.45.15>
- Angeles Vázquez BV, Mercado Flores Y, García Mendoza A, Rodríguez Garay B, Anducho Reyes MA, Cervantes Álvarez J. 2017. Embriogénesis somática: una alternativa para el cultivo masivo del maguey pulquero *Agave salmiana* var. *salmiana*. *Ciencias Multidisciplinarias Proceedings T-III*, Universidad Politécnica de Pachuca. Pp 37-50. www.ecorfan.org/proceedings/CM_III/Ciencias%20Multidisciplinarias_%20Proceedings%20T_III.pdf#page=45

- Anke T, Weber D. 2009. Physiology and genetics: selected basic and applied aspects. Springer Science & Business Media, Heidelberg.
- Arias Cifuentes EL, Piñeros Espinosa PA. 2008. Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestra de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. Tesis. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/55362282/DESCRIPCION_DE_HONGOS_MACRO_Y_MICRO-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1645597921&Signature=WFLmAqIXml66mTDRHOE~b4TmEUJEE~9rkyrYhdq2L1b-pMYsKPqimkvP4RcanEHITGnYbVsNdES7cJAuLRCbTjT4Yz9y-N6OdmzM7Skspml~Ke8afIQb92pG7Yf4Yo0Y4bCExScR8yIXD-TXcWt~hGsRqWi5lo7jZTvIH2E8XOlV1pZ3QAFWLzc~VM32eb-NyZna6GK1T6iF9L1-mXXeUfQefRRiJfWI3rxqyF8z4rjVmw3y-G1UZPfdlFiKAwJjQe9ChufGmrqbjtMjD5KwwDptLzmwzfUjSo3z-jqNEbi75DRoHJiSNyQk1VvyaOcpEMQ~6bl7yAThKGd1o98YU-FCRdgb1-Q_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA
- Avasthi S. 2015. Occurrence of leaf spot diseases on *Aloe vera* (L.) Burm.f. caused by *Curvularia* species from Madhya Pradesh, India. *Biodiversitas Journal of Biological Biodiversity* 16, 79-83. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d160110>
- CESAVEG. 2008. Manual de plagas y enfermedades del Agave. Campaña manejo fitosanitario de cultivos perennes en Guajuato, México. http://www.cesaveg.org.mx/html/folleto/folleto_11/folleto_agave_11.pdf
- Cisneros-López E, González QJ, Moreno VR. 2012. First report of *Curvularia lunata* on *Jatropha curcas* in Mexico. *Plant Disease* 96 (2), 288. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-11-0485>
- Civantos M. 1999. Control de plagas y enfermedades del olivar. Consejo Oleícola Internacional, Madrid.
- Cristóbal-Alejo J, Navarrete-Mapen Z, Herrera-Parra E, Mis.Mut M, Tun-Suárez J, Ruiz-Sánchez E. 2013. Hifomicetos asociados a plantas tropicales del estado de Yucatán, México: identificación genérica y evaluación de fungicidas para su control. *Revista de Protección Vegetal* 28 (2), 138-144.
- Cuervo-Parra, J. A., Romero-Cortes, T., Ortiz-Yescas, G., Ramírez-Lepe, M. 2017. Isolation and molecular identification of *Curvularia lunata*/*Cochliobolus lunatus* causal agent of leaf spot disease of cocoa. *Food Safety and Food Microbiology* 17, 829-833.
- Ellis J, Everhart B. 1900. New species of fungi from various localities with notes on some published species. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 27 (2), 49-64. <https://doi.org/10.2307/2478343>
- Estrada G., Sandoval I. 2004. Patogenicidad de especies de *curvularia* en arroz. *Fitosanidad* 8 (4), 23-26.
- Garcés FF, Aguirre C, Carbo MJ, Liubá DGA. 2011. Severidad de *Curvularia* en 67 líneas autofecundadas S4 de maíz amarillo. *Ciencia y Tecnología* 4 (2), 39-44.
- García HEJ, Méndez GSJ, Talavera MD. 2010. El género *Agave* spp. en México: principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. *Revista Salud Pública y Nutrición* 5 (73), 109-129.
- Guatimosim E, Firmino AL, Bezerra JL, Pereira OL, Barreto RW, Crous PW. 2015. Towards a phylogenetic reappraisal of Parmulariaceae and Asterinaceae (Dothideomycetes). *Persoonia* 35, 230-241. <http://dx.doi.org/10.3767/003158515X688046>
- Hofmann TA, Piepenbring M. 2011. Biodiversity of *Asterina* species on Neotropical host plants: new species and records from Panama. *Mycologia* 103 (6), 1284-1301. <https://doi.org/10.3852/10-279>
- Hongsanan S, Li YM, Liu JK, Hofmann, TA, Piepenbring M, Bhat DJ, Boonmee S, Doilom M, Singtripop C, Tian Q, Mapook A, Zeng XY, Bahkali A, Xu J, Mortimer P, Wu X, Yang JB, Hyde K. 2014. Revision of genera in Asterinales. *Fungal Diversity* 68, 1-68. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0307-4>
- Lastres L, Soza F. 2009. Sanidad vegetal. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano.
- Manamgoda D, Cai L, Crous P, Madri H, Chukeatirote ESR. 2012. A phylogenetic and taxonomic re-evaluation of the *Bipolaris-Cochliobolus-Curvularia* Complex. *Fungal Diversity* 56, 131-144. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0189-2>
- Meena M, Swapnil P, Upadhyay RS. 2017. Isolation, characterization and toxicological potential of *Alternaria*-mycotoxins (TeA, AOH and AME) in different *Alternaria* species from various regions of India. *Scientific Reports* 7 (1), 1-19. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09138-9>
- Ohm RA, De Jong JF, Lugones LG, Aerts A, Kothe E, Stajich JE, Wösten HA. 2010. Genome sequence of the model mushroom *Schizophyllum commune*. *Nature Biotechnology* 28 (9), 957-963. <https://doi.org/10.1038/nbt.1643>
- Pérez BY, Mena PJ, López MMO. 2009. Nuevos registros de especies de *Curvularia* (Hongos Anamorfos) en suelos de Cuba. *Acta Botánica Cubana* 205, 26-29.
- Pérez HE, Chávez PM, González HJ. 2016. Revisión del agave y el mezcal. *Revista Colombiana de Biotecnología* 18 (1), 148-164. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.49552>
- Pérez Ramos A, Rodríguez Ortega A, Nieto Aquino JC, Callejas Hernández J, Portillo Márquez L. 2017. Comparación de dos sistemas de siembra de maguey (*Agave salmiana*). Universidad Politécnica de Francisco I. Madero, Tepatepec.
- Resplandes RSP, Urzêdo LE, Wagner SA, Pereira MM, Rodrigues SG. 2018. Morphological and molecular characterization of *Curvularia lunata* pathogenic to andropogon grass. *Bragantia* 37 (2), 326-332. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.2017258>
- Reynoso SR, García MA, López BW, López LA, Cadena IP, Pérez FMA, Domínguez GM. 2012. Identificación taxonómica de agaves (*Agave* spp.) utilizados para la elaboración del licor comiteco en Chiapas, México. *Agroproductividad* 5 (4), 10-16.

- Ríos Herrera EN, Ochoa Fuentes YM, Cerna Chávez E, Landeros Flores J, Cepeda Siller M, Rodríguez Guerra R. 2017. Hongos asociados a la mancha de asfalto en el cultivo de maíz en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8 (2), 457-462. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i2.65>
- SENASICA. 2017. Plagas reglamentadas del agave. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. <https://www.gob.mx/senasica/documentos/plagas-reglamentadas-del-agave-110851>
- Weising K, Nybom H, Wolff K, Kahl G. 2005. DNA fingerprinting in plants: principles, methods and applications. CRC Press, Londres.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, Londres. Pp. 315-322.
- Zhang D, Wang F, Zhao J, Sun J, Fu D, Liu K, Xue C. 2019. Virulence, molecular diversity, and mating type of *Curvularia lunata* in China. *Plant Disease* 103 (7), 1728-1737. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-18-1857-RE>