

***Lasiodiplodia theobromae* en Cultivos Agrícolas de México: Taxonomía, Hospedantes, Diversidad y Control**

***Lasiodiplodia theobromae* in Agricultural Crops in México: Taxonomy, Host, Diversity and Control**

Paola Alejandra Picos-Muñoz, Raymundo Saúl García-Estrada, Josefina León-Félix, Adriana Sañudo-Barajas y Raúl Allende-Molar. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Coordinación Culiacán. Carr. A Eldorado Km 5.5. Campo El Diez, Culiacán, Sinaloa. CP 80110. Correspondencia: (rallende@ciad.mx).

Recibido: Julio 22, 2014 **Aceptado:** Diciembre 25, 2014

Picos Muñoz PA, García Estrada RS, León Felix J, Sañudo Barajas A y Allende Molar R. 2015. *Lasiodiplodia theobromae* en cultivos agrícolas de México: Taxonomía, hospedantes, diversidad y control. *Revista Mexicana de Fitopatología* 33: 54-74.

Resumen. El hongo *Lasiodiplodia theobromae* es el agente causal de numerosas enfermedades de plantas en una gran variedad de hospederos. Los cultivos hortofrutícolas son particularmente sensibles a la infección por este hongo. Aunque, en México *L. theobromae* está asociado con la muerte descendente y pudrición de frutos como mango, uva, papaya, rambután, zapote y cítricos aún es escaso el número de reportes relacionados con enfermedades causadas en diferentes especies vegetales. La taxonomía de *L. theobromae* ha mostrado importantes progresos, con la caracterización de las regiones espaciadoras intergénicas y factor de elongación 1 alfa se ha podido esclarecer su ubicación filogenética y su diferenciación con especies crípticas, lo que ha incrementado los reportes en nuevos huéspedes vegetales. El objetivo de esta revisión es el dar a conocer el estatus de *L. theobromae* en México.

Abstract. *Lasiodiplodia theobromae* is the causal agent of numerous plant diseases in a wide variety of hosts. Fruit and vegetable crops are particularly susceptible to infection by this fungus. Although in Mexico, *L. theobromae* is associated with dieback and fruit rot in fruits such as mango, grapes, papaya, rambutan, sapote mamey and citrus fruit, the number of reports of this fungus related to diseases in different plant species is still few. The taxonomy of *L. theobromae* has shown important progress, with the characterization of the intergenic spacer regions and the elongation factor 1 alpha, phylogenetic location and cryptic species differentiation have been clarified and an increase of reports in new plant hosts has been made. Thus, the objective of this review is to present the status of *L. theobromae* in Mexico.

Key words: *Botryosphaeriaceae*, dieback, fruit rot, stem-end rot

Lasiodiplodia theobromae (Pat.) Griffon and Maubl. is the species type of the genus *Lasiodiplodia*, which is a fungus that was described for the first time around 1890 by Saccardo, affecting cocoa

Palabras clave: *Botryosphaeriaceae*, muerte descendente, pudrición de frutos, pudrición del pedúnculo.

Lasiodiplodia theobromae (Pat.) Griffon and Maubl. es la especie tipo del género *Lasiodiplodia* es un hongo que fue descrito por primera vez alrededor de 1890 por Saccardo, afectando frutos de cacao (*Theobromae cacao*) en Ecuador (Crous y Palm, 1999). Este hongo es cosmopolita y tiene un amplio rango de hospederos, incluidos monocotiledóneas, dicotiledóneas y gimnospermas, especialmente de los trópicos y subtrópicos. Es un hongo pleomórfico y ubicuo, por lo cual ha tenido más de un sinónimo (Abdollahzadeh *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011).

Las enfermedades ocasionadas por este patógeno incluyen muerte descendente, cáncer, gomosis, tizón de la hoja, pudrición de raíz en plantas maderables y cultivos (Pitt y Hocking, 2009; Shahbaz *et al.*, 2009). *L. theobromae* es saprófito pero se le considera un patógeno latente, encontrándose como endófito en tejidos sanos de la planta, convirtiéndose en patógeno cuando el hospedero está debilitado o estresado (Rubini *et al.*, 2005; Mohali *et al.*, 2005); también se ha reportado como un patógeno oportunista de humanos causando infecciones subcutáneas, oculares y de órganos internos (Rebell y Forster, 1976; Maslen *et al.*, 1996; Summerbell *et al.*, 2004; Woo *et al.*, 2008). A nivel mundial existen registros de *L. theobromae* afectando cultivos frutales de mango (Jonhson, 1992), aguacate (Pegg *et al.*, 2003), papaya (Queiroz *et al.*, 1997), plátano (Alves *et al.*, 2008), rambután (Sivakumar *et al.*, 1997), litchi (Liu *et al.*, 2005), uva (van Niekerk *et al.*, 2004), guanábana (Lutchmeah, 1988), anacardo (Cardoso *et al.*, 2002), cítricos, duraznos (Damn *et al.*, 2007) y longan (Serrato-Días *et al.*, 2014) entre otros, causando pérdidas económicas en las distintas etapas de la producción.

podis (*Theobromae cacao*) en Ecuador (Crous and Palm, 1999). This fungus is highly diverse and has a large range of hosts, including monocotyledons, dicotyledons and gymnosperms, especially from the tropics and subtropics. It is a pleomorphic and ubiquitous fungus, as such it has had more than one synonym (Abdollahzadeh *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011).

The diseases caused by this pathogen include dieback, cancer, gummosis, leaf blight, and root rot on woody plants and crops (Pitt and Hocking, 2009; Shahbaz *et al.*, 2009). *L. theobromae* is saprophytic but is considered a latent pathogen, found as an endophyte in healthy plant tissue and becoming a pathogen when the host is debilitated or stressed (Rubini *et al.*, 2005; Mohali *et al.*, 2005). It has also been reported as an opportunist pathogen in humans causing subcutaneous, ocular infections as well as infections of the internal organs (Rebell and Forster, 1976; Maslen *et al.*, 1996; Summerbell *et al.*, 2004; Woo *et al.*, 2008). At a global level there are records of *L. theobromae* affecting fruit crops such as mango (Johnson, 1992), avocado (Pegg *et al.*, 2003), papaya (Queiroz *et al.*, 1997), banana (Alves *et al.*, 2008), rambutan (Sivakumar *et al.*, 1997), lychee (Liu *et al.*, 2005), grapes (van Niekerk *et al.*, 2004), soursop (Lutchmeah, 1988), cashew (Cardoso *et al.*, 2002), citrus fruit, peaches (Damn *et al.*, 2007) and longan (Serrato-Días *et al.*, 2014) among others, causing economical loses in various stages of production.

In recent years, its phylogenetic relation with cryptic species has been established through the analysis of DNA in fragments of the intergenic spacer regions (ITS) and the elongation factor 1 alpha (EF-1 α), which has allowed for clearer results of its location with regard to similar or closely related species (Pavlic *et al.*, 2004); Alves *et al.*, 2008; Abdollahzadeh *et al.*, 2010).

En años recientes se ha establecido su relación filogenética con especies crípticas a través del análisis de ADN en fragmentos de las regiones espaciadoras intergénicas (ITS) y el factor de elongación 1 alfa (EF-1 α), lo que ha permitido resultados más claros de su ubicación en relación a especies similares o cercanamente relacionadas (Pavlic *et al.*, 2004; Alves *et al.*, 2008; Abdollahzadeh *et al.*, 2010).

La etiología de la enfermedad es crucial para estudios epidemiológicos y para una mejor comprensión de la distribución e importancia de este hongo, así como para establecer estrategias y tratamientos de control efectivo. El objetivo de este escrito es describir el estatus de *L. theobromae* afectando distintos cultivos frutales y maderables en México así como la compilación de los resultados publicados de los cultivos afectados enfocándose en aspectos de biología, patogenicidad, epidemiología y estrategias de control de este hongo en nuestro país.

TAXONOMÍA

El hongo *Lasiodiplodia theobromae* se clasifica dentro de los Ascomycetos en el orden Botryosphaerales y en la familia Botryosphaeriaceae (Schoch *et al.*, 2006; Slippers *et al.*, 2013); presenta un estado sexual (teleomorfo), poco común *Botryosphaeria rhodina*. Sin embargo no existen descripciones recientes de su estado sexual, por lo cual se ha reportado que éste se encuentra perdido (Phillips *et al.*, 2008). El estado sexual de este hongo necesita clarificarse, los resultados que se tienen hasta ahora han sido inconclusos dado que no se han encontrado subsecuentes reportes que confirmen esta conexión (Alves *et al.*, 2008).

L. theobromae tuvo como sinónimo a *Diplodia theobromae* (Alvarez, 1976; Denman *et al.* 2000). En años recientes estudios filogenéticos, basados en las regiones ITS, realizados por Zhou y Stanosz

The etiology of the disease is crucial for epidemiological studies and for a better understanding of the distribution and importance of this fungus, as well as to establish strategies and treatments for its effective control. The objective of this article is to describe the status of *L. theobromae* affecting various fruit and woody crops in Mexico as well as to compile the published results of the affected crops focusing on the aspects of biology, pathogenicity, epidemiology and strategies of control for this fungus.

TAXONOMY

The fungus *Lasiodiplodia theobromae* is classified within the Ascomycota in the order Botryosphaerales and the family Botryosphaeriaceae (Schoch *et al.*, 2006; Slippers *et al.*, 2013). It shows an uncommon sexual state (teleomorph) *Botryosphaeria rhodina*; however, there are no recent descriptions of its sexual state, which is why it has been reported that this information has been lost (Phillips *et al.*, 2008). The sexual state of this fungus needs to be clarified, the results up until now have been inconclusive given that there have not been any subsequent reports that confirm this connection (Alves *et al.*, 2008).

Diplodia theobromae was known as a synonym of *L. theobromae* (Alvarez, 1976; Denman *et al.*, 2000). In recent years, phylogenetic studies based on the ITS regions, carried out by Zhou and Stanosz (2001), Slippers *et al.* (2004) and Phillips *et al.* (2008), show that the clades of these two genera are in fact separate. Furthermore, morphologically the two genera are clearly distinct. For example, the marks of the conidia are only present in *Lasiodiplodia* in the same manner the sexual stage, has only been reported in *L. theobromae*. Therefore, there is no reason to consider these two genera as synonyms (Phillips *et al.*, 2013).

(2001), Slippers *et al.* (2004) y Phillips *et al.* (2008) muestran que los clados de estos dos géneros están separados entre sí. Además, morfológicamente los dos géneros son claramente distintos. Por ejemplo, las estrías de los conidios están presentes solo en *Lasiodiplodia* de igual manera la forma sexual, se ha reportado solamente en *L. theobromae*. Por lo anterior, no hay razón para considerar a estos dos géneros como sinónimos (Phillips *et al.*, 2013).

Por mucho tiempo se consideró a *Botryodiplodia theobromae* Pat. (1892) como el basionimo de *L. theobromae*, el cual fue descrito en la planta *Theobroma cacao* en Ecuador; sin embargo, Crous y Palm (1999) examinaron el tipo original conservado en Pennsylvania y encontraron un ascomiceto valsoide por lo que el nombre de *Botryodiplodia* (Sacc.) Sacc. se considera *nomen dubium* (nombre incierto). Por otro lado, no se ha encontrado el holotipo de *L. theobromae* en herbario alguno (Pavlic *et al.*, 2004) con lo que se presume que se perdió con el tiempo. Hecho por el cual, Phillips *et al.* (2013) designaron un neotipo aislado de un fruto indefinido del arrecife de coral de la costa este en Papua Nueva Guinea, lejos de la localidad del holotipo y del substrato original (planta de cacao), considerando este neotipo como una cepa de referencia para *L. theobromae*.

En relación a su teleomorfo, a través del tiempo la taxonomía superior del género *Botryosphaeria* (estado sexual de *Lasiodiplodia theobromae*) ha tenido diferentes modificaciones. Slippers *et al.* (2013) indica que en un inicio el género fue asignado a la familia *Melogrammataceae*, dentro del orden Sphaeriales; posteriormente, fue situado en la familia *Pseudosphaeriaceae* que agrupaba taxones con un solo lóculo y ascostromata multiascal, dentro del orden Dothideales, posteriormente se creó la subfamilia *Botryosphaerieae* y fue colocado en ésta, pero no se le ubicó dentro de un orden. Un año después, se le designó en el orden Myriangiales,

For a long time *Botryodiplodia theobromae* Pat. (1892) was considered as the basionym of *L. theobromae*, which was described in the *Theobroma cacao* plant in Ecuador; however, Crous and Palm (1999) examined the original type conserved in Pennsylvania and found an Ascomycota valsoide by which the name *Botryodiplodia* (Sacc.) Sacc. is considered *nomen dubium* (uncertain name). On the other hand, the holotype of *L. theobromae* has not been found in any herbarium (Pavlic *et al.*, 2004), as such it is presumed to have been lost with time. Phillips *et al.* (2013) designated a neotype isolated from an undefined fruit from the coral reef of the east coast in Papua New Guinea, far from the local of the holotype and the original substrate (cocoa tree), considering this neotype a strain of reference for *L. theobromae*.

Regarding its teleomorph, with the passing of time the superior taxonomy of the genus *Botryosphaeria* (sexual state of *Lasiodiplodia theobromae*) has had various modifications. Slippers *et al.* (2013) indicate that at the beginning the genus was assigned to the family *Melogrammataceae*, within the order Sphaeriales; subsequently, it was situated in the family *Pseudosphaeriaceae* that grouped taxa with a single loculus and multiscale ascostromata, within the order Dothideales; following that, the subfamily *Botryosphaerieae* was created and it was placed here; however, it was not placed within an order. A year later, it was assigned to the order Myriangiales, and subsequently the subclass Dothideineae was created within the new order Pseudosphaeriales and the new family *Botryosphaeriaceae*. One of the main reasons for this reorganization in the classification of *Botryosphaeria* was because of the confusion with regard to the ontogeny and morphology of true perithecia, ascostromata and interstitial tissue (Denman *et al.*, 2000; Slippers *et al.*, 2013).

posteriormente se creó la subclase Dothideineae dentro del nuevo orden Pseudosphaeriales y la nueva familia *Botryosphaeriaceae*. Una de las razones principales de esta reorganización en la clasificación de *Botryosphaeria* fue la confusión respecto a la ontogenia y morfología de verdaderos peritecios, ascostromata y tejido intersticial (Denman *et al.*, 2000; Slippers *et al.*, 2013).

En los últimos años, debido principalmente a la disponibilidad de herramientas moleculares basadas en el ADN recombinante, ha surgido una taxonomía más sólida para este grupo de hongos. Hasta hace una década la posición del género en la clasificación más alta de los ascomicetes no había sido resuelta (Denman *et al.*, 2000). Estudios filogenéticos señalan la posición de la familia *Botryosphaeriaceae* en la clase Dothiideomycetes, situándola dentro de Botryosphaeriales, un nuevo orden e independiente de los órdenes Pleosporales y Dothideales (Crous *et al.*, 2006). Actualmente se reconocen 6 familias dentro de este orden: *Botryosphaeriaceae* (con 17 géneros), *Phyllostictaceae* (*Phyllosticta*), *Planistromellaceae* (*Kellermania*), *Aplosporellaceae* (*Aplosporella*, *Bagnisiella*), *Melanopsaceae* (*Melanops*) y *Saccharataceae* (*Saccharata*) (Slippers *et al.*, 2013).

Los análisis basados en la secuenciación de ADN han originado cambios significantes en la nomenclatura, identificación y circunscripción de especies en *Botryosphaeriaceae*. Estos cambios son resultados de la implementación de una sola nomenclatura para todas las formas (sexual y asexual) de una especie (Hawksworth *et al.*, 2011), incluyendo la descripción de especies crípticas basadas en las secuencias de ADN donde los caracteres morfológicos no son suficientes para este propósito (Pavlic *et al.*, 2009; Sakalidis *et al.*, 2011). Estudios contemporáneos de la familia *Botryosphaeriaceae* apoyan esta moción, basándose en que las características morfológicas usadas típicamente

In the last couple of years, mainly due to the availability of molecular tools based on the recombinant DNA, a more solid taxonomy has emerged for this group of fungi. Until a decade ago, the position of the genus in the highest classification of the ascomycetes had not been solved (Denman *et al.*, 2000). Phylogenetic studies show the position of the family *Botryosphaeriaceae* in the class Dothiideomycetes, placing it within Botryosphaeriales, a new order and independent from the orders Pleosporales and Dothideales (Crous *et al.*, 2006). Currently 6 families are recognized within this order: *Botryosphaeriaceae* (with 17 genera), *Phyllostictaceae* (*Phyllosticta*), *Planistromellaceae* (*Kellermania*), *Aplosporellaceae* (*Aplosporella*, *Bagnisiella*), *Melanopsaceae* (*Melanops*) and *Saccharataceae* (*Saccharata*) (Slippers *et al.*, 2013).

The analyses based on the DNA sequencing have originated significant changes in the nomenclature, identification and circumscription of species in *Botryosphaeriaceae*. These changes are the results of the implementation of a single nomenclature for all forms (sexual and asexual) of a species (Hawksworth *et al.*, 2011), including the description of cryptic species based on the DNA sequences, where the morphological characters are not enough for this purpose (Pavlic *et al.*, 2009; Sakalidis *et al.*, 2011). Contemporary studies of the *Botryosphaeriaceae* family support this motion, based on the morphological characteristics typically used for the classification of species (form of the conidia or ascospores and its dimensions, septation and pigmentation) frequently not being too reliable. The ecological and geographical data are also difficult to interpret when some species have various hosts, and a host has various species (Slippers *et al.*, 2009). Therefore, the majority—if not all—of the taxa include the DNA sequence and its phylogenetic inference in order to redefine

para la clasificación de especies (forma del conidio o ascosporas y sus dimensiones, septación y pigmentación) son frecuentemente poco fiables. También los datos ecológicos y geográficos son difíciles de interpretar cuando algunas especies tienen varios huéspedes, y un huésped tiene distintas especies (Slippers *et al.*, 2009). Por esta razón la mayoría, si no es que todos, los taxa incluyen la secuencia de ADN y su inferencia filogenética para redefinir estas clasificaciones (Slippers *et al.*, 2013). Por ejemplo, Liu *et al.* (2012) se basaron en la amplificación y secuenciación de distintas regiones del genoma usando los oligonucleótidos NS1 y NS4, LROR y LR5, ITS4 e ITS5, EF2-728 F/ EF2-968F y Bt2a y Bt2b (Que amplifican la región de la subunidad pequeña del gen ribosomal nuclear, un segmento de la subunidad grande del gen RNA ribosomal, las regiones espaciadoras intergénicas del rDNA, un segmento del factor de elongación 1-alfa y un segmento del gen de β -tubulina, respectivamente) con el objetivo de reordenar a la familia *Botryosphaeriaceae* aceptando 29 géneros y 1485 especies, aclarando que faltan especies no descritas aún y algunos complejos de especies. También se reordenó el género *Macrovalsaria* en esta familia, el cual es monotípico, es decir con una sola especie *M. megalospora*, la cual se encuentra solamente en estado sexual y esta genéticamente cercana a *Lasiodiplodia* spp. Algunos consideran este género como el estado sexual de *Lasiodiplodia* spp. pero aún faltan estudios más profundos para confirmar esta proposición (Liu *et al.*, 2012).

Cambios recientes en la taxonomía de hongos, según la nomenclatura de algas, hongos y plantas (Código Melbourne), establecen solo un nombre para cada especie de hongo, ya que durante más de 100 años el código permitió los nombres de la fase asexual y la sexual de una sola especie (Rico, 2011). El género *Lasiodiplodia* se considera válido y se encuentra en la lista pendiente de aprobación por el comité de nomenclatura de hongos, lo cual

these classifications (Slippers *et al.*, 2013). For example, Liu *et al.* (2012) based themselves in the amplification and sequencing of the various regions of the genome using the oligonucleotides NS1 and NS4, LROR and LR5, ITS4 and ITS5, EF2-728 F/ EF2-968F and Bt2a and Bt2b (that amplify the region of the small subunit of the nuclear ribosomal gene, a segment of the large subunit of the ribosomal RNA gene, the intergenic spacer regions of the rDNA, a segment of the elongation factor 1-alpha and a segment of the β -tubulin gene, respectively) with the objective of rearranging the *Botryosphaeriaceae* family, accepting 29 genera and 1485 species, clarifying that species not yet described and some complex of species are still missing. The genus *Macrovalsaria* was also rearranged into this family, which is monotypic, that is to say with a single specie *M. megalospora*, which is only found in a sexual state and genetically close to *Lasiodiplodia* spp. Some consider this genus as the sexual state of *Lasiodiplodia* spp.; however, more in depth studies would be needed to confirm this proposal (Liu *et al.*, 2012).

Recent changes in the taxonomy of fungi, according to the nomenclature of algae, fungi and plants (Melbourne Code), establish only one name for each species of fungi, given that during more than 100 years the code allowed the names of the asexual and sexual phase of a single species (Rico, 2011). The genus *Lasiodiplodia* is considered valid and is found on the list pending approval by the committee of fungi nomenclature, which could occur in the next international congress of botany in China in 2017 (Kirk *et al.*, 2013; Wijayawardene *et al.*, 2014).

BIOLOGY

Physiology and Morphology. The main characteristic that distinguishes the genus

podría ocurrir en el próximo congreso internacional de botánica en China en el año 2017 (Kirk *et al.*, 2013; Wijayawardene *et al.*, 2014).

BIOLOGÍA

Fisiología y Morfología. La principal característica que distingue al género *Lasiodiplodia* de otros géneros cercanamente relacionados es la presencia de picnidios, paráfisis y estriaciones longitudinales en conidios maduros. Cerca de 20 especies han sido descritas en base a la morfología de conidios y paráfisis. Las descripciones más recientes de estas especies, aparte de la morfología, se basan en la secuenciación de las regiones espaciadoras intergénicas del rDNA (ITS) y factor de elongación 1 alfa (EF-1) (Damm *et al.*, 2007; Netto *et al.*, 2014).

La morfología de su ascocarpo es de color café oscuro a negro, agregado, con pared gruesa de color café oscuro y hialino en capas internas, de 250-400 μm de diámetro. El asca es bitunicada, estipitada, con 8 esporas, de 90-120 μm de longitud. Las ascosporas son biseriadas, hialinas, aseptadas de 30-35 x 11-14 μm . El conidiomata es estromático, simple o agregado, inmerso en el hospedero y una vez maduro emerge de éste, de color café oscuro, unilocular, de pared gruesa o delgada de color marrón, con frecuencia setoso, de hasta 5 mm de ancho, ostiolo central, único, papillado. Paráfisis hialinas, cilíndricas, tabicadas, ocasionalmente ramificadas con los extremos redondeado hasta 55 μm de largo y 3-4 μm de ancho (Phillips *et al.*, 2013).

Los conidióforos son hialinos, simples, algunas veces septados, rara vez ramificados, cilíndricos. Las células conidiogénicas son hialinas, de pared gruesa, lisas, cilíndricas a sub-obpiriformes, holoblásticos, con una o dos anillaciones. Los conidios son subovoides a elipsoidales, con ápices ampliamente redondeados, que se estrechan para trincar la base, más ancha a mediados del tercio superior,

Lasiodiplodia from other closely related genera is the presence of pycnidia, paraphyses and longitudinal striations in mature conidia. Around 20 species have been described based on the morphology of conidia and paraphyses. The most recent descriptions of these species, other than the morphology, are based on the sequencing of the intergenic spacer regions of the rDNA (ITS) and elongation factor 1 alpha (EF-1) (Damm *et al.*, 2007; Netto *et al.*, 2014).

The morphology of its ascocarp is a dark brown to black, aggregate, with a thick dark brown wall and hyaline in internal layers, of 250-400 μm in diameter. The asci is bitunicate, stipitate, with 8 spores, of 90-120 μm longitude. The ascospores are biseriated, hyaline, aseptated of 30-35 x 11-14 μm . The conidiomata is stromal, simple or aggregate, immersed in the host and once mature, it emerges a dark brown color, unilocular, thick or thin brown wall, with setoso frequency, up to 5 mm wide, central ostiolo, unique, papillado. Paraphyses hyaline, cylindrical, partitioned, occasionally branched with the ends rounded up to 55 μm long and 3-4 μm wide (Phillips *et al.*, 2013).

The conidiophore are hyaline, simple, sometimes septated, rarely branched, cylindrical. The conidiogenous cells are hyaline, of a thick wall, smooth, cylindrical to sub-obpiriforms, holoblastic, with one or two rings. The conidia are subvoids to ellipsoidal, with apex amply rounded, that narrow to truncate at the base, wider mid-upper third, of thick walls, with a granular content, at first hyaline and aseptated, turning a dark brown once mature, with 1 septum, showing deposits of melanin on the interior surface of the wall longitudinally disposed given a striated appearance with measurements 21.5-31.5 x 13-17 μm and one portion of 1.9 Length/Wide (Figure 1) (Pitt and Hocking, 2009; Phillips *et al.*, 2013).

The colonies in the culture medium are moderately dense, with aerial mycelium, beginning

de paredes gruesas, con contenido granular, en un principio hialino y aseptados, convirtiéndose a café oscuro una vez maduros, con 1 septo, presentan depósitos de melanina en la superficie interior de la pared dispuestos longitudinalmente dando una apariencia estriada con medidas de 21.5-31.5 x 13-17 μm y una proporción de 1.9 Largo/Ancho (Figura 1) (Pitt y Hocking, 2009; Phillips *et al.*, 2013).

Las colonias en medio de cultivo son moderadamente densas, con micelio aéreo, inicialmente blancas tornándose gris-olivo a los 7 días y con el tiempo adquieren un color negro. Las temperaturas de crecimiento para *L. theobromae* son 15 °C mínima, 28 °C como óptima y 40 °C como máxima (Slippers *et al.*, 2004; Alves *et al.*, 2008). La esporulación del hongo es favorecida por fotoperiodos de más de 16 horas de exposición de luz lo que permite la formación de picnidios; por el contrario, una exposición menor a 4 horas de luz diaria en un periodo de 23 días inhibe la esporulación del hongo (Perera y Lago, 1986). La presencia de nitrógeno en

white, turning a gray-olive color at 7 days, and with time acquire a black color. The temperature of growth for *L. theobromae* is 15 °C minimum, 28 °C optimally and 40 °C maximum (Slippers *et al.*, 2004; Alves *et al.*, 2008). The sporulation of the fungus is favored by photoperiods of more than 16 hours of light exposure, which allows for the formation of pycnidia; on the contrary, an exposure of less than 4 hours of daily light, in a period of 23 days, inhibits the sporulation of the fungus (Perera and Lago, 1986). The presence of nitrogen in the culture medium favors sporulation; Saha *et al.* (2008) evaluated the concentration of nitrogen in various culture mediums, finding that the potato dextrose agar (PDA) with added tea root extract induces rapid growth and higher mycelium, in addition to a higher concentration of spores than the rest of the evaluated mediums.

For several years, the physiology of the isolates in the separation of species of the genus *Lasiodiplodia* has been controversial. For example,

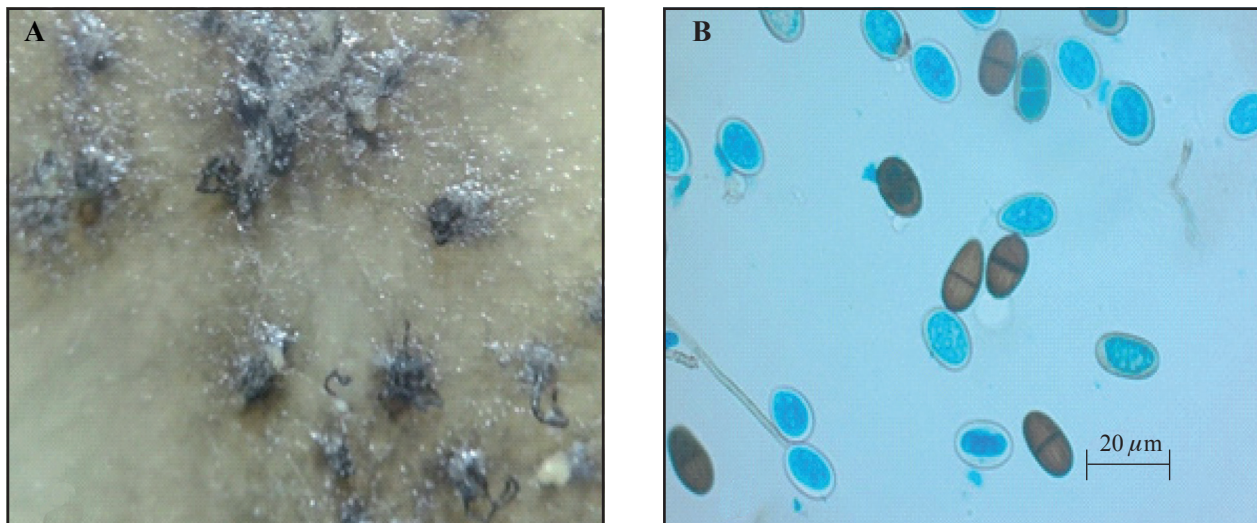


Figura 1. Estructuras de *Lasiodiplodia theobromae* en aislado proveniente de papaya. A) Micelio y picnidios en PDA a 14 días de crecimiento. B) Conidios maduros e inmaduros a 14 días de crecimiento.

Figure 1. Structures of *Lasiodiplodia theobromae* in an isolate taken from papaya. A) Mycelia and pycnidia in PDA at 14 days of growth. B) Mature and immature conidia at 14 days of growth.

el medio de cultivo favorece la esporulación; Saha *et al.* (2008) evaluaron la concentración de nitrógeno en distintos medios de cultivo, encontrando que el agar de papa dextrosa (PDA) adicionado con extracto de raíz de té induce a un crecimiento rápido y mayor del micelio, además de una concentración de esporas superior al resto de los medio evaluados. Por muchos años, la fisiología de los aislamientos en la separación de especies del género *Lasiodiplodia* ha sido tema de controversia. Por ejemplo, Alves *et al.* (2008) distinguieron a *L. parva* y *L. pseudotheobromae* de *L. theobromae* basados en la habilidad de las dos primeras de producir un pigmento rosa en medio PDA a 35 °C; también reportaron que *L. pseudotheobromae* era la única que crecía a 10 °C. En contraste, Abdollahzadeh *et al.* (2010) encontraron que *L. theobromae* a 35 °C producía una fuerte pigmentación rosa en PDA, además de que las tres especies crecían a 10 °C. Entonces, las características fisiológicas tienen un valor limitado para determinar la separación de especies ya que existe una gran variabilidad en las características fisiológicas entre los aislamientos de una misma especie.

Estudios filogenéticos. Al considerar la similitud en diversas secuencias de ADN, distintos géneros se agruparían con *Lasiodiplodia* al grado de considerarlos sinónimos de éste. Phillips *et al.* (2013) consideran a *Macrovalsaria* en el grupo de este género. Esto también fue señalado por Liu *et al.* (2012), aunque no encontraron suficiente evidencia en las regiones LSU y SSU para realizar este cambio y establecerlo como un sinónimo.

Por otro lado, aunado a la presencia cosmopolita, el amplio número de huéspedes y la variabilidad morfológica de *L. theobromae*, existen varias especies crípticas. Por ejemplo, Pavlic *et al.* (2004) describieron a *L. gonubiensis* Pavlic, Slippers & Wingf en base a la morfología y dimensiones de

Alves *et al.* (2008) distinguieron a *L. parva* and *L. pseudotheobromae* of *L. theobromae* based on the ability of the first two to produce a pink pigment in the PDA medium at 35 °C; they also reported that *L. pseudotheobromae* at 35 °C produced an intense pink pigmentation in the PDA, in addition to the three species growing at 10 °C. Therefore, the physiological characteristics have a limited value to determine the separation of species given that there exists great variability in the physiological characteristics between the isolates of a single species.

Phylogenetic Studies. Considering the similarity in diverse DNA sequences, diverse genera would be grouped with *Lasiodiplodia* to the point of considering them synonyms. Phillips *et al.* (2013) considers *Macrovalsaria* in the group of this genus. This was also pointed out by Liu *et al.* (2012), although no sufficient evidence was found in the LSU and SSU regions in order to make this change and establish it as a synonym.

On the other hand, joined to cosmopolitan presence, the ample number of hosts and the morphological variability of *L. theobromae*, various cryptic species exist. For example, Pavlic *et al.* (2004) described *L. gonubiensis* Pavlic, Slippers & Wingf based on the morphology and dimensions of its conidia and on the sequencing of the ITS regions. Subsequently, Burgess *et al.* (2006) described *L. crassispora*, *L. venezuelensis* and *L. rubropurpurea* based on the ITS regions and EF1- α and the morphological characteristics. Other species considered cryptic are *L. parva* and *L. pseudotheobromae* (Alves *et al.*, 2008), which are separated by the size and form of the conidia. In *L. pseudotheobromae* the conidia is larger and more ellipsoidal than in *L. theobromae*. Also, *L. parva* is easily distinguishable from the other two species given that its conidia are smaller. *L. mahajangana*

sus conidios y en la secuenciación de las regiones ITS. Posteriormente, Burgess *et al.* (2006) describieron a *L. crassispora*, *L. venezuelensis* y *L. rubropurpurea* en base a las regiones ITS y EF1- α y a las características morfológicas. Otras especies que se consideran crípticas son *L. parva* y *L. pseudotheobromae* (Alves *et al.*, 2008), las cuales están separadas por el tamaño y forma del conidio. En *L. pseudotheobromae* el conidio es más grande y elipsoidal que en *L. theobromae*. También, *L. parva* es fácilmente distinguible de las otras dos especies ya que sus conidios son más pequeños. Otra especie que se considera críptica es *L. mahajangana*, la cual es filogenéticamente cercana a *L. theobromae* pero morfológicamente distinta pues la primera tiene conidios relativamente más pequeños de 17.5-11.5 μm (Abdollahzadeh *et al.*, 2010).

Los marcadores SSR se han usado recientemente para examinar genes y genotipos, modos reproductivos y especiación de un número de hongos, incluyendo *Botryosphaeria* spp. y sus anamorfos (Burgess *et al.*, 2006; Mohali *et al.*, 2005). Una investigación sugiere que existen barreras geográficas para el intercambio de genes entre *L. theobromae*, basándose en los marcadores SSR, con aislados de Venezuela, México y Sud África (Mohali *et al.* 2005). Shah *et al.* (2010) analizaron 30 aislados de *L. theobromae* del cultivo de pera en India, encontrando una alta diversidad genética entre los aislados provenientes de distintas zonas geográficas y poca diversidad genética entre los aislados de la misma zona geográfica.

Otros estudios de diversidad genética proponen que dos especies crípticas de *Lasiodiplodia* (*L. theobromae* y *L. pseudotheobromae*), no han sido encontradas y estudiadas en el mismo huésped por lo que no se ha podido establecer si en algún momento ocurrió alguna hibridación entre ambas (Begoude *et al.*, 2010). Al-Sadi *et al.* (2013) encontraron un moderado nivel de diversidad

is another species that is considered cryptic, which is phylogenetically close to *L. theobromae* but morphologically distinct, given that the first has conidia relatively smaller—17.5-11.5 μm (Abdollahzadeh *et al.*, 2010).

The SSR markers have been recently used to examine genes and genotypes, reproductive means and speciation of several fungi, including *Botryosphaeria* spp. and its anamorphs (Burgess *et al.*, 2006; Mohali *et al.*, 2005). An investigation suggests that geographic barriers exist for the exchange of genes between *L. theobromae*, based on the SSR markers, with isolates from Venezuela, Mexico and South Africa (Mohali *et al.*, 2005). Shah *et al.* (2010) analyzed 30 isolates of *L. theobromae* of the pear culture in India, finding a high genetic diversity between the isolates stemming from various geographical zones and little genetic diversity between the isolates of the same geographical zone.

Other studies of genetic diversity propose that two cryptic species of *Lasiodiplodia* (*L. theobromae* and *L. pseudotheobromae*), have not been found and studied in the same host and therefore it has not been possible to establish if, at any moment, any hybridization between them has occurred (Begoude *et al.*, 2010). Al-Sadi *et al.* (2013) found a moderate level of genetic diversity in populations of three species of *Lasiodiplodia* from various hosts and geographical origins, and a high number of genotypes (not specified) of *L. theobromae*, *L. hormozganensis* and *L. iraniensis* in Oman, UAE (United Arab Emirates). They also found that *L. hormozganensis* differed mostly from *L. theobromae* with regard to genetic diversity, suggesting that *L. hormozganensis* was erroneously identified for a long time as *L. theobromae*, due to the only form of identification available being by the morphological characters of the species and that the first is a cryptic species of the second.

genética en poblaciones de tres especies de *Lasiodiplodia* provenientes de distintos huéspedes y orígenes geográficos, y un alto número de genotipos (no especificados) de *L. theobromae*, *L. hormozganensis* y *L. iraniensis* en Omán UAE (Emiratos Árabes Unidos), también encontraron que *L. hormozganensis* difería mayormente con *L. theobromae* en cuanto a diversidad genética, sugiriendo que *L. hormozganensis* por mucho tiempo fue erróneamente identificada como *L. theobromae*, debido a que solo se disponía de identificación por caracteres morfológicos de especies y a que la primera es especie críptica de la segunda.

Patogenicidad y virulencia. La especie *L. theobromae* es más virulenta en comparación con otros géneros y especies de la familia *Botryosphaericeae*. Por ejemplo, Úrbez-Torres *et al.* (2008) encontraron que *L. theobromae* es más virulenta que *Diplodia seriata* en el cultivo de vid ya que ocasiona lesiones de mayor tamaño en los tallos inoculados. En frutos de mango *L. theobromae* mostró una virulencia media-alta en comparación con *L. egyptiaca* y *L. pseudotheobromae* (Ismail *et al.*, 2012); en contraste, Marques *et al.* (2013) describió a *L. theobromae* con una virulencia media comparada con *L. hormozganensis* siendo ésta la más virulenta, ocasionando lesiones de 33.6 mm de diámetro en el fruto.

Umezurike (1979) menciona la actividad celulítica del hongo, el cual ataca a la planta de manera similar a un hongo de pudrición suave, usando el almidón y otros sacáridos presentes en el sustrato inicial de la madera antes de la degradación de celulosa y hemicelulosa, aunque no degrada la lignina.

Sintomatología y epidemiología. En la pudrición del fruto y del pedúnculo, la enfermedad está condicionada a alta temperatura y humedad relativa

Pathogenicity and virulence. The species *L. theobromae* is more virulent in comparison to other genera and species of the family *Botryosphaericeae*. For example, Úrbez-Torres *et al.* (2008) found that *L. theobromae* is more virulent than *Diplodia seriata* in the grapevines crop, given that it caused greater damage to the inoculated stems. In mango fruits, *L. theobromae* showed mid-high virulence in comparison to *L. egyptiaca* and *L. pseudotheobromae* (Ismail *et al.*, 2012); in contrast, Marques *et al.* (2013) described *L. theobromae* with medium virulence compared to *L. hormozganensis* with this being the most virulent, causing damages of 33.6 mm in diameter on the fruit.

Umezurike (1979) mentions the cellulite activity of the fungus, which attacks the plant in a similar manner to a soft rot fungus, using the starch and other saccharides present in the initial substrate of the wood before the degradation of the cellulose and hemicellulose, although it does not degrade the lignin.

Symptomatology and epidemiology. In the fruit rot and stem-end rot, the disease is conditioned to high temperatures and relative humidity (Ploetz 2003). The damages caused by *L. theobromae* in mango fruit are initially diffused, aqueous-sunken dispersing from the stalk in the shape of fingerprint projections, which darken and rapidly coalesce around the base of the stalk forming undulating edges. The necrosis occurs below the cuticle, invading the pulp of the fruit and mummifying it. Pycnidia are first observed on the stalk and later on the fruit; furthermore, the injuries may gush a brown ooze (Ploetz, 2003; Ventura *et al.*, 2004).

The main means of entry for *L. theobromae* into the hosts is through the wounds produced by work tools, insects or natural causes (Ploetz, 2003). It has been reported that during periods of rain there is a greater production of spores,

(Ploetz 2003). Las lesiones ocasionadas por *L. theobromae* en frutos de mango son inicialmente difusas, acuosas-hundidas dispersándose desde el pedúnculo en forma de proyecciones de huellas dactilares, las cuales oscurecen y coalescen rápidamente alrededor de la base del pedúnculo formando márgenes ondulados. La necrosis ocurre debajo de la cutícula, invadiendo la pulpa del fruto y llegando a momificarlo. Se llegan a observar picnidios primero sobre el pedúnculo y después sobre el fruto; además, de las lesiones puede fluir un exudado café (Ploetz, 2003; Ventura *et al.*, 2004).

La principal vía de entrada de *L. theobromae* a los hospederos es a través de heridas producidas por herramientas de trabajo, insectos o causas naturales (Ploetz, 2003). Se ha reportado que durante los periodos lluviosos hay mayor producción de esporas las cuales pueden ser diseminadas por las gotas de lluvia y el viento (Vázquez *et al.*, 2009). El hongo coloniza el sistema vascular y avanza por delante de los síntomas visibles (Burgess *et al.*, 2006; Shahbaz *et al.*, 2009). El hongo sobrevive sobre tejidos muertos en el árbol o suelo (Pegg *et al.*, 2003) y especialmente en frutos momificados (Ploetz, 2003). La incidencia de *L. theobromae* está influenciada por la temperatura (mayor a 30° C), al estrés hídrico y bajos niveles de nutrición de la planta (Khanzada *et al.*, 2005). Cuando los frutos son infectados en el árbol, el patógeno puede permanecer quiescente hasta que los frutos maduran. En postcosecha, los frutos pueden ser infectados al colocarlos sobre el suelo después de cosechados o a través del contacto físico de un fruto sano con uno enfermo (Ventura *et al.*, 2004).

REPORTES EN MÉXICO

Lasiodiplodia theobromae ha sido reportado en México causando distintas enfermedades en varios cultivos principalmente frutícolas (Cuadro 1). El

which may be disseminated by raindrops and wind (Vázquez *et al.*, 2009). The fungus colonizes the vascular system and advances ahead of the visible symptoms (Burgess *et al.*, 2006; Shahbaz *et al.*, 2009). The fungus survives on dead tissues on the tree or the ground (Pegg *et al.*, 2003) and especially on mummified fruits (Ploetz, 2003). The incidence of *L. theobromae* is influenced by the temperature (above 30 °C), to hydric stress and low nutrition levels of the plant (Khanzada *et al.*, 2005). When the fruits are infected on the tree, the pathogen may remain latent until the fruit has matured. In post-harvest, the fruits may be infected by being placed on the ground after being harvested or through physical contact of a healthy fruit with a diseased fruit (Ventura *et al.*, 2004).

REPORTS IN MEXICO

Lasiodiplodia theobromae has been reported in Mexico causing various diseases in various crops, mainly fruit producers (Table 1). The oldest report found for this pathogen is that made by Álvarez (1976) affecting the cultivation of cocoa (*Theobroma cacao*). Other crops that he also reported it are: avocado (*Persea americana*), papaya (*Carica papaya*) and rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell.) under the name *Diplodia theobromae*, in sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) such as *Diplodia cacaoicola*, custard apple (*Annona cherimola* Mill) and peach (*Prunus persica*) such as *Diplodia natalensis* causing fruit rot and gummosis, respectively.

The majority of the descriptions for this pathogen have been based on morphological characteristics and it was until this past decade that the identification was supplemented with molecular biology techniques. Between the reports based solely on morphology, there are those made on the cultivation mango (*Mangifera indica*) in

reporte más antiguo encontrado de este patógeno es el realizado por Álvarez (1976) afectando el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*). Otros cultivos que también reporta son: aguacate (*Persea americana*), papaya (*Carica papaya*) y árbol del caucho (*Hevea brasiliensis* Muell.) bajo el nombre de *Diplodia theobromae*, en caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) como *Diplodia cacaoicola*, en chirimoya (*Annona cherimola* Mill) y durazno (*Prunus persica*) como *Diplodia natalensis* causando la pudrición del fruto y gomosis, respectivamente.

La mayoría de las descripciones de este patógeno

the state of Veracruz, where the environmental conditions aggravate the situation given that the rain does not permit for the trees to recuperate their foliage (Mosqueda *et al.*, 1996). Also, Romero (1993) made a description of plant pathogenic on agricultural crops in Mexico and reported *B. theobromae* affecting the fruits of mango, custard apple, cotton, yucca, sweet potato and barbasco. Other reports with the name of *Botryodiplodia theobromae* are those of Becerra (1995) affecting the cultivation of mango in Michoacán, Nayarit and Veracruz, where the humidity favors the

Cuadro 1. Reportes en México de *L. theobromae* afectando distintos cultivos frutícolas y maderables.

Table 1. Reports in México of *L. theobromae* affecting various fruit and woody crops.

| Hospedero | Enfermedad | Núm. de acceso NCBI | Referencia |
|-------------------------------|------------------------------------|---------------------|---|
| <i>Anacardium occidentale</i> | Necrosis de frutos | NR | Canales, 2007 |
| <i>Anona spp.</i> | Muerte descendente de ramas | NR | Hernández <i>et al.</i> , 2013 |
| | Pudrición del fruto | NR | |
| <i>Carica papaya</i> | Pudrición de frutos | KC335157 | Mosqueda <i>et al.</i> , 1996 Rojo, 2013 |
| | | KC335158 | |
| | Pudrición del pedúnculo | KC806060 | |
| | | KC806061 | |
| <i>Carya illinoensis</i> | Pudrición del fruto | KC806062 | Alvidrez-Villareal <i>et al.</i> , 2012 |
| | | NR | |
| <i>Citrus aurantium L.</i> | Muerte de plantas | NR | Varela <i>et al.</i> , 2013 |
| <i>Citrus aurantifolia</i> | Muerte de ramas | NR | Varela <i>et al.</i> , 2013 |
| <i>Citrus sinensis</i> | Pudrición de la base del pedúnculo | NR | Varela <i>et al.</i> , 2013 |
| <i>Hibiscus sabdariffa L.</i> | Manchado de cáliz | NR | Martínez, 2010 |
| | | NR | |
| | Cáncer de troncos y ramas | NR | Canales, 1998 |
| | | NR | |
| <i>Mangifera indica</i> | Muerte descendente | NR | Becerra, 1995 |
| | | JQ619648 | |
| | Pudrición del pedúnculo | JQ619649 | Mosqueda <i>et al.</i> , 1996 Tucuch <i>et al.</i> , 2005 Sandoval-Sánchez <i>et al.</i> , 2013 |
| | | JQ619650 | |
| <i>Nephelium lappaceum L.</i> | Pudrición de frutos | JQ619651 | Hernández, 2010 |
| | | FJ478102.1 | |
| <i>Persea americana</i> | Pudrición del pedúnculo | NR | Ochoa-Ascencio <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>Pinus pseudostrobus</i> | Cáncer de tallo | NR | Mohali <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Pinus sp.</i> | Cáncer de tallo | AY236952 | Slippers <i>et al.</i> , 2004 |
| <i>Pouteria sapota</i> | Muerte descendente | JQ245975 | Bautista-Baños <i>et al.</i> , 2002 |
| | Pudrición de frutos | | Gómez-Jaimes <i>et al.</i> , 2009 |
| | | | Vázquez-López <i>et al.</i> , 2009 |
| <i>Theobroma cacao</i> | Pudrición de la mazorca | NR | Álvarez, 1976 |
| <i>Vitis vinifera</i> | Muerte descendente | EU012363 | Úrbez-Torres <i>et al.</i> , 2008 |

NR= No reportado / NR= Not reported.

no han sido en base a características morfológicas y es a partir de la década pasada que se ha complementado la identificación con técnicas de biología molecular. Entre los reportes basados solamente en morfología se encuentran los realizados en el cultivo de mango (*Mangifera indica*) en el estado de Veracruz, donde las condiciones ambientales agravan la situación pues las lluvias no permiten que el árbol recupere su follaje (Mosqueda *et al.*, 1996). También, Romero (1993) realizó una descripción de hongos fitopatógenos en cultivos agrícolas de México y reportó a *B. theobromae* afectando los frutos de los cultivos de mango, chirimoya, algodón, yuca, camote y barbasco. Otros reportes con el nombre de *Botryodiplodia theobromae* son los de Becerra (1995) afectando el cultivo de mango en Michoacán, Nayarit y Veracruz, donde la humedad favorece la aparición del fitopatógeno. Tucuch *et al.* (2005) reportan a *B. theobromae* como el agente causal de la muerte descendente en mango en Campeche, en donde la enfermedad se presenta en mayor intensidad cuando la humedad relativa es mayor al 80% y temperatura entre 26 a 32 °C, manifestándose un secamiento en forma progresiva y descendente con puntos negros en la corteza, en las hojas inicia con lesiones de color gris pardo ocasionando una fuerte defoliación causando la muerte del árbol. Además de los reportes anteriores, también existen otros donde solo se designó como agente causal a *Lasiodiplodia* sp. en marañón (*Anacardium occidentale*) causando necrosis en frutos en Campeche, Quintana Roo y Yucatán (Canales, 2007). También Canales (1998) describe el cáncer de tronco y ramas en mango bajo el nombre de *Botryodiplodia* sp., además de inducir la floración al ocasionar un estrés hídrico en las ramas y provocar un efecto de anillado.

En otros cultivos, basados únicamente en características morfológicas, se incluyen los realizados por Bautista-Baños *et al.* (2002) en donde reportan a

appearance of the phytopathogen. Tucuch *et al.* (2005) reported *B. theobromae* as the causal agent for dieback in mango in Campeche, where the disease presents itself with greater intensity when the relative humidity is above 80 % and a temperature between 26 to 32 °C, presenting a progressive and downward drying with black dots on the bark; grayish brown injuries start on the leaves causing intense defoliation leading to the death of the tree. In addition to the previous reports, there also exist others where *Lasiodiplodia* sp. was only assigned as a causal agent in cashew (*Anacardium occidentale*) causing necrosis in fruits in Campeche, Quintana Roo and Yucatán (Canales, 2007). Canales (1998) also describes the cancer of the trunk and branches in mango under the name *Botryodiplodia* sp., as well as inducing flowering by causing hydrological stress on the branches and causing a girdling effect.

On other crops, based solely on morphological characteristics, are included those made by Bautista-Baños *et al.* (2002) where *B. theobromae* is reported as the causal agent for the rot in mature mammee; Martínez (2010) reports *L. theobromae* affecting roselle (*Hibiscus sabdariffa*); Hernández (2010) reports it as the causal agent for the black spot in rambutan (*Nephelium lappaceum*) in postharvest; Hernández *et al.* (2013) report it associated to dieback in soursop (*Annona* spp) branches, although proof of pathogenicity proving that it is the although it is not yet needed pathogenicity tests to prove it is the causal agent of the disease. Varela *et al.* (2013) describe it as the causal agent in the death of bitter orange plants grafted with various citrus species in nurseries, of the death of branches in Mexican lemon trees and of the stem-end rot in orange fruit.

Between the reports that, in addition to the morphological characteristics, consider some molecular characterization are those of Úrbez-

B. theobromae como el agente causal de la pudrición de frutos maduros de mamey; Martínez (2010) reporta a *L. theobromae* afectando flores de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*); Hernández (2010) lo reporta como agente causal de la mancha negra de rambután (*Nephelium lappaceum*) en poscosecha; Hernández *et al.* (2013) lo reportan asociado a la muerte descendente de ramas en guanábana (*Annona* spp), aunque aún son necesarias pruebas de patogenicidad que comprueben que es el agente causal de la enfermedad y Varela *et al.* (2013) lo describen como el agente causal de la muerte de plantas de naranjo agrio injertadas con diferentes especies de cítricos en viveros, de la muerte de ramas en árboles de limón mexicano y de la pudrición del pedúnculo en frutos de naranja.

Entre los reportes que consideran además de las características morfológicas, alguna caracterización molecular se encuentran los de Úrbez-Torres *et al.* (2008), quienes identificaron a *L. theobromae* ocasionando cáncer de la vid en el norte de México y el sur de Estados Unidos de Norteamérica, para su identificación y caracterización se basaron en las regiones ITS1-5.8S e ITS 2, una región parcial del gen de beta tubulina (β - tubulina), y parte del gen del factor de elongación 1 alfa (EF1- α); Vázquez *et al.* (2009) reportaron a *L. theobromae* afectando varetas de zapote e identificaron al patógeno mediante características morfológicas y la secuenciación de las regiones ITS. En el árbol de la nuez (*Carya illinoensis*), se encontró a *L. theobromae* en asociación a un coleóptero como el agente causal de la pudrición del fruto; el hongo fue identificado en base a las características morfológicas y a la secuenciación de las regiones ITS (Alvidrez-Villarreal *et al.*, 2012). En el cultivo de mango (*Mangifera indica*) se reportó además de *L. theobromae* a *L. pseudotheobromae* (especie críptica de la primera) ocasionando pudrición del pedúnculo y muerte descendente, respectivamente. La identificación de las especies se basó en características morfológicas

Torres *et al.* (2008), who identified *L. theobromae* as causing cancer of the vine in the north of Mexico and the southern United States; for its identification and characterization they based on the ITS1-5.8s and ITS 2 regions, a partial region of the beta-tubulin gene (β -tubulin), and part of the elongation factor 1-alpha gene (EF1- α). Vázquez *et al.* (2009) reported *L. theobromae* affecting sapote twigs and identified the pathogen through morphological characteristics and the sequencing of the ITS regions. In the pecan tree (*Carya illinoensis*), *L. theobromae* was found in association with a coleopteran as the causal agent for the fruit rot; the fungus was identified based on the morphological characteristics and the sequencing of the ITS regions (Alvidrez-Villarreal *et al.*, 2012). In the mango crop (*Mangifera indica*) in addition to *L. theobromae*, *L. pseudotheobromae* (cryptic species of the former) was also reported, causing stem rot and dieback, respectively. The identification of the species was based on morphological characteristics and in the amplification and sequencing of the ITS regions (Sandoval-Sánchez *et al.*, 2013). In papaya (*Carica papaya*), Rojo (2013) identified, through morphological characteristics and the sequencing of ITS regions, *L. theobromae* as responsible for the postharvest stem rot.

Control. There have been various studies carried out in order to control *L. theobromae* once it has been detected in a crop. Li *et al.* (1995) evaluated fungicides against *L. theobromae* and *Botryosphaeria dothidea* which cause gummosis in peaches and apricot, finding that the fungicide metil-tiofanato inhibited the growth of mycelia, the germination of conidia and controlled the development of the disease in apricot trees; they also reported that the fungicides sprayed, metil-tiofanato 70WP and carbendazim 50WP can be used as an auxiliary treatment in order to prevent the infection of the pathogen.

y en la amplificación y secuenciación de las regiones ITS (Sandoval-Sánchez *et al.*, 2013). En papaya (*Carica papaya*), Rojo (2013) identificó, mediante características morfológicas y la secuencia de regiones ITS, a *L. theobromae* como responsable de pudrición del pedúnculo en poscosecha.

Control. Numerosos son los estudios realizados para controlar a *L. theobromae* una vez detectado en el cultivo. Li *et al.* (1995) evaluaron fungicidas contra *L. theobromae* y *Botryosphaeria dothidea* causantes de gomosis en duraznos y albaricoque, encontrando que el fungicidas metil-tiofanato inhibió el crecimiento micelial, la germinación de conidios y controló el desarrollo de la enfermedad en árboles de albaricoque; también reportaron que los fungicidas asperjados, metil-tiofanato 70WP y carbendazima 50WP se pueden usar como tratamiento auxiliar para prevenir la infección del patógeno.

Por otro lado, Tamayo (2007) recomienda la utilización de hipoclorito de calcio y carboxin/captan, a fin de prevenir posibles pudriciones o la manifestación del hongo en el semillero, y antes del almacenamiento se deben sumergir los frutos en una solución fungicida a base de procloraz. También recomienda aspersiones precosecha con fungicidas a base cobre, benomil, metil tiofanato, carbendazim o tiabendazol en forma rotativa a fin de evitar la aparición de poblaciones del patógeno resistentes a los fungicidas.

En un estudio de evaluación de la sensibilidad de *L. theobromae* hacia dos grupos de fungicidas se concluyó que un 91.6 % de 120 aislados provenientes de huertos de papaya fueron sensibles a los ingredientes activos del grupo de carbamatos del tipo metil benzimidazol (benomyl y tiabendazol). En cuanto al grupo de fungicidas del tipo inhibición por demetilación (Imazalil, procloraz, tebuconazol) se encontró gran variabilidad en cuanto al grado de sensibilidad de los aislados analizados

On the other hand, Tamayo (2007) recommends the usage of calcium hypochlorite and carboxin/captan in order to prevent possible rot or the manifestation of the fungus in the nursery, and before storage the fruit must be submerged in a prochloraz-based solution. Tamayo (2007) also recommends a pre-harvest spray of copper-based fungicides, benomyl, metil-tiofanato, carbendazim or tiabendazole on a rotational basis in order to avoid the appearance of pathogen populations resistant to the fungicides.

In a sensibility evaluation study of *L. theobromae* towards two groups of fungicide, it was concluded that 91.6 % of 120 isolates stemming from papaya orchards were sensible to the active ingredients of the carbonates of the methyl benzimidazole type (benomyl and tiabendazole). Regarding the group of fungicides of the inhibition type by demethylation (Imazalil, prochloraz, tebuconazole) great variability was found with regard to the grade of sensibility of the isolates analyzed, concluding that *L. theobromae* is less sensible to this group of fungicides (da Silva *et al.*, 2012).

In post-harvest, Barbosa-Martínez *et al.* (2002) evaluated the effect of ozone, iodine and chlorine in the germination of spores of *L. theobromae* isolating the mango fruit and found that in the application of iodine (500 mg.L⁻¹) the germination of spores of *L. theobromae* was of 10 %; meanwhile, in the application of ozone (2.2 mg.L⁻¹) and chlorine (360 mg.L⁻¹) the germination of spores was of 30 and 40 %, respectively.

Tovar *et al.* (2013) reported that the combination of washing and the subsequent application of tiabendazole reduced the incidence of the diseases caused by *L. theobromae* up to 81 % in sapote graft. The fungicides cyprodinil+fludioxinil, pyraclostrobin+boscalid, prochloraz, tebuconazole, and iprodione were efficient in inhibiting the mycelian growth of *L. theobromae in vitro*.

concluyendo que *L. theobromae* es menos sensible a este grupo de fungicidas (da Silva *et al.*, 2012).

En poscosecha, Barbosa-Martínez *et al.* (2002) evaluaron el efecto del ozono, yodo y cloro en la germinación de esporas de *L. theobromae* aislado de frutos de mango y encontraron que en la aplicación de yodo (500 mg. L⁻¹) la germinación de esporas de *L. theobromae* fue de 10%; mientras que con ozono (2.2 mg. L⁻¹) y cloro (360 mg. L⁻¹) la germinación de esporas fue de 30 y 40%, respectivamente.

Tovar *et al.* (2013) reportaron que la combinación de lavado y posterior aplicación de tiabendazol redujo la incidencia de la enfermedad ocasionada por *L. theobromae* hasta un 81 % en injertos de zapote. Los fungicidas ciprodinil+fludioxinil, piraclostrobin+boscalid, procloraz, tebuconazol, iprodione fueron eficaces para inhibir el crecimiento micelial de *L. theobromae* *in vitro*.

En cítricos, Varela *et al.* (2013) reportan la aplicación de benomyl y compuestos a base de oxiclورو de cobre contra *L. theobromae* en las distintas etapas del cultivo. Canales (1998) sugiere, para el control del cáncer de tronco y ramas de mango, realizar una cirugía en los cánceres hasta eliminar el tejido dañado y aplicar Benlate®, Tecto 60® o Derosal 50® en las heridas. También en mango, en la muerte descendente se recomienda podar las heridas y realizar aspersiones de fungicidas a base de cobre cada 15-20 días, también se puede aplicar los productos Captán, Maneb, Zineb y Benomyl, desde el inicio de la floración hasta un mes antes de la cosecha (Tucuch *et al.*, 2005). En marañón se recomiendan podas sanitarias y tratamiento preventivo con fungicidas a base de oxiclورو de cobre o azufre como ingrediente activo antes de iniciar la floración; durante la floración y formación del fruto se puede utilizar un fungicida sistémico a base de Fosetyl-al, Metalaxil-m o Triforine para reducir la incidencia de la necrosis en frutos (Canales, 2007).

In citrus, Varela *et al.* (2013) reported the application of benomyl and copper oxychloride-based compounds against *L. theobromae* in the various cultivation stages. Canales (1998) suggests in order to control the cancer of the trunk and branches of mango, to carry out a surgery in the cancer until eliminating the damaged tissue and then apply Benlate®, Tecto 60® or Derosal 50® in the wounds. Also with regard to dieback in mango, it is recommended to prune the wounds and spray with copper-based fungicides every 15-20 days. The products Captan, Maneb, Zineb and Benomyl may also be applied from the beginning of the flowering period up to a month before the harvest (Tucuch *et al.*, 2005). Sanitary pruning and preventive treatment with copper oxychloride or sulfur as an active ingredient is recommended on cashew before beginning the flowering period; during the flowering period and the formation of the fruit, a systemic fungicide with a Fosetyl-al, Metalaxil-m or Triforine base may be used to reduce the incidence of necrosis on the fruit (Canales, 2007).

CONCLUSIONS

Lasiodiplodia theobromae is a pathogen with limited pathogenicity studies and a range of hosts in Mexico. The majority of the reports of *L. theobromae* have been based on morphological characteristics. The complex of cryptic species associated with *L. theobromae* require studies that associate morphological and molecular or genetic characteristics. The priorities of the investigation programs must focus on quantifying the impact that this fungus has on various crops, as well as determining the means of infection and the evaluation of susceptibility to chemical products in order to establish guidelines for an effective control strategy.

CONCLUSIONES

Lasiodiplodia theobromae es un patógeno con escasos estudios de patogenicidad y rango de hospederos en México. La mayoría de los reportes de *L. theobromae* se han basado en características morfológicas. El complejo de especies crípticas asociadas a *L. theobromae* requiere de estudios que asocien características morfológicas y moleculares o genéticas. Las prioridades de los programas de investigación deberían enfocarse en cuantificar el impacto que ocasiona este hongo en diversos cultivos, así como determinar el modo de infección y la evaluación de susceptibilidad a productos químicos para establecer lineamientos de una estrategia efectiva de control.

Agradecimientos

Al proyecto 211-163213 “El manejo integral del cultivo de papaya en México, un acercamiento innovador” financiado por SAGARPA-CONACYT y al CONACYT por el financiamiento a los estudios de P. A. Picos-Muñoz.

LITERATURA CITADA

- Abdollahzadeh J, Javadi A, Mohammadi-Goltapeh E, Zare R and Phillips AJL. 2010. Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. *Persoonia* 25:1-10.
- Al-Sadi AM, Al-Wehaibi AN, Al-Shariqi RM, Al-Hammadi MS, Al-Hosni I, Al-Mahmooli IH and Al-Ghaithi AG. 2013. Population genetic analysis reveals diversity in *Lasiodiplodia* species infecting date palm, citrus, and mango in Oman and the UAE. *Plant Disease* 97(10):1363-1369.
- Alvarez, MG. 1976. Primer catálogo de enfermedades de plantas Mexicanas. *Fitofilo* 71: 169 p.
- Alves A, Crous PW, Correia A and Phillips AJL. 2008. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. *Fungal Diversity* 28:1-13.
- Alvidrez-Villarreal R, Hernández-Castillo FD, García-Martínez O, Mendoza-Villarreal R, Rodríguez-Herrera R y Aguilar CN. 2012. Isolation and pathogenicity of fungi associated to ambrosia borer (*Euplatypus segnis*) found injuring pecan (*Carya illinoensis*) wood. *Agricultural Sciences* 3:405-416.
- Barbosa-Martínez C, León-García LP, Sepúlveda-Sánchez J and Nieto-Angel D. 2002. Effects of ozone, iodine and chlorine on spore germination of fungi isolated from mango fruits. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20(1): 60-65.
- Bautista-Baños S, Díaz-Pérez JC and Barrera-Necha L. 2002. Postharvest fungal rots of sapote mamey *Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. More & Stearn. *Postharvest Biology and Technology* 24:197-200.
- Becerra L. 1995. Enfermedades del cultivo de mango. Pp:83-101. In: Mata B, Mosqueda V (eds.) *La producción de mango en México*. Editorial Limusa. México. 159 p.
- Begoude BAD, Slippers B, Wingfield MJ and Roux J. 2010. Characterization of *Botryosphaeriaceae* and *Cryphonectriaceae* associated with *Terminalia* spp. in Africa, PhD thesis, University of Pretoria. 268 p
- Burgess TI, Barber PA, Mohali S, Pegg G, de Beer W and Wingfield MJ. 2006. Three new *Lasiodiplodia* spp. from the tropics, recognized based on DNA sequence comparisons and morphology. *Mycologia* 98:423-435.
- Canales CR. 1998. *Tecnología para la producción temprana de mango*. 1 ed. Comité Editorial del Campo Experimental Edzná. 12 p.
- Canales CR. 2007. Control de la necrosis en frutos de marañón *Anacardium occidentale* en la península de Yucatán. Reporte anual de investigación e innovación tecnológica INIFAP. http://utep.inifap.gob.mx/tecnologias_agricolas.php (consulta, mayo 2014).
- Cardoso J, Vidal J, dos Santos A, Freire F and Viana F. 2002. First report of branch dieback of cashew caused by *Lasiodiplodia theobromae* in Brazil. *Plant Disease* 86(5):558.
- Crous PW and Palm ME. 1999. Reassessment of the anamorph genera *Botryodiplodia*, *Dothiorella* and *Fusicoccum*. *Sydowia* 52:167-175.
- Crous PW, Slippers B, Wingfield MJ, Rheeder J, Marasas WFO, Phillips AJL, Alves A, Burgess TI, Barber PA and Groenewald JZ. 2006. Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. *Studies in Mycology* 55:235-253.
- Damm U, Crous PW and Fourie PH. 2007. Botryosphaeriaceae as potential pathogens of *Prunus* in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. *Mycologia* 99:664-680.
- Da Silva A, Brainer R, Michereff S, da Silva M and Saraiva M. 2012. Sensitivity of *Lasiodiplodia theobromae* from Brazilian papaya orchards to MBC and DMI fungicides. *European Journal of Plant Pathology* 132:489-498.
- De los Santos de la RF, Becerra LEN, Mosqueda VR, Vásquez A y Vargas A. 2000. Manual de producción de papaya en el estado de Veracruz. Folleto Técnico No. 17. INIFAP-CIR-

~~~~~ Finaliza la versión en Inglés ~~~~~

- GOC. Campo Experimental Cotaxtla. Veracruz, México. 67 p.
- Denman S, Crous PW, Taylor J, Kang C, Pascoe I and Wingfield MJ. 2000. An overview of the taxonomic history of *Botryosphaeria* and a re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS rDNA phylogeny. *Studies in Mycology* 45:125-140.
- Gómez-Jaimes R, Nieto-Ángel D, Téliz-Ortiz D, Mora-Aguilera JA, Martínez-Damián MT and Vargas-Hernández M. 2009. Evaluación de la calidad e incidencia de hongos en frutos refrigerados de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn. *Agrociencia* 43:37-48.
- Hawksworth D, Crous PW, Redhead S, Reynolds D, Samson R, Seifert K, Taylor J, Wingfield MJ, Abaci O, Aime C, Asan A, *et al.* 2011. The Amsterdam declaration on fungal nomenclature. *IMA Fungus* 2:105-112.
- Hernández AM. 2010. Caracterización cualitativa de frutos de rambután (*Nephelium lappaceum* L.) almacenamiento postcosecha y patógenos asociados. Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 50 p.
- Hernández FLM, Gómez JR y Andrés AJ. 2013. Importancia, plagas insectiles y enfermedades fungosas del cultivo del guanábano. Campo Experimental Santiago Ixcuintla, INIFAP. Libro Técnico No. 1. Santiago Ixcuintla, Nayarit, México. 87 p.
- Ismail AM, Cirvilleri G, Polizzi G, Crous PW, Groenewald JZ and Lombard L. 2012. *Lasiodiplodia* species associated with dieback disease of mango (*Mangifera indica*) in Egypt. *Australasian Plant Pathology* 41:649-660.
- Johnson GI, Mead AJ, Cooke AW and Dean JR. 1992. Mango stem end rot pathogens. Fruit infection by endophytic colonisation of the inflorescence and pedicel. *Annals of Applied Biology* 120:225-234.
- Khanzada MA, Lodhi AM and Shahzad S. 2005. Chemical control of *Lasiodiplodia theobromae*, the causal agent of mango decline in Sindh. *Pakistan Journal of Botany* 37:1023-1030.
- Kirk P, Stalpers J, Braun U, Crous PW, Hansen K, Hawksworth D, Hyde K, Lucking R, Lumbsch T, Rosman A, Seifert K and Stadler M. 2013. A without-prejudice list of generic names of fungi for protection under the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants. *IMA Fungus* 4(2):381-443.
- Li HY, Cao RB and Mu YT. 1995. *In vitro* inhibition of *Botryosphaeria dothidea* and *Lasiodiplodia theobromae*, and chemical control of gummosis disease of Japanese apricot and peach trees in Zhejiang Province, China. *Crop Protection* 14:187-191.
- Liu A, Chen W and Li X. 2005. Changes in the postharvest physiology and lychee fruits latently infected by anthracnose fungus and the biological characteristic of the pathogenic fungus of the disease. *Acta Horticulturae* 665:365-371.
- Liu J, Phookamsak R, Doilom M, Wikee S, Li Y, Ariyawansa H, Boonme S, Chomnunti P, Dai D, Bhat J, Romero AI, Zhuang W, Monkai J, Jones EBG, Chukeatirote E, Ko KTW, Zhao Y, Wang Y and Hyde KH. 2012. Towards a natural classification of Botryosphaeriales. *Fungal Diversity* 57:149-210.
- Lutchmeah RS. 1988. *Lasiodiplodia theobromae* causing fruit rot of *Annona muricata* in Mauritius. *Plant Pathology* 37:152.
- Marques MW, Lima NB, Morais Junior MA, Barbosa MAG, Souza BO, Michereff SJ, Phillips JL and Câmara MPS. 2013. Species of *Lasiodiplodia* associated with mango in Brazil. *Fungal Diversity* 61:181-193.
- Martínez SC. 2010. Etiología e incidencia de hongos asociados al manchado de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Guerrero, México. Tesis de maestría. Colegio de postgraduados. Montecillo, Estado de México. 88 p.
- Maslen MM, Collis T and Stuart R. 1996. *Lasiodiplodia theobromae* isolated from subcutaneous abscess in a Cambodian immigrant to Australia. *Journal of Medical & Veterinary Mycology* 34:279-283.
- Mohali S, Burgess TI and Wingfield MJ. 2005. Diversity and host association of the tropical tree endophyte *Lasiodiplodia theobromae* revealed using simple sequence repeat markers. *Forest Pathology* 35:385-396.
- Mosqueda VR, De los Santos RF, Becerra LEN, Cabrera M, Ortega ZDA y del Angel PAL. 1996. Manual para cultivar mango en la planicie costera del Golfo de México. Campo Experimental Cotaxtla. INIFAP-CIRGOC. Folleto Técnico No. 15. Veracruz, México. 130 p.
- Netto MSB, Assuncao IP, Lima GSA, Marques MW, Lima WG, Monteiro JHA, de Queiroz BV, Michereff SJ, Phillips AJL and Camara MPS. 2014. Species of *Lasiodiplodia* associated with papaya stem-end rot in Brazil. <http://dx.doi.org/10.1007/s13225-014-0279-4> (Consulta, febrero 2014).
- Ochoa-Ascencio S, Vázquez M y Fariás R. 2007. Identificación genético molecular de hongos asociados a la pudrición peduncular del fruto de aguacate en Michoacán, México. *Memorias X Congreso Internacional/ XXXV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*. Abs.
- Pavlic D, Slippers B, Coutinho TA, Gryzenhout M and Wingfield MJ. 2004. *Lasiodiplodia gomubiensis* sp. nov., a new *Botryosphaeria* anamorph from native *Syzygium cordatum* in South Africa. *Studies in Mycology* 50:313-322.
- Pavlic D, Slippers B, Coutinho TA and Wingfield MJ. 2009. Molecular and phenotypic characterization of three phylogenetic species discovered within the *Neofusicoccum parvum/N. ribis* complex. *Mycologia* 101:636-647.
- Pegg KG, Coates LM, Korsten L and Harding RM. 2003. Foliar, fruits and soilborne diseases. p. 299-337. *In* A. W. Whiley AW, Schaffer B and Wolstenholme BN (eds.). *The Avocado: Botany, Production, and Uses*. CABI Publishing, UK. 560 p
- Perera E, Lago E. 1986. Effect of the light period on mycelial growth and pycnidia formation of *Diplodia natalensis* (Abstr.). *Ciencias de la Agricultura* 26:14-18
- Phillips AJL, Alves A, Pennycook SR, Johnston PR, Ramaley A, Akulov A and Crous PW. 2008. Resolving the phylogenetic and taxonomic status of dark-spored teleomorph genera in the Botryosphaeriaceae. *Persoonia* 21:29-55.
- Phillips AJL, Alves A, Abdollahzadeh J, Slippers B, Wingfield MJ, Groenewald JZ and Crous PW. 2013. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. *Studies in Mycology* 76: 51-167.
- Pitt J and Hocking A. 2009. *Fungi and Food Spoilage*. 3 ed. Springer. pp 125-127.
- Ploetz RC. 2003. *Diseases of Tropical Fruit Crops*. CABI Pu-

- blishing. Wallingford, UK. pp 76-77.
- Queiroz F, Muniz M and Menezes M. 1997. Podridão da haste do mamoeiro 'Sunrise Solo' causada por *Botryodiplodia theobromae* no Estado de Alagoas. *Summa Phytopathologica* 23(1):44-45.
- Rebell G and Forster RK. 1976. *Lasiodiplodia theobromae* as a cause keratomycoses. *Sabouraudia* 14:155-170.
- Rico AL. 2011. Próximos cambios en la nomenclatura de algas, hongos y plantas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 46(3-4):381-385.
- Rojas BI. 2013. *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum capsici* asociadas a pudrición del pedúnculo y antracnosis en papaya (*Carica papaya* L.). Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Culiacán, Culiacán, Sinaloa. 69 p.
- Romero CS. 1993. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo 333 p.
- Rubini MR, Silva-Ribeiro RT, Pomella AW, Maki CS, Araujo WL, dos Santos DR and Azevedo JL. 2005. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis perniciosus*, causal agent of witches' broom disease. *International Journal of Biological Sciences* 1:24-33.
- Saha A, Mandal P, Dasgupta S and Saha D. 2008. Influence of culture media and environmental factors of mycelial growth and sporulation of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon and Maubl. *Journal of Environmental Biology* 29:407-410.
- Sakalidis ML, Ray JD, Lanoiselet V, Hardy GES and Burgess TI. 2011. Pathogenic Botryosphaeriaceae associated with *Mangifera indica* in the Kimberley region of Western Australia. *European Journal of Plant Pathology* 130:379-391.
- Sandoval-Sánchez M, Nieto-Ángel D, Sandoval-Islas JS, Téliz-Ortiz D, Orozco-Santos M, y Silva-Rojas HV. 2013. Hongos asociados a pudrición del pedúnculo y muerte descendente del mango (*Mangifera indica* L.). *Agrociencia* 47:61-73.
- Schoch CL, Shoemaker RA, Seifert KA, Hambleton S, Spatafora JW and Crous PW. 2006. A multigene phylogeny of the Dothideomycetes using four nuclear loci. *Mycologia* 98:1041-1052.
- Serrato-Díaz LM, Rivera-Vargas LI, Goenaga R and French-Monar RD. 2014. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing inflorescence blight and fruit rot of longan (*Dimocarpus longan* L.) in Puerto Rico. *Plant Disease* 98:279.
- Shah MD, Verma KS, Singh K and Kaur R. 2010. Morphological, pathological and molecular variability in *Botryodiplodia theobromae* (Botryosphaeriaceae) isolates associated with die-back and bark canker of pear trees in Punjab, India. *Genetics and Molecular Research* 9 (2):1217-1228.
- Shahbaz M, Iqbal Z, Sallem A and Anjum MA. 2009. Association of *Lasiodiplodia theobromae* with different decline disorders in mango (*Mangifera indica* L.). *Pakistan Journal of Botany* 41:359-368.
- Sivakumar D, Wijeratnam RSW, Wijesundera RLC and Abeysekera M. 1997. Post-harvest diseases of rambutan (*Nephelium lappaceum*) in the western province. *Journal of the National Science Council of Sri Lanka* 25:225-229.
- Slippers B, Crous PW, Denman S, Coutinho TA, Wingfield BD and Wingfield MJ. 2004. Combined multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate several species previously identified as *Botryosphaeria dothidea*. *Mycologia* 96:83-101.
- Slippers B, Burgess T, Pavlic D, Ahumada R, Maleme H, Mohali S, Rodas C and Wingfield M. 2009. A diverse assemblage of Botryosphaeriaceae infect *Eucalyptus* in native and non-native environments. *Southern Forests* 71:101-110.
- Slippers B, Boissin E, Phillips AJL, Groenewald JZ, Lombard L, Wingfield MJ, Postma A, Burgess T and Crous PW. 2013. Phylogenetic lineages in the *Botryosphaeriales*: a systematic and evolutionary framework. *Studies in Mycology* 76:31-49.
- Summerbell RC, Kraiden S, Levine R and Fuksa M. 2004. Subcutaneous phaeohyphomycosis caused by *Lasiodiplodia theobromae* and successfully treated surgically. *Medical Mycology* 42:543-547.
- Tamayo PJ. 2007. Enfermedades del aguacate. *Politécnica* 4:51-70.
- Tovar PJM, Mora AJA, Nava DC, Téliz OD, Villegas MÁ y Leyva MSG. 2013. Control of *Lasiodiplodia theobromae*, the causal agent of dieback of sapote mamey [*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn] grafts in Mexico. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36: 233-238.
- Tucuch CFM, Palacios PA, Ku NR y Guzmán EC. 2005. Manejo del cultivo de mango en el estado de Campeche. *Campo Experimental Edzna, INIFAP. Folleto Técnico. Campeche, Camp., México.* 33-34p.
- Umezurike G. 1979. The cellulolytic enzymes of *Botryodiplodia theobromae* Pat. *Biochemistry Journal* 177:9-19.
- Úrbez-Torres JR, Leavitt GM, Guerrero JC, Guevara J and Gubler WD. 2008. Identification and pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Diplodia seriata*, the causal agents of bot canker disease of grapevines in Mexico. *Plant Disease* 92:519-529.
- van Niekerk JM, Crous PW, Groenewald JZ, Fourie PH and Halleen F. 2004. DNA phylogeny, morphology and pathogenicity of *Botryosphaeria* species on grapevines. *Mycologia* 96:781-798.
- Varela FSE, Orozco SM, Torres ARI y Silva AGL. 2013. Guía técnica para la identificación y manejo de plagas y enfermedades en cítricos. Universidad Autónoma de Tamaulipas 428 p.
- Vásquez-López A, Mora-Aguilera JA, Cárdenas-Soriano E y Téliz-Ortiz D. 2009. Etiología e histopatología de la muerte descendente de árboles de mamey [*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore y Stearn] en el estado de Guerrero, México. *Agrociencia* 43:717-728.
- Ventura JA, Costa H and Tatagiba J. 2004. Papaya diseases and integrated control. p. 201-268. *In: Naqvi SAMH (ed.). Diseases of Fruits and Vegetables: Diagnosis and Management. Volume II. Kluwer Academic Publishers Dordrecht, United States of America.* 704 p
- Wang F, Zhao L, Li G, Huang J and Hsiang T. 2011. Identification and characterization of *Botryosphaeria* spp. causing gummosis of peach trees in Hubei Province, Central China. *Plant Disease* 95:1378-1384.
- Wijayawardene N, Crous PW, Kirk P, Hawksworth D, Dai D, Boehm E, Boonmee S, Braun U, Chommunti P, D'Souza

- M, *et al.* 2014. Naming and outline of Dothideomycetes-2014. [www.fungaltaxonomy.org/files/6813/9241/1345/Naming\\_and\\_Outline\\_of\\_Dothideomycetes\\_2014.pdf](http://www.fungaltaxonomy.org/files/6813/9241/1345/Naming_and_Outline_of_Dothideomycetes_2014.pdf) (consulta, mayo 2014)
- Woo PC, Lau SK, Ngan AH, Tse H, Tung ET and Yuen KY. 2008. *Lasiodiplodia theobromae* pneumonia in a liver transplant recipient. *Journal of Clinical Microbiology* 46 (1):380-384.
- Zhou S and Stanosz GR. 2001. Relationships among *Botryosphaeria* species and associated anamorphic fungi inferred from the analysis of ITS and 5.8S rDNA sequences. *Mycologia* 93:516-527.