

FICHA TÉCNICA PARA EL DIAGNÓSTICO DE:

Botryosphaeria dothidea (Moug.) Ces. & De Not.



SENASICA, AGRICULTURA SANA PARA EL BIENESTAR.

"ESTE PROGRAMA ES PÚBLICO, AJENO A CUALQUIER PARTIDO POLÍTICO. QUEDA PROHIBIDO EL USO PARA FINES DISTINTOS A LOS ESTABLECIDOS EN EL PROGRAMA"



**GOBIERNO DE
MÉXICO**

AGRICULTURA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL



SENASICA
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD,
INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

© Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), [2021]

Impreso por SENASICA

Todos los derechos reservados.

Imagen de Portada: Pseudoparafisos en pseudotecio (Hanlin,2001)

ÍNDICE

Pág.

GENERALIDADES.....	1
INFORMACIÓN TAXONÓMICA	1
Sinonimias.....	1
Nombres comunes	1
Posición taxonómica	1
SÍNTOMAS.....	1
DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN	2
Observación directa	2
Cortes histológicos	2
Incubación en papel secante.....	3
Incubación en medio de cultivo	3
Características morfométricas	3
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	3
<i>Fusicoccum aesculi</i>	4
Características culturales.....	5
INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	6
REFERENCIAS.....	6
AVISO.....	8

***Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. & De Not.**

GENERALIDADES

El tizón del tallo o muerte regresiva, causado por el hongo *Botryosphaeria dothidea*, es una de las enfermedades más destructivas de los arándanos (Smith, 2009; Scarlett *et al.*, 2019), y que también puede afectar cultivos como el almendro, manzana, mango y melocotón (Faith, 2008). Es más común encontrarlo en su estado anamorfo *Fusicoccum aesculi*.

Botryosphaeria dothidea, se encuentra presente en Australia, China, Corea y Estados Unidos (Scarlett *et al.*, 2019; Choi *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2012; Smith, 2009).

INFORMACIÓN TAXONÓMICA

Botryosphaeria dothidea (Moug.) Ces. & De Not

Sinonimias

Sphaeria dothidea (Moug.) Petr.

Caumadothis dothidea (moug.) Petr.

Fusicoccum aesculi (Corda) (anamorfo)

Physalospora suberumpens Ellis & Everh.

Nombres comunes

Bark dieback disease (inglés)

Cane canker of blackberry (inglés)

Gummosis disease of blueberry (inglés)

Muerte regresiva de la corteza del arándano (español)

Tizón del tallo (español)

Posición taxonómica

Fungi, Ascomycota Botryosphaeriales Botryosphaeriaceae, *Botryosphaeria dothidea*

(Crous *et al.*, 2004; CABI, 2019)

SÍNTOMAS

De manera general, *Botryosphaeria dothidea* se manifiesta a través de pequeñas manchas oscuras que crecen formando canchros, causando deformación de las hojas,

agrietamiento de la corteza, secado y muerte de las hojas, ramas y de la planta completa. En las primeras etapas de la infección, las hojas de las ramas afectadas se tornan amarillas o rojizas, conforme avanza la enfermedad, se vuelven marrón y permanecen adheridas a los tallos los cuales se tornan descoloridos e internamente con coloración café (Figura 1) (Faith, 2008; Choi *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2012; Cline, 2013; Stafine *et al.*, 2020; SENASA; 2021).

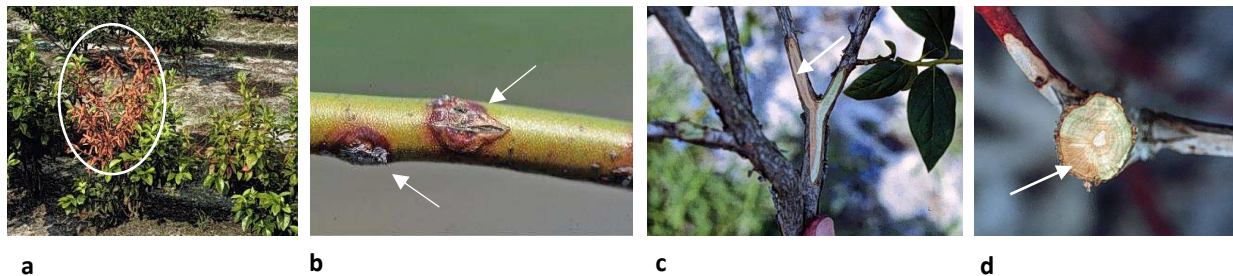


Figura 1. Síntomas causados por *Botryosphaeria dothidea* en arándano. a) Hojas color amarillo y rojizo. b) Agrietamiento en ramas. c) Decoloración interna de tallos. d) Coloración café en tallos. Tomado y modificado de: a, c y d) Cline (2013), b) Stafine *et al.* (2020)

DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN

La identificación de *Botryosphaeria dothidea* (anamorfo: *Fusicoccum aesculi*) se basa en las características morfológicas del hongo, obtenidas mediante observación directa al tejido vegetal infectado, cortes histológicos e incubación.

Observación directa

Observar hojas y tallos con presencia de síntomas, con ayuda de un microscopio estereoscópico buscar signos del hongo (picnidios, conidios, pseudotecios, ascas, ascosporas) y realizar montajes permanentes para la observación de las estructuras en un microscopio compuesto. Obtener las medidas del largo y ancho de al menos 10 ascocarpos, ascas y ascosporas, el intervalo y la media de estos. Comparar las características observadas con las reportadas por la literatura para *Botryosphaeria dothidea*.

Cortes histológicos

A partir de material vegetal con síntomas sospechosos de la enfermedad, bajo microscopio estereoscópico localizar estructuras (picnidios, ascostromas). Realizar cortes de no más de 3 mm de grosor, y montajes temporales con cubreobjetos o permanentes con anillo de parafina, con medio de montaje de glicerina al 5% con azul de Nilo, para la observación de las estructuras en un microscopio compuesto. Obtener las medidas del largo y ancho de al menos 10 de cada una de las estructuras observadas (picnidios, conidios, ascocarpos, ascas, ascosporas), registrar máximos y mínimos, así como el

promedio de estos. Comparar los valores observados con los reportados por la literatura para la identificación a nivel de especie.

Incubación en papel secante

Obtener fragmentos de aproximadamente 1 cm² del tejido vegetal con síntomas, desinfectar el tejido con una solución de hipoclorito de sodio al 1 % durante 2 min, enjuagar tres ocasiones con agua destilada estéril y secar sobre papel absorbente estéril. Colocar el tejido vegetal en cámara húmeda estéril e incubar a 25 ± 3 °C y al menos 80 % de humedad relativa, durante cuatro días.

Incubación en medio de cultivo

Sembrar los fragmentos de tejido vegetal desinfectados y secos en cajas Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) e incubar 25 ± 3 °C por cuatro a cinco días. Obtener cultivos puros monoconidiales en medios de cultivo PDA, Agar Agua (AA) o Avena Agar (OA), incubar bajo las condiciones descritas anteriormente y preparar montajes temporales con cubreobjetos o permanentes con anillo de parafina, con medio de montaje de glicerina al 5 % con azul de Nilo, de las estructuras para su observación al microscopio compuesto. Obtener las medidas del largo y ancho de al menos 10 de cada una de las estructuras observadas (peritecios, ascas, ascosporas, picnidios, conidios), a fin de obtener el intervalo y la media de estos. Comparar valores con los descritos para *Botryosphaeria dothidea* o *Fusicoccum aesculi*.

Características morfológicas

Botryosphaeria dothidea

Ascstroma pseudotecial de 200-500 µm diam. Pseudotecio formando un agregado de hasta 100 µm, a veces solitario, errumpente a través del tejido (Figura 2a), de forma globosa con cuello ostiolar corto y central, papilado o no, de color marrón a negro; pared pseudotecial, con 5-15 capas de textura angulares, región externa de células de color marrón, región interna de 2-4 capas de células hialinas que recubren el lóculo (Hanlin, 2001; Zapatillas, 2000, citado por Crous *et al.*, 2004).

Pseudoparafisos filiformes, septados, rara vez ramificado hacia la punta, de 2-4 µm de ancho (Figura 2b). Ascas bitunicadas, clavadas a oblongas, de 63-125 x 16-20 µm, con 8 ascosporas (Figura 2c, 2d). Ascosporas de forma fusoide a ovoide, a veces con extremos cónicos dando un aspecto elipsoide (Figura 2e, 2f), de (17-)19-24(-32) x (6-)7-8(-10) µm, unicelular, hialinas, lisa con contenido granular (Hanlin, 2001; Zapatillas, 2000, citado por Crous *et al.*, 2004).

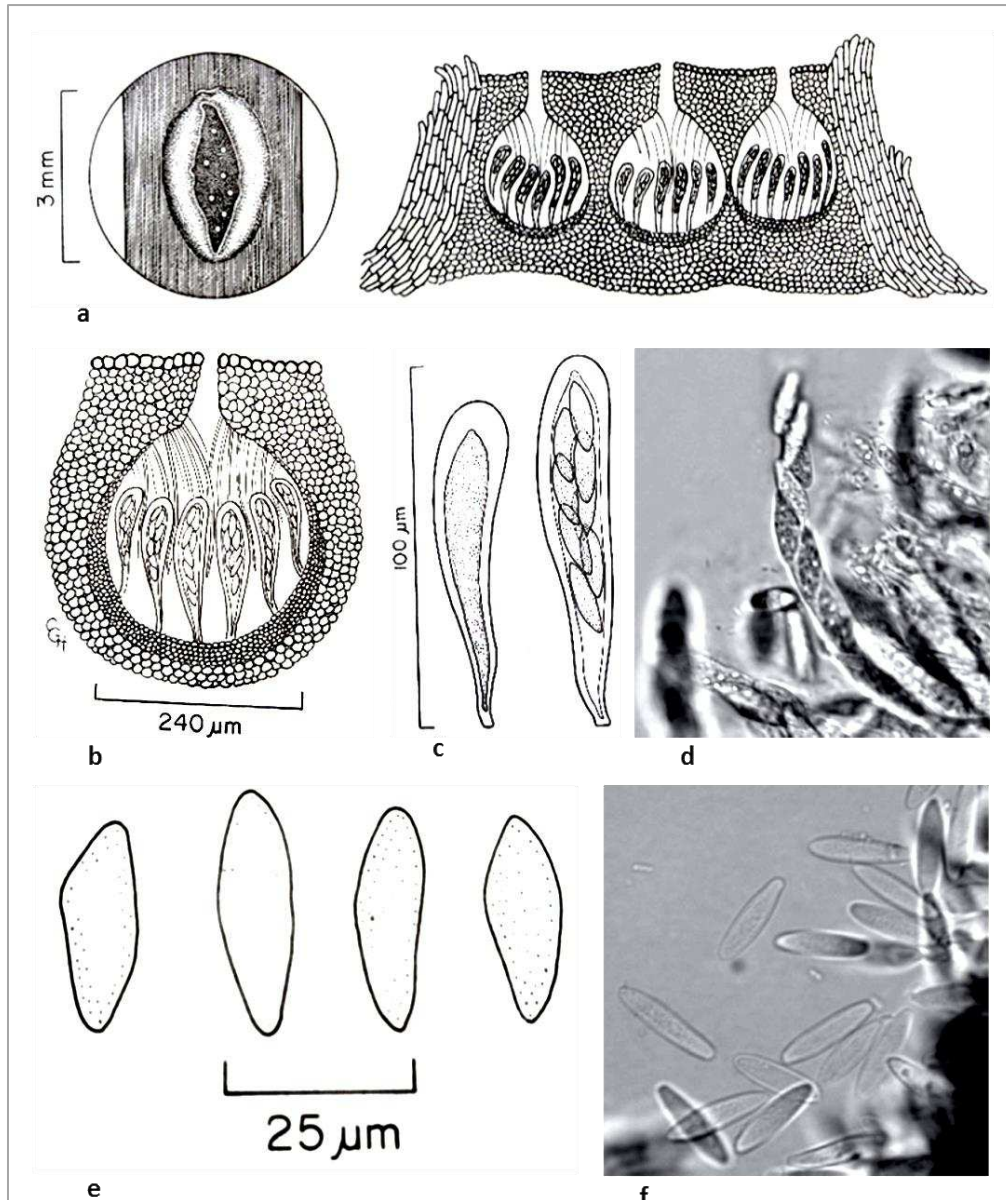


Figura 2. *Botryosphaera dothidea*. a) Ascostroma pseudotecial, errumpente en tejido vegetal. b) Pseudoparafisos en pseudotecio. c y d) Ascas bitunicadas. e y f) Ascosporas fusoides. Tomado y modificado de a-c y e) Hanlin (2001), d y f) Qiu *et al.* (2008)

Fusicoccum aesculi

Presenta picnidios errumpentes de la epidermis del tejido vegetal (Figura 3a), conidios fusiformes a subclavados, subtruncado con base redondeada (Figura 3a-3i), de (17-)18-20(-22) x 4-5 μm, hialinos, unicelulares (Figura 3 b, 3d), rara vez formando un tabique antes de la germinación (Figura 3c, 3e-3i), con contenido granular. Células

conidiogénicas holoblásticas, hialinas, subcilíndricas (Figura 3b), de 6-20 x 2-5 μm , con 1-2 proliferaciones y engrosamiento periclinal. Espermacia unicelular, hialina, alantóide o en forma de varilla, 3-6 x 1.5-2 μm . Espermatoforos hialolínea, cilíndrico a subcilíndrico, 4-10 x 1-2 μm (Zapatillas, 2000, citado por Crous *et al.*, 2004; Phillips *et al.*, 2005).

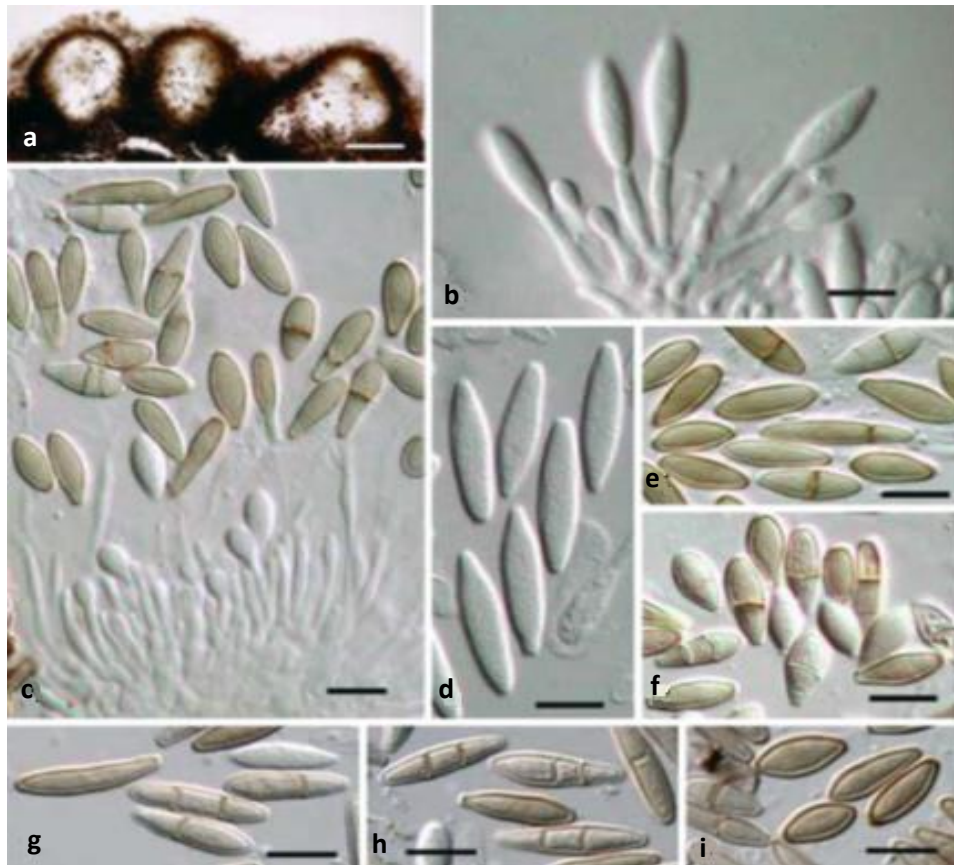


Figura 3. *Fusicoccum aesculi*, anamorfo de *Botryosphaeria dothidea*. a) Corte longitudinal de picnidios desarrollados sobre medio de cultivo avena agar. b) Célula conidiogénica. c) Conidio septado y oscuro. d) Conidio aceptado, hialino. e-i). Pared oscura en conidios con 0-2 septos. Escala: a) 100 μm , b-i) 10 μm . Tomado y modificado de: Phillips *et al.* (2005)

Características culturales

Colonias en PDA y OA, color blanco con 4-5 días de incubación a 25 °C, color oliváceo a los 12 días, convirtiéndose en gris oliváceo a negro violáceo a los 21 días, con estela micelial escasa a moderadamente densa, aprensada. Temperatura óptima para el crecimiento 25(-30) °C, la colonia alcanza un radio de 50 mm en PDA después de 4 días a 28 °C en la oscuridad. Picnidio superficial, globoso, en su mayoría solitario y cubierto por micelio (formado en Agar Agua (AA) sobre ramitas esterilizadas de *Malus* spp.,

Eucalyptus spp., *Populus* spp. o acículas de *Pinus* spp. en 7-14 días). Conidios largos y fusiformes, de (20-)23-27(-30) x 4-5(-6) µm. (Zapatillas, 2000, citado por Crous *et al.*, 2004; Yu *et al.*, 2012).

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Reportar el diagnóstico positivo cuando las características morfométricas observadas correspondan a las descritas por la literatura de referencia para *Botryosphaeria dothidea*, de lo contrario reportar el diagnóstico negativo.

En caso de resultar positivo, deberá conservarse el tejido vegetal infectado, mediante su deshidratación en prensa botánica. Conservar evidencia fotográfica de los síntomas y signos del hongo encontrados, así como de los pseudotecios, pseudoparafisos, ascas y ascosporas del hongo. Además, deben conservarse preparaciones permanentes con anillo de parafina, debidamente etiquetadas.

Requerimientos para corroboración: Informe técnico, muestra problema, montajes y fotografías de estructuras o especímenes.

REFERENCIAS

- CABI (2019). Crop Protection Compendium. CABI International. United Kingdom. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/9627>
- Choi I.Y. (2011). First Report of Bark Dieback on Blueberry Caused by *Botryosphaeria dothidea* in Korea. The American Phytopathological Society. 95(2):227 <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-10-0371>
- Cline B. (2013). Stem Blight of Blueberry. Extension Plant Pathology. <https://content.ces.ncsu.edu/stem-blight-of-blueberry>
- Crous P.W., Gams W., Stalpers J.A., Robert V. and Stegehuis G. 2004. MycoBank: an online initiative to launch mycology into the 21st century. Studies in Mycology 50: 19-22
- Faith W. A. (2008). Etiology of *Botryosphaeria* stem blight on Southern highbush blueberries in Florida and quantification of stem blight resistance in breeding stock. University of Florida, Thesis Master of Science. 63p.
- Hanlin R.T. (2001). Illustrated genera of ascomycetes. APS PRESS. Vol I. 263 pp. pag. 48-49.

- Phillips A.J.L., Rumbos I.C., Alves A. & Correia A. (2005). Morphology and phylogeny of *Botryosphaeria dothidea* causing fruit rot of olives. *Mycopathology* 1(59):433-439. DOI: 10.1007/s11046-005-0256-2
- Qiu Y., Savocchia S., Steel C.C. and Ash G.J. (2008). *Botryosphaeria dothidea* associated with grapevine trunk disease in south-eastern Australia. *Australian Plant Pathology* 37:482-485. DOI: 10.1071/AP08045
- Scarlett, K.A., Shuttleworth, L.A., Collins, D. (2019). Botryosphaeriales associated with stem blight and dieback of blueberry (*Vaccinium* spp.) in New South Wales and Western Australia. *Australasian Plant Pathol.* 48: 45-57. <https://doi.org/10.1007/s13313-018-0584-6>
- SENASA (2021). *Botryosphaeria dothidea*. Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas. <https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/botryosphaeria-dothidea>
- Smith, B.J. (2009). *Botryosphaeria* stem blight of southern blueberries: cultivar susceptibility and effect of chemical treatments. *Acta Hortic.* 810:385-394. DOI:10.17660/ActaHortic.2009.810.50
- Stafine E.T., Melanson R., Layton B., Silva J., Canales E. (2020). Establishment and Maintenance of Blueberries. <https://extension.msstate.edu/publications/publications/establishment-and-maintenance-blueberries?page=5>
- Yu L., Rarisara I., Xu S.G., Wu X. and Zhao J.R. (2012). First Report of Stem Blight of Blueberry Caused by *Botryosphaeria dothidea* in China. *The American Phytopathological Society* 69(11): 1697-1697. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-12-0500-PDN>

AVISO

La metodología descrita en la presente ficha técnica para la detección de *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. & De Not., tiene un sustento científico que respalda los resultados obtenidos al aplicarlo. La incorrecta implementación o variaciones en la metodología especificada en este documento de referencia pueden derivar en resultados no esperados, por lo que es responsabilidad del usuario seguir y aplicar el procedimiento de forma correcta.

Forma recomendada de citar

SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2021. Ficha técnica para el diagnóstico de: *Botryosphaeria dothidea*. Tecámac, México: Autor.

Esta ficha técnica fue elaborada, revisada y validada por el Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria.

Dr. Ángel Ramírez Suárez Subdirector Técnico	Validó
M. en C. María del Rocío Hernández Hernández Jefa del Departamento de Fitopatología	Revisó
Dra. Magnolia Moreno Velázquez Técnico del Laboratorio de Micología	Elaboró

CONTACTO

lab.micologia@senasica.gob.mx
Teléfono y extensión (55) 59051000 ext. 51424, 51373

Dudas sobre:

- Campañas Fito o Zoonosanitarias
- Movilización de Productos Agroalimentarios y Mascotas

800 987 9879

Quejas • Denuncias
Órgano Interno de Control
en el Senasica

55 5905.1000

Ext. 51648

gob.mx/agricultura

gob.mx/senasica



“Este programa es público, ajeno a cualquier partido político.
Queda prohibido el uso para fines distintos a los establecidos en el programa”