Identificación de microorganismos asociados a “dieback” (Muerte regresiva del ápice) en cultivos de nuez pecán (*Carya illinoinensis*)

en la provincia de Tucumán

Tesis de grado para optar por el título de Ingeniero Agrónomo.

Carrera de Agronomía. Plan 2017.

Nombre y Apellido del Alumno: Emiliano Gorgerino.

Nombre y Apellido del Director: Eduardo Roberto Wright

Nombre y Apellido de los Consultores: Ing. Agr. Patricio Wigdorovitz.

Ing. Agr. Enrique Orell

Facultad de Agronomía.

Universidad de Buenos Aires.

Fecha de entrega:

13/03/25

ÍNDICE

Resumen…… pág. 2
Introducción……....pág. 3
Objetivos ……..…….....pág. 11
Hipótesis …….…….....pág. 11
Materiales y métodos…….pág. 11
Resultados..……..……pág. 16
Discusión……..pág. 45
Conclusiones……pág. 49
Bibliografía……pág. 50

Resumen:

Debido al aumento en la demanda de nuez pecán (*Carya illinoinensis*) a nivel mundial en las últimas décadas ha aumentado significativamente la superficie implantada en Argentina con fines productivos. Existe una gran cantidad de microorganismos, principalmente hongos, que generan diferentes tipos de enfermedades. Monitoreos realizados en la localidad de Trancas (provincia de Tucumán), permitieron observar síntomas de muerte apical y regresiva de brotes y ramas conocidos como "dieback", un problema que hasta el año 2010 no se había estudiado en profundidad a nivel mundial. En casos severos se producen importantes pérdidas de estructura del canopeo y capacidad fotosintética impactando en el rendimiento y calidad de frutos. Los objetivos fueron: identificar microorganismos asociados a la muerte apical en plantas de pecan en la provincia de Tucumán, etapas en el desarrollo de la enfermedad y la aparición de primeros síntomas en el ciclo de la enfermedad. Para ello se obtuvieron muestras con síntomas de la enfermedad con tejido afectado, y se procesaron en el laboratorio de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. El tejido se desinfectó superficialmente con alcohol 70% y lavandina 2%, se enjugó en agua destilada estéril y se sembró en placas de Petri con medio de cultivo agar papa glucosa 2% pH 7 (APG). Las placas se incubaron en estufa a temperaturas de 22°C y 28°C el tiempo suficiente para el desarrollo y obtención de cultivos puros. Mediante el microscopio se estudiaron las características de los aislados obtenidos y se identificaron a nivel género. Se aislaron hongos pertenecientes a los géneros *Fusarium, Pestalotia,* y *Nigrospora* en primavera. *Alternaria* se obtuvo principalmente en primavera y fue disminuyendo su presencia en verano, en cambio, el "complejo *Botryosphaeria*" aumentó su frecuencia de aparición en verano a medida que aumentaba la temperatura. La sintomatología observada fue similar para todos los aislados obtenidos, de manera que no es posible conocer qué microorganismo se encuentra asociado a la misma hasta realizar, excepto en los casos de presencia de ampollas rojas con rajaduras en la corteza y necrosis en los haces vasculares, de donde se obtuvieron exclusivamente aislados que corresponden al "complejo *Botryosphaeria*". Se realizaron pruebas de patogenicidad con algunos los aislamientos de los aislados del "complejo *Botryosphaeria*" con resultado positivo. Los resultados son coincidentes con los de la bibliografía internacional. Se deberán continuar con los estudios para comprobar la patogenicidad del resto de los aislados y realizar determinaciones para identificarlos a nivel molecular.

Introducción:

El pecán pertenece a la familia de las Juglandáceas, al género *Carya* y a la especie *illinoinensis*. El nombre común es nuez pecán o nuez del delta. El árbol alcanza una altura de 30 m, es un árbol longevo y rústico y puede llegar a vivir más de 100 años produciendo en ese momento más de 100 Kg. de nueces por planta (Frusso, 2018a).

No es un cultivo de producción inmediata, su inicio de producción es a partir de los 5 años de plantado, pero la cosecha económicamente significativa es a partir de los 7 años, logrando los mayores rendimientos por hectárea del cultivo entre los 15 y 25 años. Es originario de América del Norte, de la región centro sur- sur este de los Estados Unidos, de los deltas de los ríos Mississippi y Missouri. Es la especie nogalera de nuez más valiosa del subcontinente, Estados Unidos y México son los líderes de producción a nivel mundial, generando más del 90% de la oferta en el mercado internacional. En Estados Unidos los primeros árboles cultivados se plantaron en 1772 y comercialmente empezaron a explotarse a fines de 1800-principios de 1900 en el sur, siendo hoy el principal productor, exportador y consumidor de esta nuez, ubicándose México en el segundo lugar. Si bien la producción se concentra en estos dos países, hay otros países como Australia, Sudáfrica, Israel, Brasil, Argentina, Perú y Egipto que también cuentan con plantaciones, pero cubren mucha menor extensión (Doreste, 2011).

El nogal pecanero (*Carya illinoinensis*) fue introducido en la Argentina por Domingo F. Sarmiento en el siglo XIX, con fines ornamentales y, en las últimas dos décadas, se convirtió en una alternativa productiva debido a que surge un mercado que hasta entonces es no era significativo: China (Urías García, 2013). Este mercado vino a cambiar enormemente la industria pecanera, ya que la demanda pasó a ser de alrededor del 25% de la producción mundial. El cultivo comercial del pecán en el país ha crecido en forma exponencial en los últimos años, durante este último trienio se ha logrado una tasa de implantación de 1.500 ha anuales, distribuidas en la región del Noreste, Noroeste y en menor medida, en la región Centro Sur de la Argentina (Frusso, 2020). Del total de hectáreas implantadas en el país apenas el 25% se encuentra en plena producción, mientras que el restante 75% está en comienzos de producción o en etapa juvenil. Argentina representa menos del 1% de la producción mundial, pero hay un creciente aumento en la cantidad de superficie cultivada año a año. Se estima una

cifra cercana a 300 establecimientos involucrados, entre productores primarios, acondicionadores y comercializadores (Bischoff, 2020).

Para el año 2022 el sector de producción de pecán contaba con aproximadamente 400 productores distribuidos en el país con un total de alrededor de 10.000 hectáreas plantadas. Se calcula que el sector crece anualmente a una tasa de entre 700 a 900 hectáreas todos los años. La producción del año 2021 fue cercana a las 2.000 tn y la exportación del año siguiente (2022) más de 1000 tn. (Cluster de pecan, 2023). Las plantaciones de pecán se ubican en 3 regiones principales que varían en sus climas: región centro, noreste y noroeste incluyendo a Buenos Aires, Entre Ríos, Corrientes, Misiones, Santa Fe, Córdoba, Catamarca, Salta, Santiago Del Estero, Tucumán y Chaco (CAPPecan, 2021). La provincia de Entre Ríos representa a nivel nacional el 50% de las hectáreas plantadas y el 70% de la producción nacional (Secretaría de Comunicación del Gobierno de Entre Ríos, 2023).

Dos entidades agrupan a la mayoría de los productores: el Cluster de la Nuez Pecán de Entre Ríos y la Cámara Argentina de Productores de Pecán (CAPPecan). Entre ambas entidades y con apoyo de la Dirección General de Programas y Proyectos (DIPROSE – MAGyP) se dispuso una campaña para el desarrollo del mercado interno. La CAPPecan se constituyó como el principal exportador del país lo que le ha dado experiencia en comercio exterior, llevando a cabo exportaciones grupales y participa además en ferias de la alimentación (SIAL en Shanghái y París, ANUGA en Frankfurt) para promover y comercializar la creciente producción anual de pecan (Bischoff, 2020).

Las provincias del NEA, entre ellas principalmente Entre Ríos, condensan la mayor cantidad de los emprendimientos y representan el grueso de la producción nacional. En segundo lugar, se encuentra la provincia de Buenos Aires, incluyendo al Delta del Paraná. Al ser el pecán un cultivo muy versátil, con variedades adaptadas a las distintas condiciones edafoclimáticas, se está extendiendo a nuevas zonas productivas, abarcando provincias muy disímiles como Santa Fe, La Pampa, el norte de Río Negro y el noroeste del país tomando gran importancia las provincias de Tucumán y Salta. Está última zona está tomando relevancia como zona seca (pero con agua apta para riego) lo que favorece el control de la sarna del pecán, principal enfermedad de carácter fúngico (Bischoff, 2020). La producción de pecán en Tucumán está distribuida en

toda la provincia, en 3 regiones fitogeográficas marcadas, Cuenca de Tapia-Trancas, valle semiárido de 500 msnm con 300 a 400 mm anuales, región de las Yungas o Selva Tucumano Boliviana, y selva de transición, siendo climas húmedo y subhúmedo, con precipitaciones que oscilan entre los 800 y 2200 mm anuales y Parque Chaqueño, clima subhúmedo de no más de 600 mm de precipitación anual, que corresponde a todo el este de la provincia de Tucumán y este salteño u oeste santiagueño, con precipitaciones estivales. La producción en el NOA de la campaña pasada fue aproximadamente de 300 tn de nuez con cáscara (Enrique Orell, comunicación personal).

En el país se cuenta con una gran cantidad de variedades de este cultivo (20 de ellas inscriptas en el Registro Nacional de Cultivares, dependiente del Instituto Nacional de Semillas INASE), siendo la Argentina el segundo banco de germoplasma más importante a nivel mundial después de Estados Unidos. Las variedades más destacadas en el territorio y demandadas por el mercado son: Desirable, Kiowa, Pawnee, Mahan, Choctaw, Stuart, Shoshoni, Sumner, entre otras. Durante el año 2019 se exportaron 500 toneladas de las cuales el 95% es de nuez con cáscara cuyo destino es el mercado asiático. En el caso de la nuez sin cáscara, es un mercado más reciente con comienzos a partir de 2018 con menos de 50 tn anuales exportadas, con destino a países como Arabia Saudita y los Países Bajos principalmente (Bischoff, 2020). En 2021 se produjeron 2000 tn y en 2022 se exportaron más de 1000 tn (Cluster del Pecán, 2023).

El cultivo está creciendo exponencialmente año a año con una producción (2023) de 3000 tn en 10.000 hectáreas distribuidas en 11 provincias, Buenos Aires, Entre Ríos, Corrientes, Misiones, Santa Fe, Córdoba, Catamarca, Salta, Santiago del Estero, Tucumán y Chaco (Agrofy news, 2023).

Argentina, además de ser un país con un ecosistema ideal para la producción, cuenta con las ventajas respecto a los principales productores a nivel mundial de poseer extensas superficies para una futura expansión del cultivo y cosechar en contra estación respecto al hemisferio norte (abril, mayo, junio), dado que las plantaciones a diferentes latitudes le confieren la posibilidad de realizar cosechas tempranas y tardías, y buena adaptabilidad de las variedades locales e importadas. En cuanto a la competitividad, el embarque de las cosechas ocurre en estaciones en las que los principales productores mundiales están en comienzos de la

estación de producción, los productores se asocian para exportar en conjunto sus productos, hacen escaso uso de productos fitosanitarios por ser un cultivo nuevo para el país y relativamente disperso y producción de nuez grande de variedades injertadas modernas (Bischoff, 2020).

En cuanto a las características de la especie, es originaria del hemisferio norte, son árboles de gran porte, que presentan hojas alternas, imparipinnadas, compuestas caedizas con numerosos folíolos hasta 17 oblongo-lanceolados, falcados, glabros, aserrados, subsésiles y de borde aserrado (Dimitri, 1972). El pecán presenta madera semipesada de buena calidad. Presenta floración diclino-monoica con dicogamia, es decir las flores femeninas y masculinas de una misma variedad en un mismo árbol no maduran al mismo tiempo, la floración es desfasada (Frusso, 2018a).

La inflorescencia masculina está compuesta por 3 largos amentos péndulos, fasciculares, unidos por un mismo pedúnculo ubicados en el tercio apical de las ramas del último año de crecimiento, presenta 3-10 estambres, anteras oblongas, bitecas, de dehiscencia longitudinal, sésiles o sobre cortos filamentos (Dimitri, 1972) teniendo entre 72 a 123 flores individuales (Frusso, 2018a). Las flores femeninas, en cambio, se disponen reunidas en un corto número, sobre ramitas nuevas brotadas formando un racimo y presentan ovario tetrágono, unilocular, estigma bífido (Dimitri, 1972). El número de flores femeninas que produce varía según el largo de las ramas, el cultivar del que se trate y el clima de la región. La inflorescencia femenina está compuesta por flores sésiles con un número que oscila entre 3 y 10 flores por racimo. El estigma presente es una característica que permite diferenciar los distintos cultivares debido a su diferentes formas y coloración que presenta. El fruto es una nuez, drupa seca de forma oblonga y elipsoidea teniendo de 3-5 cm de largo, constituida por un embrión (parte comestible), un endocarpio liso y delgado (cáscara de la nuez) y un epicarpio y mesocarpio carnosos los cuales se abren a la madurez formando 4 valvas longitudinales (ruezno) (Frusso, 2018a). Las semillas de la especie son de forma cerebroide, con alto valor en sustancias grasas. Es un árbol forestal y frutal de gran valor. La floración ocurre en primavera, y las nueces maduran hacia el otoño, reproduciéndose a través de semillas y también por injertos (Dimitri, 1972).

En los cultivares comerciales, la nuez pecán presenta una relación más favorable entre el peso de la parte comestible y la cáscara que la nuez común (Frusso, 2018a):

- Nuez pecán: 46% - 55% de peso parte comestible
- Nuez de nogal: 40% - 55% de peso parte comestible

En lo que refiere a requerimientos de tipo de suelo, son preferibles suelos profundos con más de un 1 m, de texturas franca, franca limosa. No tolera suelos con más de 15% de sodicidad, salinidad nula o débil. Esta especie requiere suelos con buen drenaje o moderadamente bien drenados. La temperatura media anual del suelo debe oscilar entre los 15°C y 22°C y la diferencia de amplitud térmica entre la temperatura media entre invierno y verano a 50 cm de profundidad no debe sobrepasar los 6°C. En cuanto exigencia climática el cultivo requiere un periodo libre de heladas de entre 170 y 280 días definidos por la fecha de última helada y primera helada, lo que define la estación de crecimiento del cultivo (Frusso, 2018b). Siendo árboles de hojas caducas, en épocas otoño-invernales pierden su follaje.

Según Frusso (2018b), es una especie que requiere acumulación de horas de frío entre 150 a 500 en invierno, momento en el que se encuentra sin hojas. Durante el periodo de reposo, para que se acumulen es fundamental que las temperaturas sean inferiores a 7 °C (Wood, 1991, citado por Conti *et al*., 2008).

La nuez pecán crece en un clima húmedo en su zona de origen; la precipitación mínima promedio anual que tolera se aproxima a los 760 mm y la máxima alrededor de los 2010 mm. Durante la temporada de crecimiento deben caer al menos 510 mm de lluvia. Las temperaturas medias en verano pueden alcanzar hasta 27° C, con temperaturas extremas de 41° a 46° C. Las temperaturas promedio en invierno varían de 10° a -1° C, con extremas de -18° a -29°C. La temperatura media de crecimiento más favorable en verano es de alrededor de 23 °C, requiere un mínimo de precipitación durante la estación de crecimiento de 510 mm (Peterson, 1990). Las precipitaciones de la primera quincena de marzo influyen significativamente en el buen llenado como en la calidad según (Sparks, 1997 citado por Conti *et al.*, 2008), debiendo ser mayores a los 62,5 mm.

Las enfermedades que afectan al pecán pueden ser un importante factor limitante para la producción de la nuez. Las pérdidas por enfermedades se pueden prevenir a partir de un manejo sanitario de pulverizaciones. Los fungicidas utilizados actualmente en el mercado para el control se deben utilizar como protectores de la infección o curativos si la enfermedad ya se instaló (Dabul, "s.f"). Se deberá ampliar con manejos culturales y/o genéticos que disminuyan la aparición de patógenos.

En Argentina se han encontrado varios patógenos causantes de enfermedades en pecan, en su mayoría hongos. Entre las principales enfermedades citadas se encuentran (Trabichet *et al.*, 2017):

Enfermedades que afectan hojas, tallos y frutos:

Sarna del pecán:

Enfermedad provocada por especies de hongo del género *Cladosporium y Filo Ascomicetes*, que producen colonias de color verde oliva a marrón o negro y tienen conidios de pigmentación oscura que se forman en cadenas simples o ramificadas. El hongo de la sarna, *Cladosporium cariygenum (=Fusicladium effusum)*, afecta brotes jóvenes, hojas en crecimiento y nueces en desarrollo. Produce pequeñas manchas circulares de color negro, que en ocasiones pueden expandirse y formar grandes manchas sobre los frutos. Cuando los ataques son importantes, si no son controlados a tiempo pueden generar fuertes defoliaciones y caída prematura de frutos.

Manchas foliares y de tallos:

Alternaria sp:

Es un hongo que pertenece al filo *Ascomycota* y puede sobrevivir como saprófito en el suelo en restos vegetales; requiere un rango de temperatura de entre 2 y 33°C y una humedad relativa de 90%. Este patógeno es causante de gran parte de las manchas foliares observadas en distintas zonas de cultivo. Ocasiona manchas de diversas formas y tamaños.

Muerte de plantas, atizonamiento de hojas y ramas.

Complejo *Botryosphaeria:*

El “complejo *Botryosphaeria”* ha sido identificado en pecán como causante de las siguientes afecciones: grietas en ramas con manchas oscuras a su alrededor, atizonamientos de ramas desde la punta hacia la base, presencia de ampollas en ramas y muerte de plantas. Estos patógenos pertenecen al filo *Ascomycota* y requieren de un rango de temperaturas de 26 a 30ºC y humedad relativa de más de 85% para que los conidios germinen y produzcan una infección. Generalmente producen síntomas en árboles estresados, ocasionando también cancros y ampollas en los troncos y en ocasiones la planta puede morir.

Cancros

Se ha verificado recientemente la presencia de cancros sobre ramas y ramitas en la provincia de Buenos Aires, con una incidencia del 10 al 50%. Se obtuvieron aislamientos de *Phomopsis* sp. y su patogenicidad fue comprobada.

Marchitez

Fusarium sp.:

Este hongo del filo *Ascomycota* sobrevive como saprófito en el suelo, en el cual es un habitante común. Produce pudrición de raíces, marchitez y muerte de plantas.

Manchas y pudriciones de frutos y semillas

Numerosos microorganismos pueden producir manchas y pudriciones en frutos y semillas. Hasta ahora se han identificado como patógenos de semillas y frutos a la bacteria *Enterobacter asburiae* y a los hongos *Colletotrichum gloeosporioides, Trichothecium roseum, Aspergillus flavus, Aspergillus niger* y *Pestalotiopsis sp.*; también se han identificado como hongos de semillas a *Trichothecium sp. y Fusarium sp.* Otros patógenos se encuentran en estudio.

Otras patologías en estudio

Se han obtenido aislamientos de *Phytophthora* sp. asociados a la marchitez y muerte de plantas, de *Fusarium sp, Sordaria sp., Colletotrichum sp. y Pestalotiopsis sp*. asociados a la presencia de manchas foliares.

En Argentina se viene observando un incremento de síntomas de “dieback” (muerte regresiva o muerte apical) en los últimos años. Se desconocen en profundidad las causas de esta sintomatología. Recorridas realizadas a un cultivo de pecan en la localidad de Villaguay (provincia de Entre Ríos) permitieron observar síntomas de manchas necróticas circulares a elípticas de color oscuro y márgenes bien definidos y diámetros variables, presentes en tallos y hojas, afectando principalmente las láminas de las hojas seguido por el peciolo y por ultimo los tallos, en algunos casos con muerte de plantas. No se encontraron antecedentes en relación con esta patología. Estudios realizados en laboratorio permitieron detectar la presencia de hongos con características del “complejo *Botryosphaeria*”.

La presencia de patógenos en las plantas afecta la fisiología vegetal, como así también la tolerancia a distintos tipos de estrés que impactan en el rendimiento, entendiéndose como como tal no solo los kg/ha cosechados a fin de la temporada, sino también la calidad del fruto y vida post cosecha. Debido al tiempo prolongado en que no se obtienen beneficios económicos y el gran capital inmovilizado que presenta la actividad hasta poder lograr rendimientos satisfactorios y rentables, es importante asegurar la sanidad del monte. Se debe tener presente que una enfermedad que genera mermas en rendimientos, o en casos extremos posible muerte de ejemplares implicaría haber perdido tiempo y mucho capital.

La determinación de los agentes patógenos causales de enfermedad y el conocimiento de los síntomas asociados durante la época de activo crecimiento del cultivo, brindarán información para la detección temprana de la enfermedad y evaluación de posibles y estrategias de manejo. Todo método que sea preventivo, curativo, erradicante, elección de materiales genéticos resistentes o manejo cultural que disminuya la incidencia y severidad permitirán que haya una mayor partición de recursos con destino a la formación de fruto.

Objetivos:

Los objetivos de este trabajo fueron:

1) Identificar microorganismos asociados a la muerte apical en plantas de pecán en producciones de Tucumán.
2) Determinar la presencia de hongos del complejo *Botryosphaeria* asociados a la muerte apical en plantas de pecán en Tucumán.
3) Identificar etapas en el desarrollo de la enfermedad y la aparición de primeros síntomas en el ciclo de la enfermedad.

Hipótesis:

Los síntomas de muerte apical "dieback" en pecán están asociados a un grupo de microorganismos presentes en el tejido afectado.

Materiales y métodos:

Se tomaron muestras de plantas de pecan en producción en cultivos en la localidad de Trancas (Tucumán) en distintos momentos a lo largo de la estación de crecimiento, entre septiembre del 2022 y marzo del 2023, principalmente con síntomas de muerte apical, y además deficiencia nutricional en hojas malformadas pequeñas, muerte de tejidos apicales y decaimiento general del árbol. Las muestras corresponden principalmente a la variedad Pawnee, y en menor medida a Western y Wichita. En la figura 1 se presentan fotos con típicos síntomas de "dieback" observados en plantas de pecan.

Figura 1: Plantas de pecan con síntomas característicos de “dieback” (foto propia).

Las muestras de Tucumán fueron tomadas por el Ing. E. Orell en las siguientes fechas y enviadas a la FAUBA: 1) el 15 de septiembre de 2022 de la localidad de Trancas, 2) el 07/10/2022 de la localidad de San Miguel de Tucumán (con viaje a la zona y participación del equipo de FAUBA), 3) 2 de diciembre del 2022, 4) el 30 de diciembre del 2022, 5) el 24 de enero del 2023 y 6) el 29 de marzo de 2023.

De las muestras recibidas se contó con material compuesto por ramas, ramitas, hojas y ocasionalmente con frutos. Se llevaron al laboratorio de la cátedra de Fitopatología de la Facultad de Agronomía (UBA), donde se observaron, describieron síntomas y se realizaron las tareas correspondientes al procesamiento, aislamiento de microorganismos y su identificación preliminar. Se cortaron pequeños trozos de material de tallos, hojas y ramitas con bisturí y tijeras de podar previamente desinfectadas con alcohol 96%. El material se desinfectó superficialmente por inmersión de los tejidos en alcohol 70%, y luego hipoclorito de sodio al 2%, en ambos casos por 1,5 minutos, se lavaron con agua destilada estéril y secaron en papel de filtro estéril. El material se sembró en placas de Petri de 90 mm de diámetro con agar papa glucosa 2% pH 7 (APG) en su interior. Todo el procedimiento se llevó a cabo bajo cámara de flujo laminar para evitar posibles contaminaciones. El tiempo de incubación fue variable, el necesario para observar el desarrollo de colonias de microorganismos. Inicialmente se llevó a estufa a 22 °C, pero a partir de la segunda muestra a 28 °C para favorecer el posible desarrollo de hongos correspondientes al "complejo *Botryosphaeria*".

Una vez obtenido el desarrollo de las colonias, se repicaron los microorganismos a placas de Petri conteniendo APG y se realizaron sucesivos repiques hasta obtener cultivos puros. Posteriormente se procedió a realizar preparados microscópicos para observar estructuras reproductivas y vegetativas y, con la ayuda de claves y bibliografía, se realizó una identificación preliminar hasta el nivel de género, cuando fue posible. Obtenido el cultivo puro se repicaron a tubos de ensayo con el medio en pico de flauta para su conservación en heladera de 4 a 6 °C para estudios futuros.

En marzo de 2024, se realizaron pruebas de patogenicidad a partir de algunos de los aislados obtenidos de las muestras de pecán de 2022 que presentaban síntomas con características del "complejo *Botryosphaeria"*. Se tomaron 12 plantas de vivero certificadas provenientes de Entre Ríos de 2 años a las que se le realizaron heridas superficiales en la base de los tallos, peciolos de hojas y base de los meristemas apicales. Sobre las heridas se colocó un trozo de micelio de aproximadamente 1 cm^2 a partir de una colonia de 10-15 días. Para asegurar un contacto adecuado, se cubrió con parafilm. Se utilizaron 10 plantas para la

inoculación de *Botryosphaeria*, 2 plantas por cada aislado y 2 para los testigos colocando trozos de APG sin desarrollo micelial. Las plantas inoculadas se llevaron a un invernáculo donde se les proporcionó riego, manteniéndolas a capacidad de campo. A los 15, 21 y 28 días de la inoculación se tomaron muestras de los tallos que manifestaron síntomas y se procedió de la misma manera antes mencionada.

En la figura 2 se observan las plantas sanas dentro del invernáculo, previo al momento de la inoculación.

Figura 2: Plantas de pecan sanas previo a la inoculación.

En la figura 3 se observan las placas con desarrollo miceliar para realizar la inoculación.

Figura 3: Placas de Petri con desarrollo miceliar de aislados del "complejo *Botryosphaeria"* para la inoculación

Plantas inoculadas, con la zona de inoculación cubierta con bolsas para generar las condiciones de cámara húmeda, se presentan en la figura 4.

Figura 4: Plantas inoculadas, cubiertas con bolsas de polietileno en la zona de inoculación, para generar condiciones de cámara húmeda.

Para inducir la esporulación de "complejo *Botryosphaeria"*, se realizó un ensayo utilizando agar agua estéril como medio de cultivo. Se esterilizaron acículas de pino y ramitas de álamo en placas de Petri en el autoclave. Se vertió el agar agua estéril en placas de Petri y se

colocaron las acículas de pino y las ramitas de álamo esterilizadas, en placas separadas. Luego, sobre material vegetal estéril de *Pinus sp.* y tallos de *Populus sp.* se colocaron fragmentos de micelio de los aislados obtenidos del "complejo *Botryosphaeria"* y se incubaron en estufa a una temperatura de 25-30°C durante cuatro semanas. Durante este tiempo, se realizaron revisiones periódicas cada semana para monitorear el crecimiento del hongo. Al finalizar el período de incubación, se observó el desarrollo de estructuras reproductivas correspondientes a hongos del "complejo *Botryosphaeria"*. Finalmente, se prepararon las muestras para observación al microscopio, donde se examinaron las esporas y se evaluó la esporulación y la morfología de las esporas (Phillips *et al*., 2013).

Resultados:

Aislamientos obtenidos a partir del procesamiento de muestras provenientes de Trancas (Tucumán)

En las Tablas 1 a 6 se presentan los resultados obtenidos a partir de las muestras de Tucumán. En las Figuras (5 a 20) se presentan fotos de los síntomas observados.

Tabla 1 Resultados obtenidos a partir del procesamiento de la primera muestra (del 15/09/2022) proveniente de Trancas.

Síntoma	Órgano	Aislamiento	Variedad
Corteza con rajaduras, descascarada, ampollas rojas, cancros.	Tallo	*Pestalotia*	Pawnee
		Alternaria	
Corteza con rajaduras, haces oscuros, ampollas rojas, cancros.	Corteza	*Alternaria*	
Corteza con rajaduras, descascarada.	Corteza	*Alternaria*	

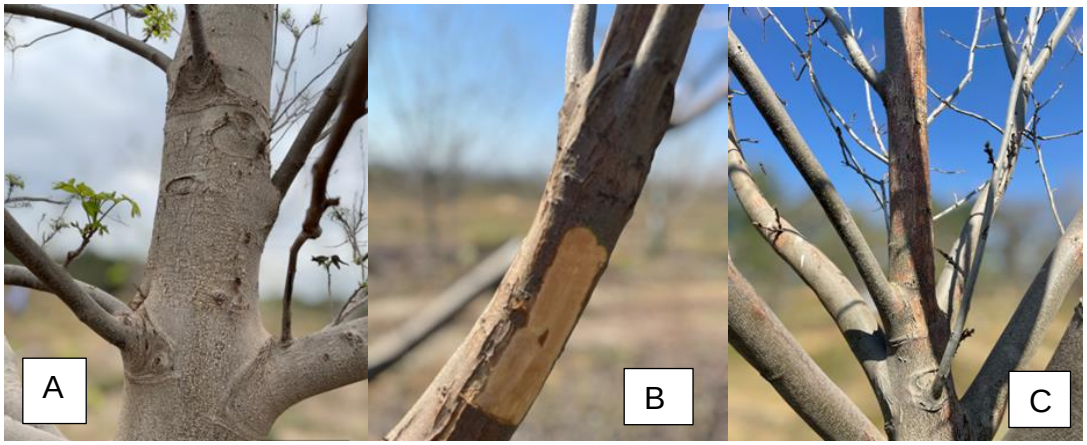


Figura 5: Trancas. A: Rajaduras en la corteza, cancros. B: Rajaduras en corteza, y heridas para la toma de muestras. C: Ampollas rojas, rajaduras en corteza. Variedad Pawnee.

Tabla 2 Resultados obtenidos a partir del procesamiento de la segunda muestra (del 8/10/2022) del viaje a Trancas.

Síntoma	Órgano	Aislamiento	Variedad
Envejecimiento de la corteza, rajaduras, cancros y ampollas. Dieback. Centro necrosado.	Tallo	*Sin esporulación*	Wichita
Corteza con cancros, rajaduras y ampollas. Brotes con crecimiento anormal y muertos. Centro necrosado.	Tallo	*Alternaria*	

Corteza con cancros, rajaduras y ampollas oscuras. Brotes con tendencia de crecimiento curvada y muertos. Centro necrosado.	Corteza	*Alternaria*	
Corteza con ampollas rojizas, rajaduras prolongadas y cancros pequeños, centro necrosado.	Tallo	*Alternaria*	Western
Corteza con ampollas rojizas, rajaduras prolongadas y cancros pequeños, corte transversal con centro necrosado.	Corteza tronco y ramas	*Fusarium*	
Corteza con pequeños cancros, rajaduras prolongadas y ampollas rojizas. Necrosis en su centro.	Corteza	*Sin esporulación*	Pawnee
Corteza con pequeños cancros, rajaduras prolongadas y ampollas rojizas. En el interior del tallo se observa necrosis de tejidos de conducción.	Tallo	*Sin esporulación*	

Envejecimiento temprano de la corteza, cancros grandes, rajaduras y su centro oscurecido. Centro necrosado.	Tallo	*Alternaria*	
Cancros con grietas profundas y bordes elevados. Dieback.	Corteza	*Fusarium*	

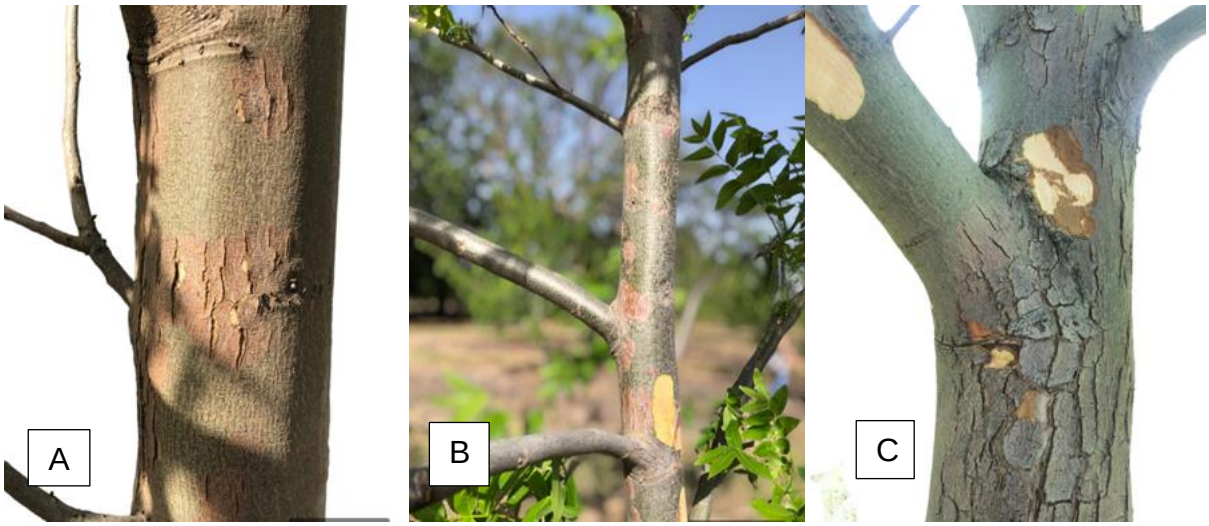


Figura 6: Departamento de Trancas. Segundo Muestreo. A: Ampollas rojas, corteza con rajaduras. B: Ampollas rojas y heridas para la toma de muestras. C: Rajaduras en corteza. Variedades Western (AyB) y Wichita (C).

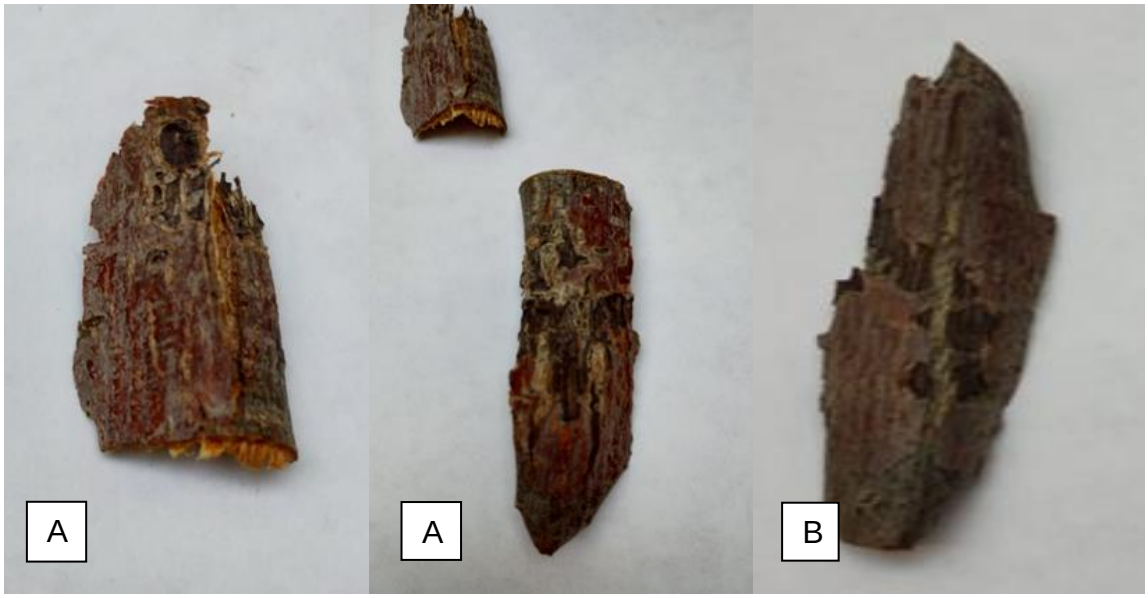


Figura 7: Departamento de Trancas. Segundo Muestreo. A - B: Rajaduras en corteza, ampollas rojas. Variedad Western (A) y Wichita (B).

Figura 8: Departamento de Trancas. Segundo Muestreo. A - B: Rajaduras en corteza. Variedad Pawnee.

Figura 9: Departamento de Trancas. Segundo muestreo. A: Rajaduras en la corteza. B: Centro necrótico, rajaduras en corteza. C: Die back en rama. D: Cancro. Variedad Western y Pawnee.

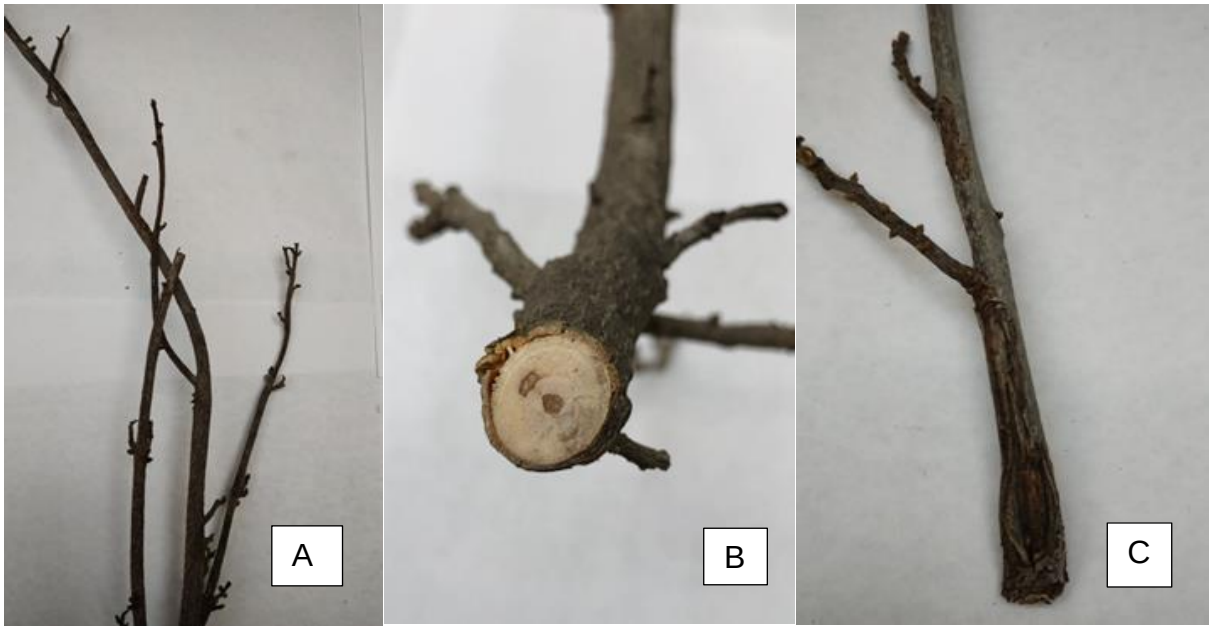


Figura 10: Departamento de Trancas. Segunda muestra. A: Dieback. B: Centro necrótico. C: Cancro con rajaduras en corteza, die back de ramas. Variedad Wichita.

Figura 11: Tucumán, establecimiento de la Jornada CAPPECAN. A - B: Dieback en extremos apicales de ramas. Variedad desconocida.

Tabla 3 Resultados obtenidos a partir del procesamiento de la tercera muestra (del 02/12/2022) proveniente de Trancas.

Síntoma	Órgano	Aislamiento	Variedad
Cancros, rajaduras en corteza	Rama central	*Alternaria*	Pawnee
Dieback, ramitas finas secas sin hojas.	Rama joven	"complejo *Botryosphaeria*	
		Alternaria	
Dieback, rama seca, con frutos secos	Rama con fruto	"complejo *Botryosphaeria"*	
		Alternaria	
Cancros, haces vasculares oscuros	Mitad de rama con fruto	*Alternaria*	
		Fusarium	

Tabla 4 Resultados obtenidos a partir del procesamiento de la cuarta muestra (del 30/12/22) proveniente de Trancas, Tucumán.

Síntoma	Órgano	Aislamiento	Variedad
Dieback, ramitas secas sin hojas, color oscuro.	Tallo. Parte apical DB	Esporas pequeñas (no determinadas).	Pawnee
Dieback, cancros. corteza rajados, haces oscuros. manchas oscuras en la corteza.	Tallo. Parte basal DB	*Alternaria*	
		Dreschlera	
Dieback, secos, color amarronado	Cáscara de fruto	*Alternaria*	
		"complejo *Botryosphaeria*"	
Sin síntoma visible	Interior del fruto	No se obtuvieron aislamientos	

Figura 12: Departamento de Trancas, cuarto muestreo. A: Dieback, tallo necrosado. B: Centro necrosado. C: Dieback en rama. Variedad Pawnee.

Tabla 5 Resultados obtenidos a partir del procesamiento de la quinta muestra (del 24/01/2023) proveniente de Trancas, Tucumán.

Síntoma	Órgano	Aislamiento	Variedad
Sin síntomas definidos	Tallos apicales	*Nigrospora*	Pawnee
		"complejo *Botryosphaeria*"	
Dieback, ramas secas, sin hojas	Tallos apicales	*Alternaria*	
		Dreschlera	

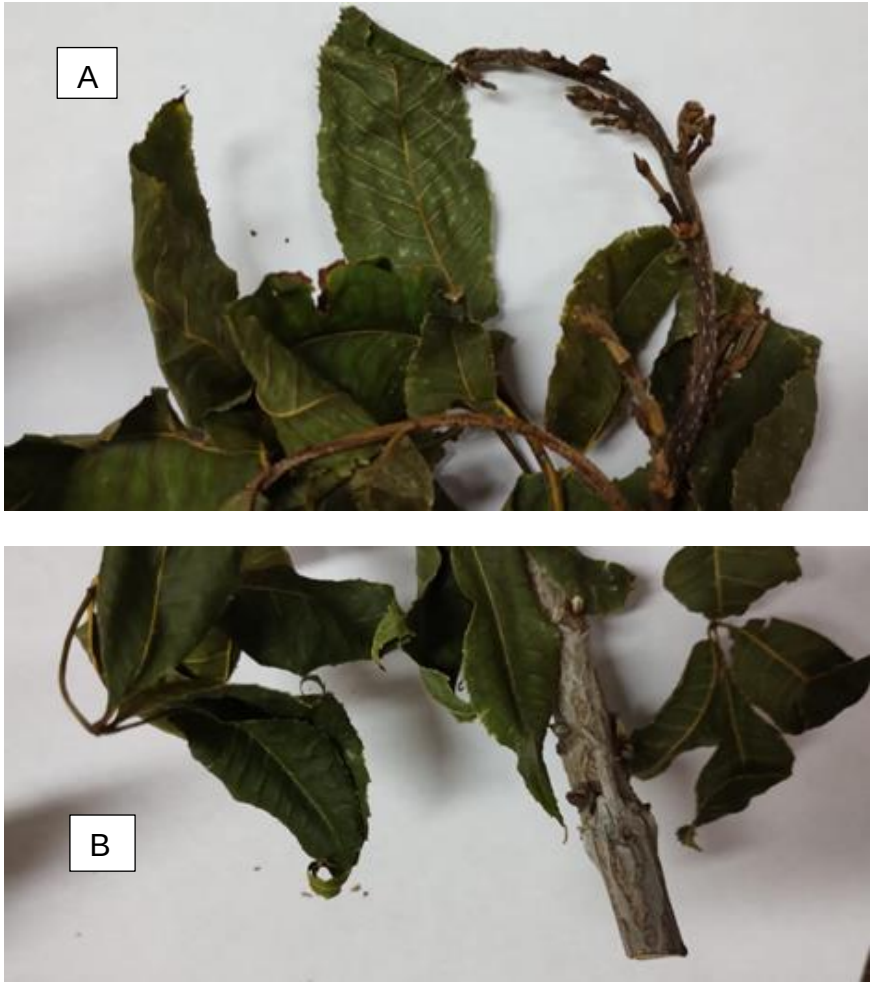


Figura 13: Tucumán, quinto muestreo. A: Dieback en rama. B: Cancro, rajaduras en la corteza. Variedad Pawnee.

Tabla 6 Resultados obtenidos a partir del procesamiento de la sexta muestra (del 29/03/23) proveniente de Trancas, Tucumán.

Síntoma	Órgano	Aislamiento	Variedad
Dieback en tallos gruesos, parte inferior a ramas finas, muertos sin hojas,secos y oscuros.	Tallos de ramas	*Alternaria*	
		"*complejo Botryosphaeria"*	
		Colonia fúngica que produce peritecios	
Quemado, bronceado con puntuaciones blancas	Hojas próximas al Dieback	*Alternaria*	
Dieback típico apical de las ramitas finas de las ramas. ramitas secas, sin hojas y color oscuro.	Ramitas finas apicales	*"complejo Botryosphaeria"*	

A partir de las muestras de Tucumán se obtuvieron aislados de hongos pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Pestalotia*, *Nigrospora*, del "complejo *Botryosphaeria*", *Drechslera* y aislados que producen peritecios y otros sin identificar. La sintomatología observada fue similar en todos los casos, de manera que no es posible conocer qué microorganismo se encuentra asociado a la misma hasta realizar los aislamientos correspondientes.

Las características que permitieron identificar a cada género fúngico aislado fueron:

Complejo *Botryosphaeria*: Colonias fúngicas inicialmente blancas, densas con moderado crecimiento micelial aéreo en el centro, que se torna color verde- gris claro a gris oscuro con la edad (5 días), en colonias vellosas con denso micelio aéreo con proyecciones, coincidente con las descripciones de Wright *et al*. (2012), Alves *et al*. (2013), Wang *et al.* (2021)**.**

Se utilizó la técnica de Phillips *et al.* (2013) para favorecer la esporulación de los aislados del "complejo *Botryosphaeria*", no obteniéndose resultados positivos en una primera instancia. Según la bibliografía citada por Phillips *et al.* (2013), el uso de este medio de cultivo permite que *Botryosphaeria sp.* obtenga los nutrientes necesarios directamente de los materiales vegetales, lo que induce de manera eficiente y rápida la esporulación del hongo. A un siguiendo este método no se pudieron observar esporas en los aislados, por lo que se debió repetir el procedimiento (figura 14 y 15).

Figura 14: Desarrollo de micelio de aislados del "complejo *Botryosphaeria"* que fueron sembrados en acículas estériles de *Pinus sp.* en medio agar agua.

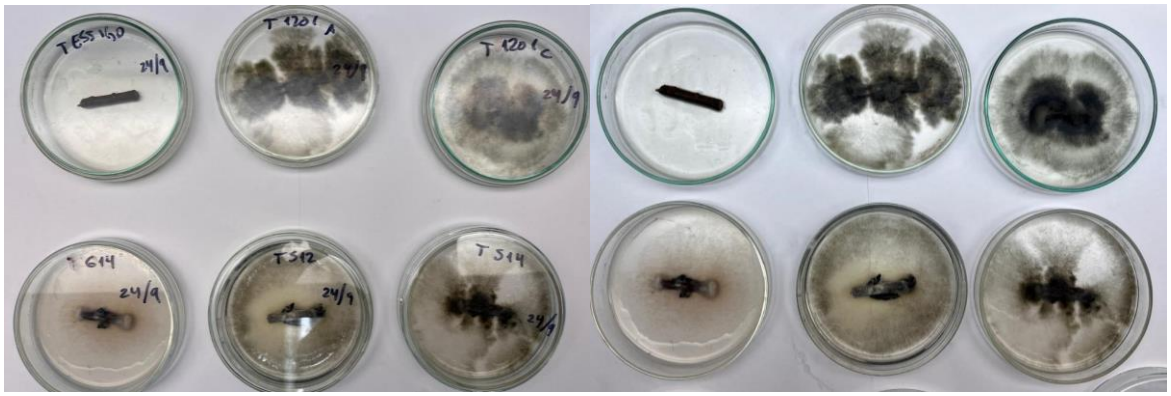


Figura 15: Desarrollo de micelio de *Botryosphaeria* que fueron sembrados en tallos estériles de *Populus sp.* en medio agar agua.

En la repetición de la inducción de esporulación, se observó que algunos aislados lograron esporular mientras que otros no (figura 16). Los aislados que esporularon incluyen T 1201 C, tanto en pino como en álamo; T 512, también en pino y álamo; y T 614, en álamo. Se deberán estudiar las características de las esporas obtenidas para poder realizar una identificación preliminar a nivel de género. Para los aislados que no esporularon, se sugiere realizar una nueva prueba en el futuro. Además, podría ser necesario considerar un cambio en el método de inducción de esporulación para optimizar los resultados esperados.

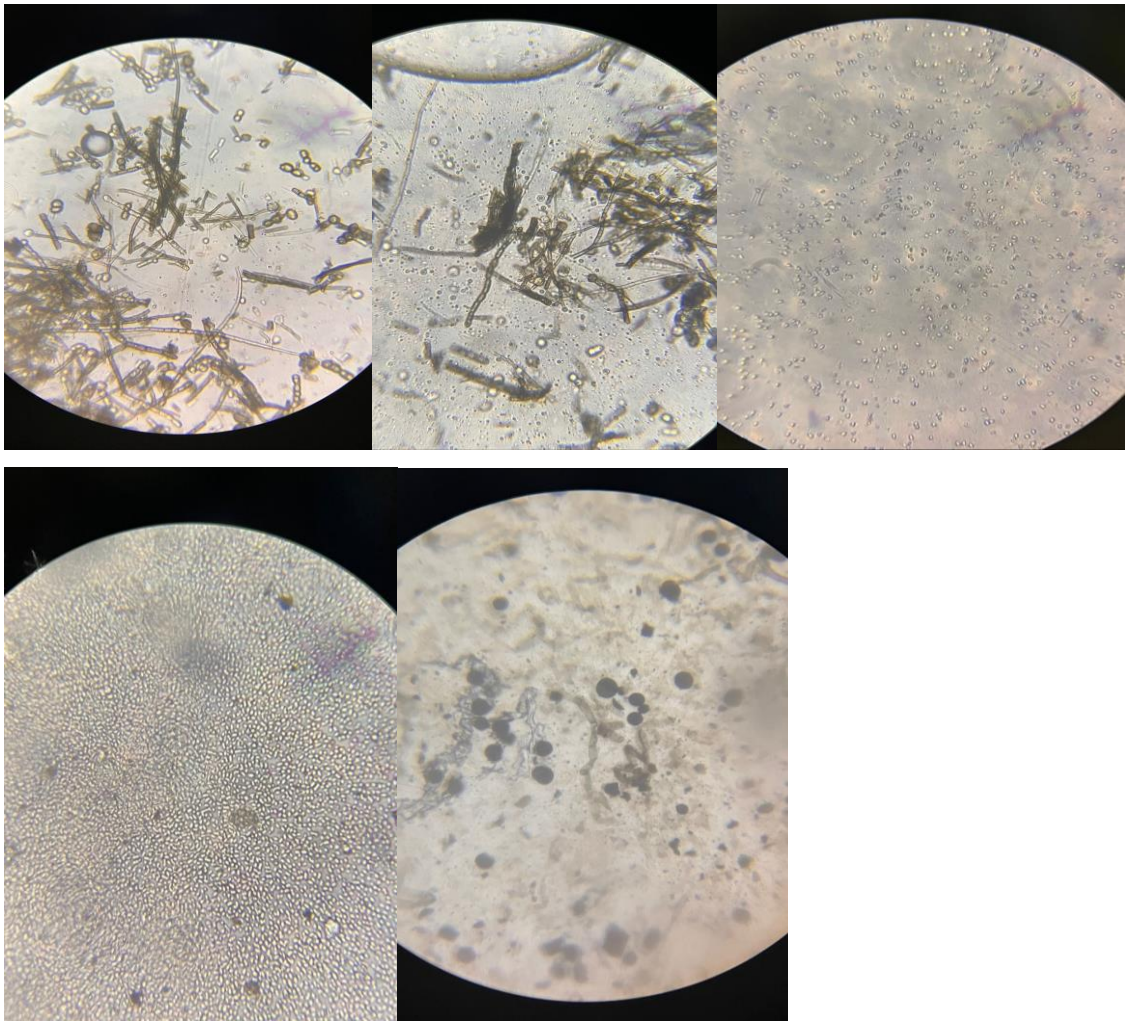


Figura 16: Esporas observadas a microscopio obtenidas de micelio de *"Complejo Botryosphaeria"* sembrado en acículas de pino y trozos de tallo de álamo colocados en agar agua e incubados. De izquierda a derecha: T 1201 A en pino, T 1201 C en pino, T 512 en álamo, T512 en pino y T614 en álamo.

Se deberán continuar los estudios profundizando las observaciones y realizando análisis moleculares para identificar géneros y especies involucrados.

Alternaria sp.: colonias con márgenes redondeados con escaso desarrollo de micelio aéreo, de coloración gris oscuro a verde oliva luego de 10 días de incubación. Conidios, generalmente con un pico, pluricelulares de tabiques transversales y de tabiques longitudinales.

Las características coinciden con las descriptas por Rotem (1994) para el género *Alternaria* (figura 17).

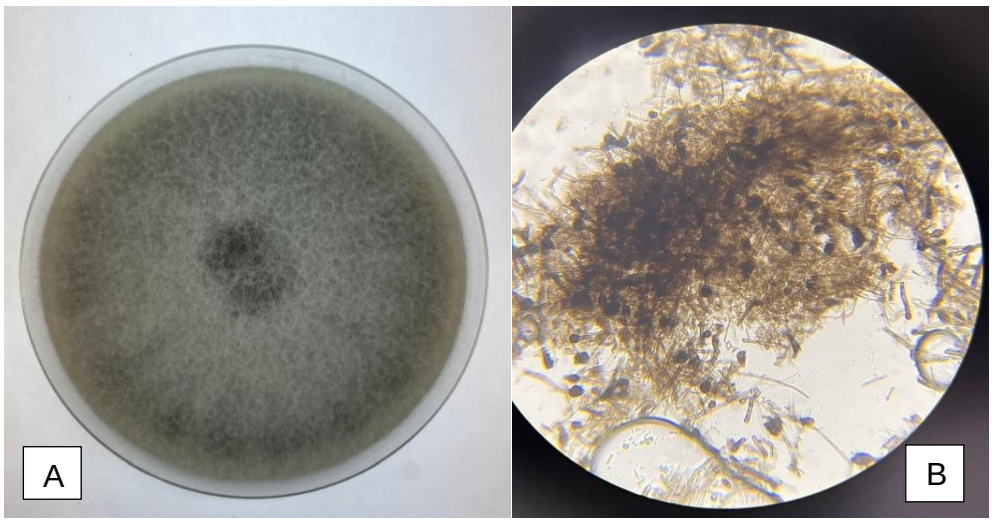


Figura 17: Micelio (A) observado a simple vista, y esporas (B) de *Alternaria* sp. al microscopio.

Fusarium sp.: colonias con un micelio inicialmente de color blanquecino que luego se tornó rosado- salmón en el reverso principalmente. Los aislados produjeron microconidios hialinos y de forma oval-elipsoidea a cilíndrica y macroconidios con septas, con células apicales ligeramente encorvadas (figura 18). Las características coinciden con las descriptas por Booth (1971) y Leslie, Summerell (2006) para el género *Fusarium*.

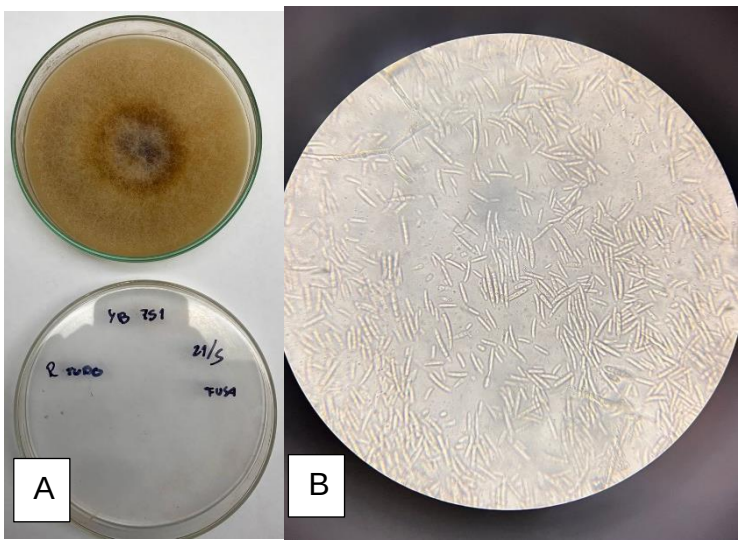


Figura 18: Micelio (A) observados a simple vista y esporas (B) observadas al microscopio de *Fusarium sp*.

Nigrospora sp.: Se observaron colonias inicialmente de color blanco que con el tiempo fueron tornándose gris claro, y posteriormente gris oscuro con tonos negros, conidióforos no ramificados y solitarios y conidios, unicelulares, negros, de forma esférica a subesférica que crecían a partir de una vesícula hialina en la punta del conidióforo (figura 19). Las características coinciden con las descritas por Wright *et al*. (2008) para el género *Nigrospora*.

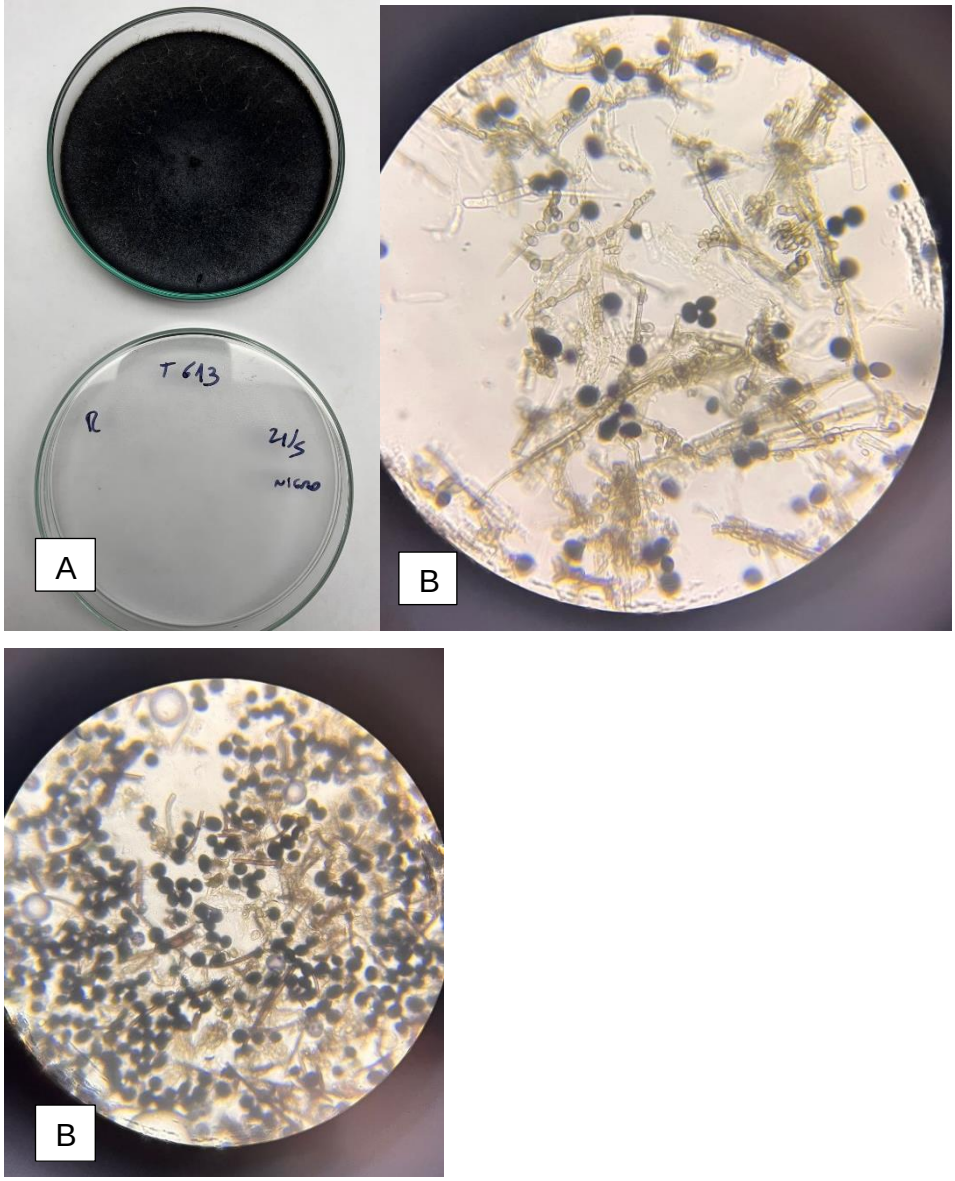


Figura 19: Micelio (A) observado a simple vista, y conidios (B) observados al microscopio, de *Nigrospora* sp.

Pestalotiopsis sp: se observaron colonias inicialmente blanquecinas con micelio denso y desarrollo de numerosos conidios emergiendo en forma de cirros, rectos, con 5 células, las 3

células centrales de color oliváceo y las células apical y basal hialina (figura 20). Las características coinciden con las descriptas por Sutton (1980) para el género *Pestalotiopsis*.

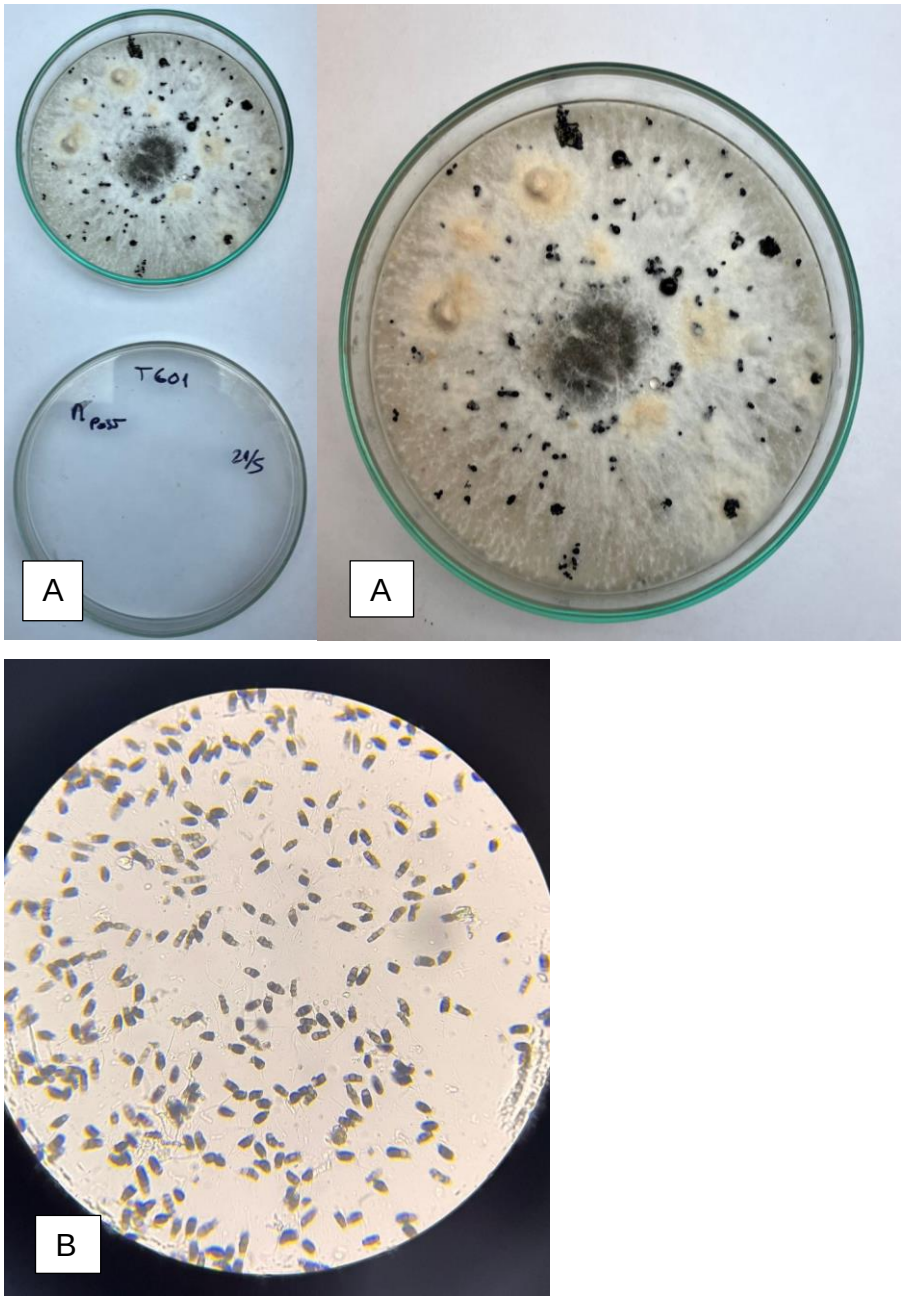


Figura 20: Micelio (A) observados a simple vista y esporas (B) al microscopio con características de *Pestalotia* sp.

Drechslera sp.: se observaron conidióforos cortos, sin ramificar, de color marrón oscuro, septados, erectos y conidios, levemente curvados, con 3 a 6 tabiques transversales,

subhialinos o amarillo pálido (figura 21). Las características coinciden con las descriptas por Ellis (1971) para el género *Dreschlera*.

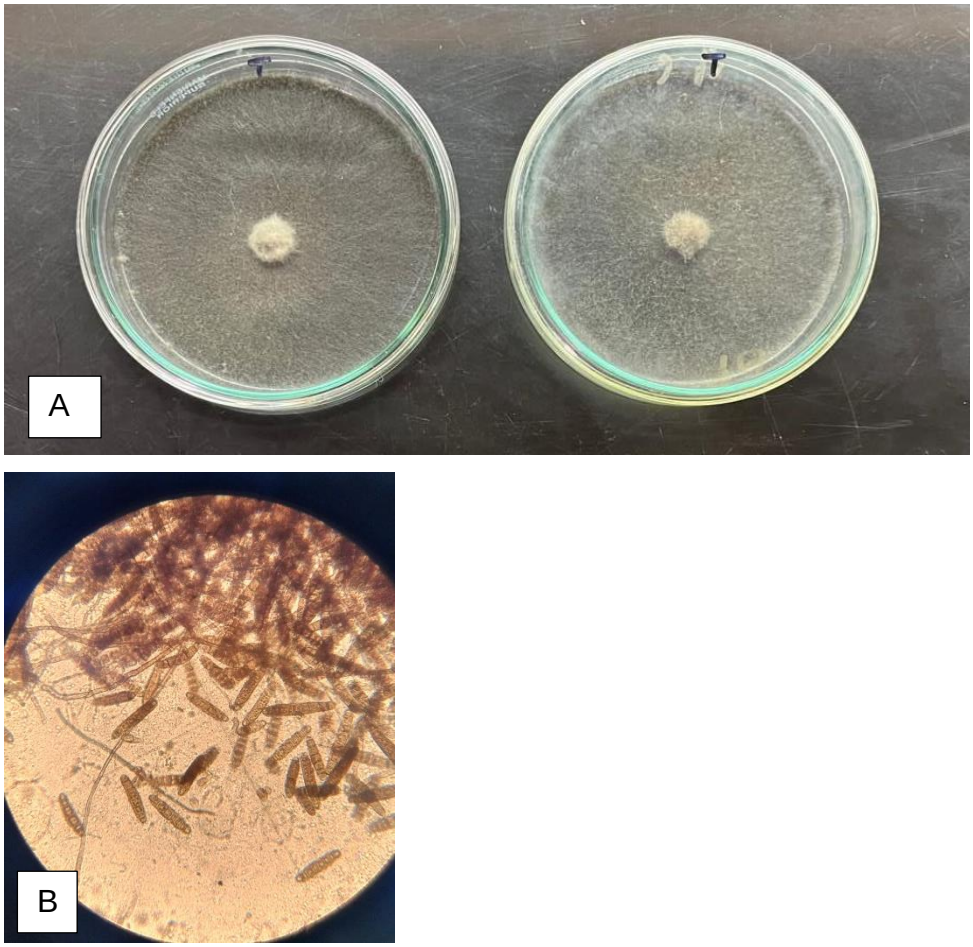


Figura 21: Micelio (A) observado a simple vista y esporas (B) observadas al microscopio correspondientes a *Drechslera* sp.

La Tabla 7 resume los aislamientos fúngicos obtenidos en el material vegetal en Tucumán, presentados por época del año. Se detallan los hongos presentes en cada momento de toma de muestras a lo largo del año.

Tabla 7: Resumen de aislamientos fúngicos obtenidos en el material vegetal de Tucumán, presentados por época del año.

Invierno	Primavera	Primavera	Verano	Verano	Otoño
15/9	8/10	2/12	30/12	24/1	29/3
Pestalotia	*Fusarium*	"complejo *Botryosphaeria*"	*Dreschlera*	*Nigrospora*	*Alternaria*
Alternaria	Sin esporulación	*Alternaria*	*Alternaria*	"complejo *Botryosphaeria*"	"complejo *Botryosphaeria*"
	Alternaria	*Fusarium*	"complejo *Botryosphaeria*"	*Alternaria*	
				Dreschlera	

Resultados de las pruebas de patogenicidad:

Las observaciones de las plantas inoculadas con aislados del *"complejo Botryosphaeria"* fueron realizadas a los 14, 21 y 28 días. Las 3 observaciones se realizaron teniendo en cuenta que los síntomas en todas las plantas podrían no manifestarse al mismo tiempo. Para dos de los aislados (T 514 y T 1201C) los primeros síntomas comenzaron a manifestarse a la segunda y tercera semana, observándose una coloración oscura que comienza en la zona herida e inoculada que se desplaza hacia los extremos. También se detectó un leve decaimiento de la planta, ápices de hojas necrosados, ramas y hojas con pérdida de turgencia y marchitez. A medida que pasaban los días, los síntomas se hacían más evidentes, hojas con comienzos de clorosis, manchas negras y húmedas a lo largo de los tallos y peciolos. Los reaislamientos de los tejidos con síntomas mantuvieron en placa las características del aislado original, evidenciando la patogenicidad de dicho aislado.

La inoculación con los tres aislados restantes que se inocularon no presentó resultado positivo, las plantas no presentaron síntomas de enfermedad alguno (T 512, T 614, T 1201 A).

Inoculación aislamiento T 514:

A partir de la muestra T 514 se realizó reaislamiento de hongos pertenecientes al "complejo *Botryosphaeria*" en las zonas afectadas que presentaban síntomas. La notación 514 (1) y 514 (2) se emplea únicamente para identificar las plantas que fueron inoculadas con el mismo aislado de *Botryosphaeria*. A continuación, se presentan los síntomas ocasionados en los tejidos inoculados. En la figura 22 se observan ramas y ápices necrosados, hojas secas y con manchas 15-20 días posteriores a la inoculación. Se presentan placas (figura 23 y 24) con reaislamientos obtenidos del tejido que mostró síntomas tras la inoculación, manteniendo características idénticas al aislamiento original, correspondiente al "complejo *Botryosphaeria*".

Figura 22: Plantas inoculadas presentando ápices muertos, peciolos, hojas con manchas y necrosadas.

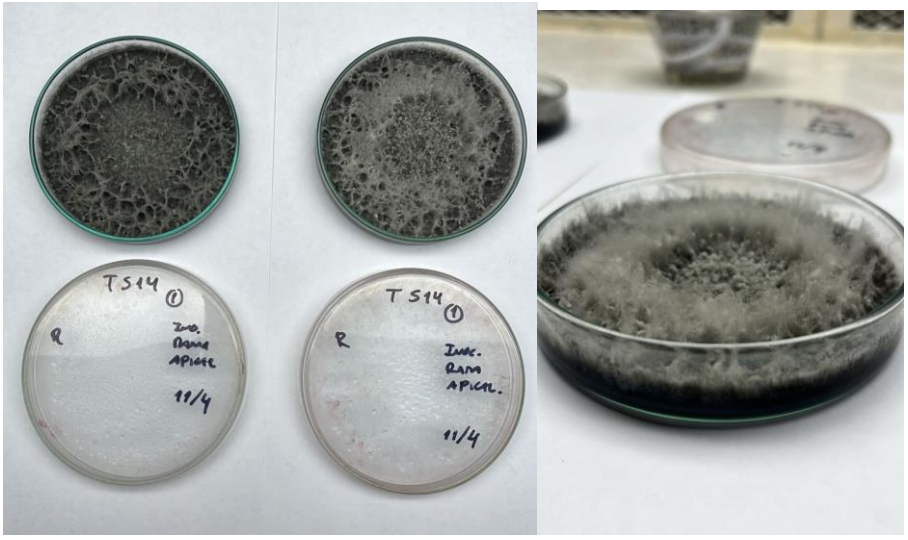


Figura 23: Placas de Petri con micelio correspondiente al "complejo *Botryosphaeria".* Reaislado de la planta T 514 (1), manteniendo características idénticas al aislamiento original

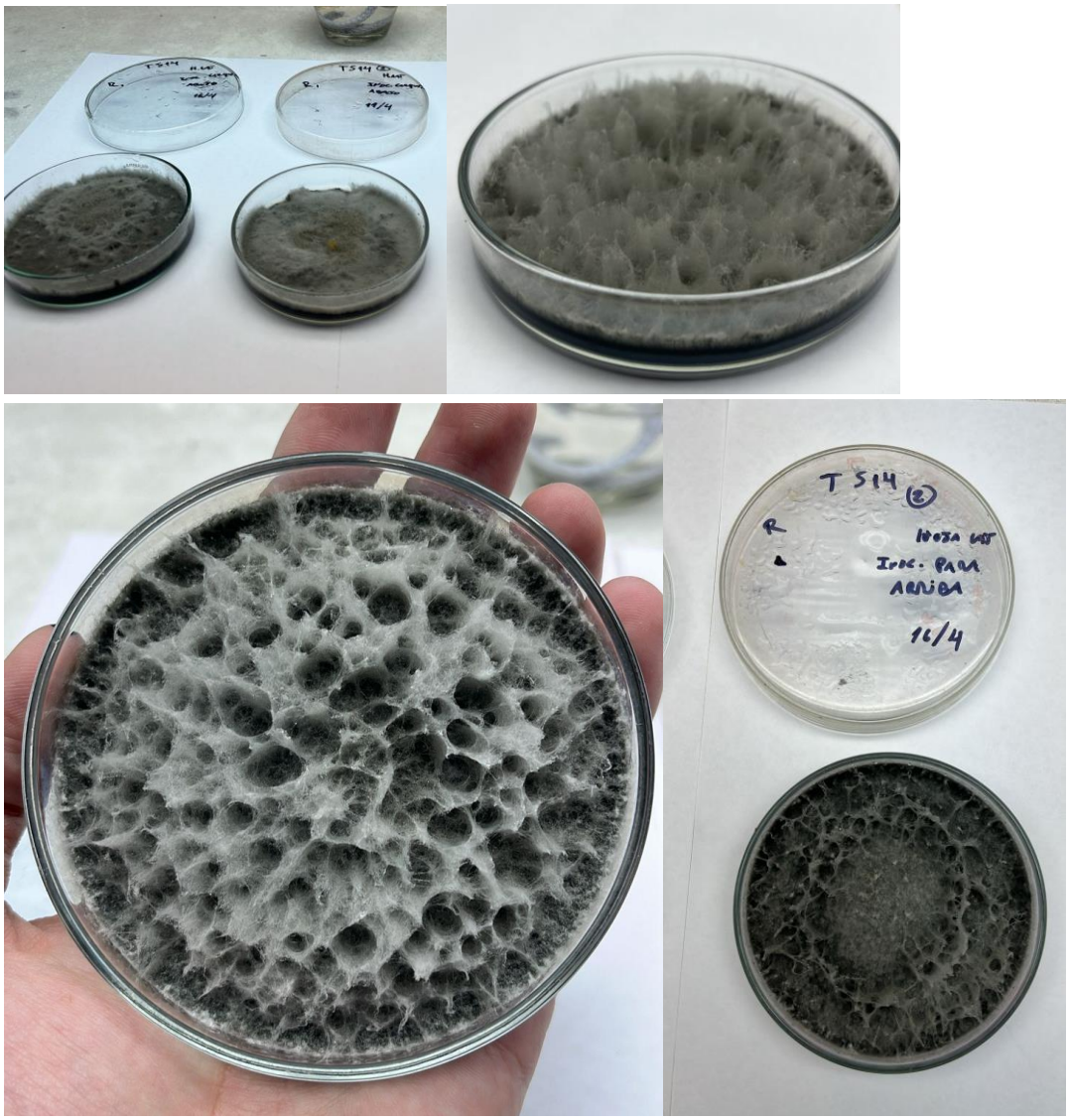
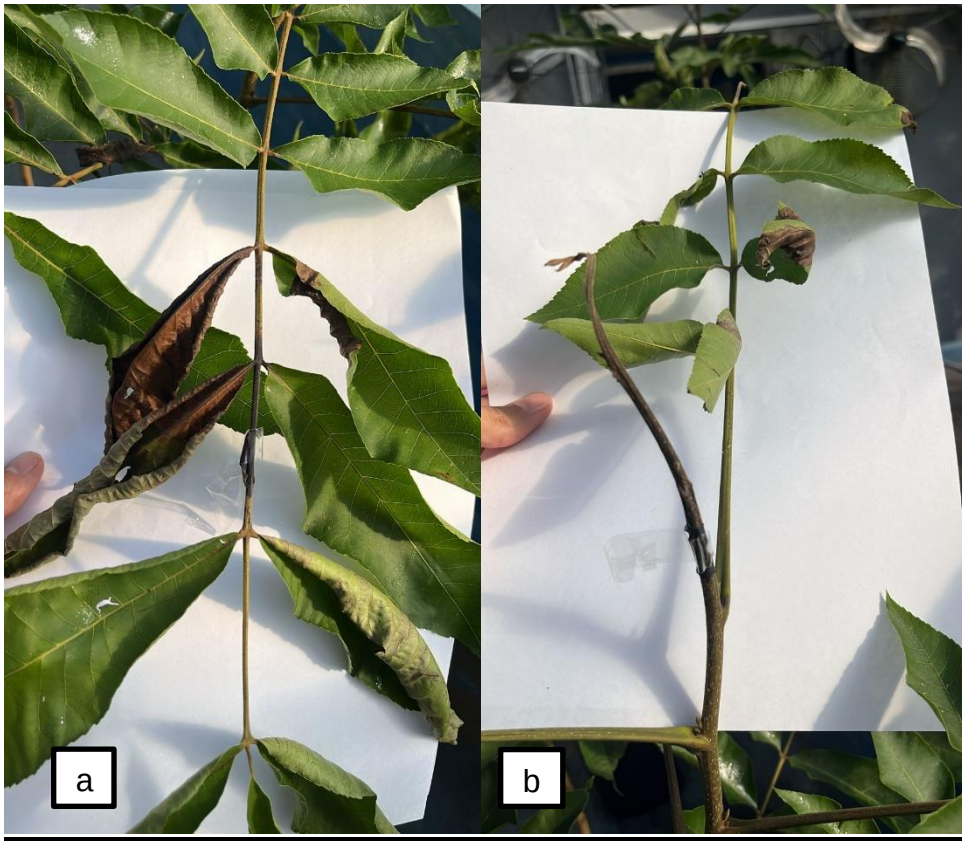
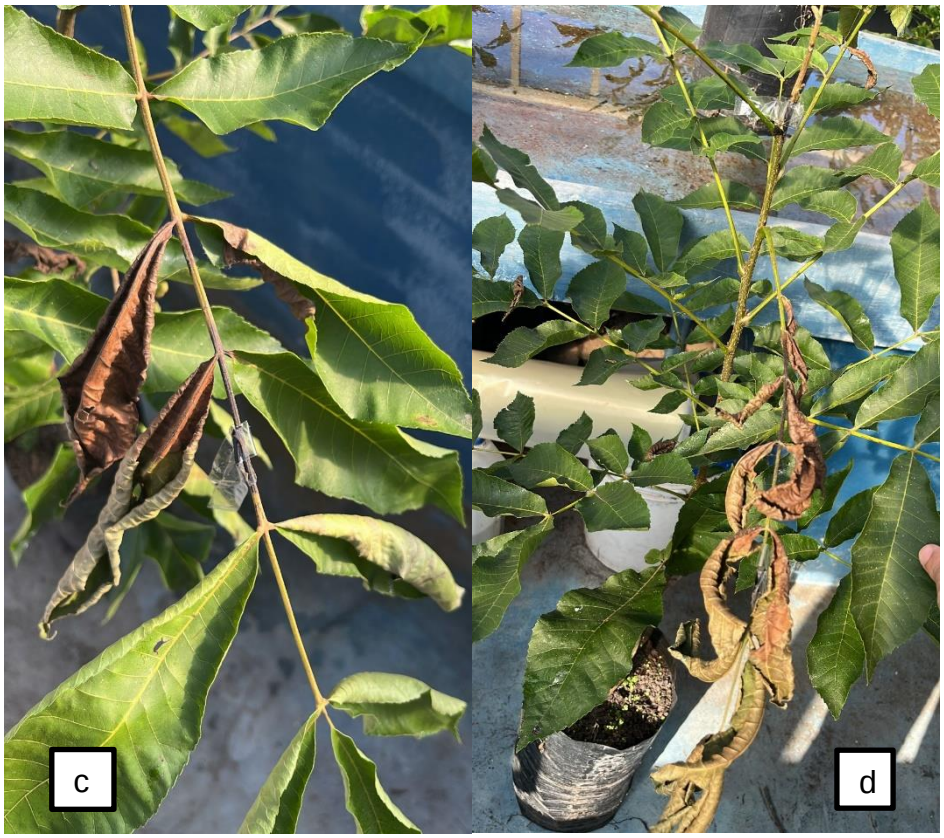


Figura 24: Desarrollo de colonias fúngicas correspondientes al "complejo B*otryosphaeria*" obtenidas de los tejidos inoculados que presentaron síntomas en la prueba de patogenicidad. En planta T 514 (2), manteniendo características idénticas al aislamiento original.

Inoculación aislamiento T 1201 C:

A los 15-20 días de la inoculación se observaron ramas y ápices necrosados, hojas secas y con manchas (figura 25 a, b, c, d, e, f). En la figura 26 se presentan placas con reaislamientos de hongos del "complejo *Botryosphaeria*", obtenidas del tejido que mostró síntomas idénticos a los originales.


a
b


c
d

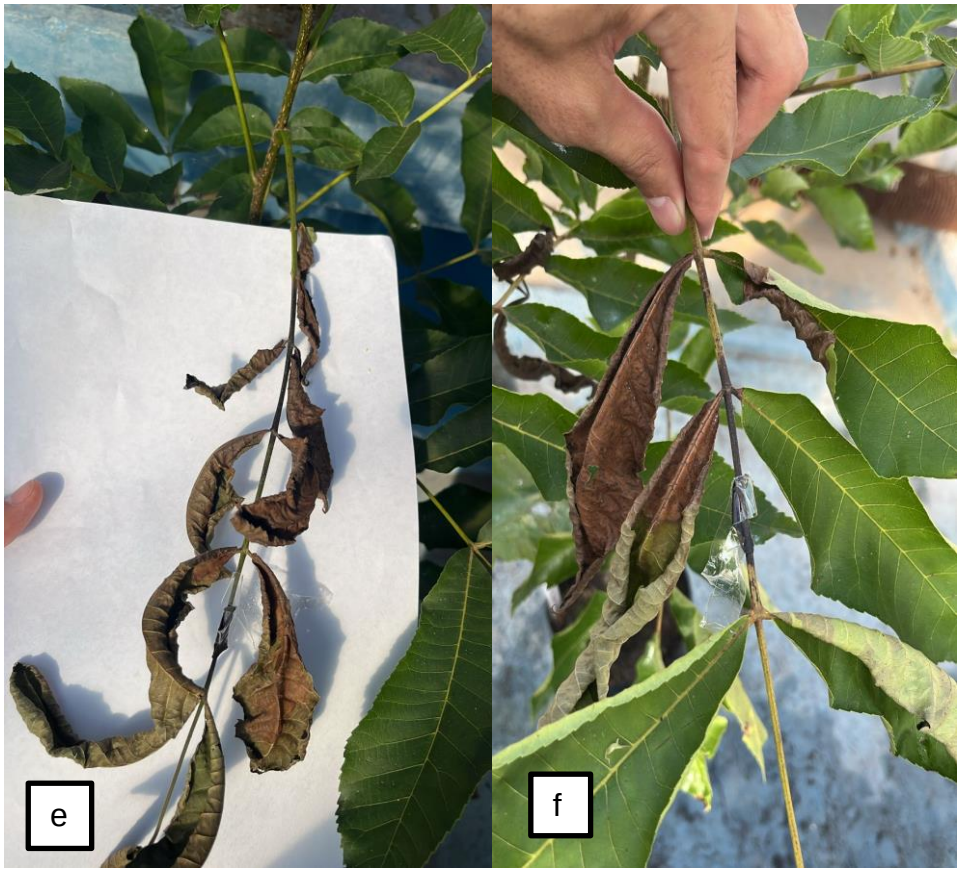


Figura 25: Plantas inoculadas que manifestaron síntomas, con ápices muertos, hojas y peciolos necrosados.

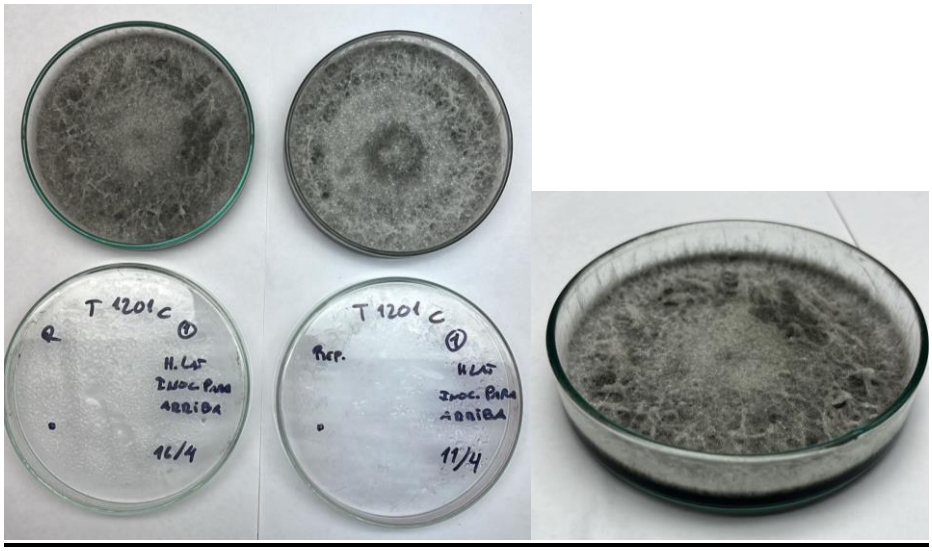


Figura 26: Desarrollo de colonias fúngicas del "complejo *Botryosphaeria"* obtenidas de los tejidos inoculados que presentaron síntomas en la prueba de patogenicidad.

En la figura 27 se observan las plantas testigo, que no presentaron síntomas de enfermedad.

Figura 27: Plantas testigo sin síntomas de enfermedad.

Inoculación aislamientos T 1201 A, T 614, T 512:

Estos aislamientos no produjeron síntomas al ser inoculados.

Discusión:

Todos los microorganismos aislados asociados a síntomas de muerte apical, con excepción de *Dreschlera*, han sido citados previamente como patógenos de pecan en Argentina, produciendo diversas sintomatologías. Hongos del "complejo *Botryosphaeria*" fueron citados como agentes de muerte apical (Trabichet *et al*., 2017). *Alternaria* sp. es considerado como causante de gran parte de las manchas foliares observadas en distintas zonas de cultivo en Argentina. Produce también manchas en tallos. *Nigrospora* sp. produce síntomas similares. *Pestalotia* sp. produce manchas en frutos y semillas y se la ha encontrado asociado a la presencia de manchas foliares. *Fusarium* sp. produce pudrición de raíces, marchitez y muerte de plantas. En ningún caso fueron citados como agentes de "dieback".

La falta de antecedentes de estudios en relación con el rol de microorganismos asociados a la muerte apical de ramas de pecan llevaron a Reilly *et al.* (2010) a realizar investigaciones. Determinaron que la muerte apical primaveral ocurría antes, durante y poco después de la brotación principalmente sobre ramas reproductivas de un año, extendiéndose hacia abajo entre 22 y 44 cm. Todos los cultivares presentaron síntomas siendo Mohawk, Cherokee y Success los más afectados. La nueva brotación se observó débil, con hojas más pequeñas que las normales, levemente cloróticas. A partir de las ramas afectadas obtuvieron principalmente aislados de *Phomopsis* y, en mucha menor medida y en orden decreciente, *Alternaria*, *Botryosphaeria*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Glomerella cingulata*, *Penicillium*, *Pestalotia* y *Phoma*. En relación con la muerte apical de verano aislaron *Phomopsis* sp. de ramas de la gran mayoría de los cultivares con una frecuencia del 50 al 70% y *Botryosphaeria* con una frecuencia de 0 a 40%. Se comprobó que en árboles del cultivar Cherokee sometidos a estrés, la incidencia de la muerte apical primaveral fue mayor.

En nuestro caso se identificaron diferentes géneros fúngicos asociados a la muerte apical de ramas de pecán: *Alternaria, Drechslera, Fusarium, Nigrospora, Pestalotiopsis.* y del "complejo *Botryosphaeria*". Con excepción de *Dreschlera,* la presencia de estos microorganismos comportándose como patógenos y generando diferentes sintomatologías coincide con la citada por (Trabichet *et al*., 2017). No fue posible identificar a los microorganismos presentes a través de la sintomatología. Se deberán realizar pruebas de patogenicidad en el futuro con estos microorganismos aislados de los tejidos afectados, ya que no existen estudios acerca de la presencia de estos microorganismos produciendo muerte regresiva en pecan en Argentina.

En cuanto a los resultados de las pruebas de patogenicidad de los aislados del "complejo *Botryosphaeria"* que fueron inoculados sobre plantas de pecan de 2 años sanas obtenidas de vivero, se puede concluir que las inoculaciones que no dieron resultado positivo, puede deberse a que las condiciones ambientales no fueron las predisponentes. Al realizarse a fines de marzo, principio de otoño, dicho momento no coincide plenamente con los síntomas y presencia del "complejo *Botryosphaeria"* en las observaciones a campo, donde la mayor incidencia se mostraba a fines de primavera y verano principalmente. Se deberán repetir las inoculaciones de los aislados que dieron un resultado negativo en la prueba de patogenicidad, para verificar si el resultado de la prueba. se deberán repetir las inoculaciones de los aislados: T 1201 A, T 512, T 614.

En Argentina hasta el momento se ha determinado la patogenicidad de aislados pertenecientes al complejo *Botryosphaeria* en manzano y duraznero en Santa Fe (*Botryosphaeria dothidea* (Moug., Rista *el al*., 2011) en arándano (*Botryosphaeria dothidea* (Moug: Fr) Ces. Y De Not, Hongn *et al*., 2004; *Neofusicocum parvum*, Wright *et al*., 2012), hiedra (*Neofusicocum parvum* Hernández *et al*., 2018). Además, se determinó la presencia en cultivos de vid (*Botryosphaeria dothidea*, Gatica de Mathey *et al*., 1998); en manzano (*Botryosphaeria sp*., Pastor *et al*., 2017).

Los estudios de Reilly *et al*. (2010) evidencian que la muerte apical primaveral afecta principalmente a ramas reproductivas jóvenes, lo que sugiere que los patógenos, como *Phomopsis*, juegan un papel crucial durante este periodo crítico de brotación. La incidencia de

estos microorganismos se ve exacerbada en condiciones de estrés, lo que indica que el manejo del estrés abiótico podría ser una estrategia clave para mitigar los efectos de estas infecciones.

Por otro lado, la identificación de varios géneros fúngicos asociados con la muerte apical, como aquellos pertenecientes al "complejo *Botryosphaeria"*, plantea la necesidad de realizar pruebas de patogenicidad. Los resultados negativos en inoculaciones con algunos aislados del "complejo *Botryosphaeria"* sugieren que la fenología del hongo debe ser considerada; la sincronización de las pruebas con el ciclo de vida del patógeno es esencial para obtener resultados concluyentes.

La identificación de *Botryosphaeria dothidea* como un patógeno significativo en otras regiones, incluyendo Estados Unidos y China destaca la necesidad de establecer medidas de bioseguridad para prevenir su introducción y dispersión. Este hongo, como patógeno oportunista, se desarrolla en condiciones de estrés, lo que sugiere que una gestión adecuada del cultivo podría limitar su impacto. La relación entre el cambio climático y el incremento del estrés en las plantas es un aspecto crucial que debe ser considerado en el manejo de estos patógenos.

Además, la falta de esporas observadas en algunos aislados como T 1201 A, T 512 y T 614 en las pruebas de esporulación del "complejo *Botryosphaeria*" indica que es necesario optimizar las condiciones de cultivo para una mejor inducción de esporulación. El uso de medios específicos y la manipulación de variables ambientales podrían mejorar los resultados.

Botryosphaeria dothidea es la especie tipo del género *Botryosphaeria*, dentro de la familia Botryosphaeriaceae y el orden Botryosphaeriales. Los hongos de este orden son ampliamente distribuidos a nivel mundial y representan patógenos significativos de árboles, siendo responsables de enfermedades como cancros y dieback en diversas regiones (Marsberg *et al*., 2017). Estos patógenos se encuentran prácticamente en todas las plantas leñosas y suelen estar asociados con enfermedades en ramas, ramitas, hojas, frutos y semillas (Slippers *et al*., 2007). Se han identificado numerosas especies dentro de este grupo como patógenos de árboles forestales, incluyendo acacia, eucalipto y pino (Mohali *et al*., 2007).

Estos hongos se consideran fitopatógenos oportunistas que, en su mayoría, se desarrollan en tallos leñosos muertos y madera, donde actúan como patógenos latentes. Solo

causan daño a las plantas cuando estas están estresadas (Alves *et al*., 2013). La fase latente prolongada o endofítica de infección es crucial, ya que permite que el hongo pase inadvertido para los sistemas de cuarentena que supervisan plantas vivas, frutos y otras partes vegetales. Las infecciones solo se hacen evidentes bajo condiciones de estrés del hospedante, especialmente en situaciones de estrés abiótico. La creciente importancia de estos patógenos se debe al estrés adicional que infligen a diversos hospedantes leñosos, exacerbado por el cambio climático (Marsberg *et al*., 2017). La evidencia creciente indica que estos patógenos se están dispersando globalmente con pocas restricciones y una frecuencia cada vez mayor, en parte debido a la globalización (Slippers *et al*., 2017). *Botryosphaeria dothidea*, un patógeno, está clasificado como patógeno cuarentenario en muchos países. Los tejidos vegetales y las semillas infectadas pueden ser transportados entre países y regiones sin mostrar signos visibles de infección (Marsberg *et al*., 2017).

La baja especificidad de *Botryosphaeria dothidea* incrementa la probabilidad de que se propague a nuevos hospedantes una vez que se introduce en una nueva región. Aunque se han reportado tanto el estado sexual como el asexual del hongo, el estado sexual es raro en condiciones naturales. Las Botryosphaeriaceae ejemplifican cómo la distinción entre endófito y patógeno es más bien artificial, ya que estas categorizaciones se basan en diferentes fases del ciclo de vida en lugar de en ciclos de vida distintos (Marsberg *et al.*, 2017).

Ha sido citado como patógeno de frutos en pecan en Estados Unidos y China, que comienza con lesiones marrón oscuro sobre la cáscara y progresa hacia el grano penetrando la cáscara. Las nueces severamente afectadas se desintegran y exudan líquido (Saharan, 1974; Wang *et al*., 2021). También ha sido citado en Italia y en Montenegro ocasionando pudrición de frutos en olivo, disminuyendo el rendimiento y la calidad de frutos y aceite (Lazzizeraa *et al*., 2008, Latinović *et al*., 2014).

Especies de *Neofusicoccum* han sido aisladas de un amplio rango de hospedantes, lo que confirma que son oportunistas que pueden colonizar a la mayor parte de los hospedantes con los que se ponen en contacto, para los que representa una amenaza. Es necesario entender de manera urgente las vías de introducción y diseminación de estos hongos, no sólo en ambientes naturales sino también en los menos estudiados ambientes urbanos, donde muchos hospedantes potenciales se cultivan como ornamentales (López *et al*., 2016).

El análisis molecular es una herramienta imprescindible para identificar especies dentro del "complejo *Botryosphaeria*" y otros géneros asociados, lo que ayudará a comprender la diversidad microbiana presente en los cultivos de pecan y permitirá desarrollar estrategias de control más específicas y efectivas.

Dada la alta tasa de propagación y la baja especificidad de *Botryosphaeria dothidea* y de otras especies del complejo, es fundamental investigar las vías de introducción y diseminación de estos hongos en entornos urbanos y naturales. Comprender estas dinámicas permitirá abordar de manera más efectiva la amenaza que representan estos patógenos para la agricultura y la seguridad alimentaria.

Conclusiones:

- A partir de las muestras vegetales de pecan obtenidas de las variedades Wester, Wichita y Pawnee en el departamento de Trancas (Tucumán), se obtuvieron aislados de los géneros *Pestalotia, Alternaria, Fusarium, Dreschlera, Nigrospora*, y del *"complejo Botryosphaeria"*
- Se comprobó la patogenicidad de los aislados T 514 y T 1201 C del "*complejo Botyosphaeria"*.
- Se deberán continuar los estudios para comprobar la patogenicidad de los aislados T 1201 A, T 614 y T 512 repitiendo nuevamente las pruebas a futuro.
- Se deberán identificar mediante análisis molecular los aislados del *complejo Botryosphaeria*
- Se deberá continuar y realizar pruebas de patogenicidad de los microorganismos aislados asociados a muerte regresiva del ápice, como son *Pestalotia, Alternaria, Fusarium, Dreschlera, Nigrospora* para comprobar su relación con los síntomas e identificar las especies involucradas.

La colaboración entre investigadores, agrónomos y productores será clave para desarrollar un enfoque integral que considere tanto los factores bióticos como abióticos en la gestión de cultivos de pecan.

Bibliografía:

- Agrofy news. 2023. Agrupan a más de 170 productores agropecuarios de todo el país para dar a conocer un producto único que crece exponencialmente. https://news.agrofy.com.ar/noticia/205939/agrupan-mas-170-productores-agropecuarios-todo-pais-dar-conocer-producto-unico-que consultado: 3/08/2023

- Alves, A.; Barradas, C.; Phillips, A. J.; Correia, A. 2013. Diversity of Botryosphaeriaceae species associated with conifers in Portugal. European Journal of Plant Pathology 135: 791-804

- Bischoff, N. 2020. Sector Pecanero Argentino. Dirección de Producción Agrícola. Dirección Nacional de Agricultura. Subsecretaría de Agricultura. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca. Argentina. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sector-pecanero-argentino-oct-2020.pdf consultado:19/04/2023.

- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium.* Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 237 pp.

- CAPPecán. 2021. El pecán. https://cappecan.com.ar/el-pecan/#que-es-el-pecan Consultado: 20/07/2023
- Conti, H.; Moschini, R.; Cazenave, G. 2008. Zonificación agroclimática del pecán en región pampeana y noreste argentino. http://agro.unc.edu.ar/~clima/AADA/Congresos/Jujuy/03_biometeorologia_y_agrometeorologia/040%20-%20Conti%20-%20Listo.pdf Consultado: 20/04/23.

- Cluster del pecán. 2023. Información del sector. El Pecan. https://clusterdelpecan.org.ar/el-pecan/ consultado: 20/07/2023.
- Dabul, M. E. "s.f". Enfermedades del nogal de pecan presentes en Argentina y su control. https://saaa2a3304f444fe2.jimcontent.com/download/version/1528758169/module/9402961852/name/ENFERMEDADES%20.pdf.Consultado: 20/07/2023
- Dimitri, M.J. 1972. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Descripción de las plantas cultivadas. ACME S.A.C.I. Buenos Aires. Págs. 312-313.
- Doreste, P. 2011. Ficha Técnica. Frutas secas: Nuez Pecan. Alimentos Argentinos. Ministerios de Agricultura, Ganadería y Pesca. https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/contenido/sectores/frutasecas/informes/NuezPecan_2011_06Junio.pdf Consultado: 03/08/2023.
- Ellis M. B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Kew. England, CAB, 608 pp.
- Frusso E. A. 2018a. Características morfológicas y fenológicas del pecán, guía fenológica ampliada y resumida. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_2018. Consultado: 05/04/2023.
- Frusso, E.A. 2018b. Ficha técnica del pecan. Instituto de recursos Biológicos (INTA). Ministerio de Agroindustrias. https://www.argentina.gob.ar/inta consultado: 20/04/2023
- Frusso E.A. 2020. El cultivo de pecán en Argentina. Argentina forestal.com https://www.argentinaforestal.com/2020/09/28/el-cultivo-de-pecan-en-la-argentina/#:~:text=Las%20provincias%20de%20Entre%20R%C3%ADos,%2C%20Corrientes%20y%20Catamarca%20 Consultado: 20/07/2023.
- Gatica de Mathey, M.E.; Rajchenberg, M.; Oriolani, E.J.A; 1998. Hongos asociados a la hoja de malvón de la vid en Mendoza, Argentina. Fitopatología 33 (1):28.
- Hernández, E.; Petrone, M.N.; Castañares, E; Stenglein, S.; Wright, E.R. *Neofusicoccum parvum*, agente causal de manchas foliares y atizonamiento en plantas de *Hedera hélix* en Buenos Aires. 10-12 Octubre 2018. XVI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. San Miguel de Tucumán. ISSN 0080-2069.

- Hongn, S.; Baino, O.; Ramallo, J.C. 2004. *Botryosphaeria dothidea* (Moug.:Fr.) Ces. y De Not (Fusicoccum aesculi corda) causante del síndrome de rama muerta del arándano. Pág. 74 En: Actas. XII Jornadas Científicas Asociación de Biología de Tucumán.

- Latinović, J.; Hrnčić, S.; Perović, T.; Latinović, N. 2014. *Botryosphaeria dothidea* – causal agent of olive fruit rot – pathogen of wounds or not? Integrated Protection of olive crops 108: 39-42.

- Lazzizeraa, C.; Frisulloa, S.; Alvesb, A.; Phillipsc, A.J.L. 2008. Morphology, phylogeny and pathogenicity of *Botryosphaeria* and *Neofusicoccum* species associated with drupe rot of olives in southern Italy. Plant Pathology 57 :948–956.

- Leslie, J.F.; Summerell, B.A. 2006. The Fusarium laboratory manual. Blackwell Publishing. USA. 388 pp.

- López, A.; Barradas, C.; Phillips, A.J.L.; Alves, A. 2016. Diversity and phylogeny of Neofusicoccum species occurring in forest and urban environments in Portugal Mycosphere 7 (7): 906–920 (2016).

- Marsberg, A.; Kemler, M.; Jami, F.; Nagel, J.H.; Postma-Smiddt, A.; Naido, S.; Wingfield, M.J.; Crous, P.W.; Spatafora, J. W.; Hesse, C.N.; Robbertse, B.; Slippers, B. 2017. *Botryosphaeria dothidea*: a latent pathogen of global importance to woody plant health. Molecular Plant Pathology 18 (4): 477-488.

- Mohali, S.R.; Slippers, B.; Wingfield, M.J. 2007. Identification of Botryosphaeriaceae from Eucalyptus, Acacia and Pinus in Venezuela Fungal Diversity 25:103-125

- Pastor S.; Di Masi S.; Benazzi L.; Valetti L.; Paredes J. y Cazón I., 2017. Prevalencia, incidencia y diagnóstico de cancrosis papirácea del manzano en provincia de Río Negro, Argentina. Actas del Cuarto Congreso Argentino de Fitopatología. Pp. 208.

- Peterson, J. K. 1990. *Carya illinoiensis* (Wangenh.) K. Koch pecan. In: Russell M. Burns and Barbara H. Honkala, technical coordinators. Silvics of North America. Vol 2. Hardwoods, 206 pp.
- Phillips, A. J. L.; Alves, A.; Abdollahzadeh, J.; Slippers, B.; Wingfield, M. J.; Groenewald, J. Z.; Crous, P. W. 2013. The *Botryosphaeriaceae:* genera and species known from culture. Publicado online el 30 de septiembre de 2013. https://www.ingentaconnect.com/content/wfbi/sim/2013/00000076/00000001/art00007;jsessionid=1n5r7t5e2nefq.x-ic-live-01
- Reilly, C.C.; Wood, W.W.; Stevenson, K.I. 2010.- Relationship of shoot dieback in pecan to fungi and fruiting stress. HortScience 45 (1): 87-91.
- Rista, L.M.; Maumary, R.; Gariglio, N.F.; Favaro, J.C. 2011. *Botryosphaeria dothidia* (Moug.) afectando plantaciones de manzano y duraznero de la región centro-este de Santa Fe. Revista FAVE - Ciencias Agrarias 10 (1-2). ISSN 1666-7719
- Rotem, J. 1994. The genus *Alternaria*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 326 pp.
- Saharan, G.S. 1974. *Botryosphaeria* nut rot of pecan. Plant Disease Reporter 58 (11): 1030-1031.
- Secretaria de Comunicación del Gobierno de Entre Ríos. 2023. Entre Ríos representa en el nivel nacional el 50 por ciento de las superficies plantadas de nuez pecan por hectárea. https://noticias.entrerios.gov.ar/notas/entre-ros-representa-en-el-nivel-nacional-el-50-por-ciento-de-las-superficies-plantadas-de-nuez-pecn-por-hectrea.htm consultado 20/07/2023.
- Slippers, B.; Crous, P.W.; Jami, Fahimeh; Groenewald, J.Z.; Wingfield, M.J. 2017. Diversity in the Botryosphaeriales: looking back, looking forward. Fungal Biology 121: 307-321.
- Slippers, B.; Smit, W.A.; Crous, P.W.; Coutinho, T.A.; Wingfield, B.D.; Wingfield, M.J. 2007. Taxonomy, phylogeny and identification of Botryosphaeriaceae associated with

pome and stone fruit trees in South Africa and other regions of the world. Plant Pathology 56: 128-139.

- Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. CAN International, Wallingford, Great Britain.

- Trabichet, F.; Pepe, F.; Wright, E. R. 2017. Capítulo 5: Enfermedades del pecan. Pp. 61-64. En: Madero, E.R.; Trabichet, F.C.; Pepé, F. Wright, E.R. 2017. Manual de manejo del huerto de nogal pecán. INTA Ediciones. Colección Recursos. 96 pp.inta.gob.ar/documentos/manual-de-manejo-de-huerto-de-nogal-pecan

- Urías García, E. 2013. Evolución del rendimiento y calidad de la nuez en el Norte de México. XIV Simposio Internacional de Nogal Pecanero. pp. 69-75.

- Wang, D.; Zhang, Y.B.; Chang, J.; Meng, K.; Shu, J.P.; ZAhai, F.Y. 2021. First report of fruit black spot of pecan (*Carya illinoensis*) caused by *Botryosphaeria dothidea* in China. Plant disease 105: 2731.

- Wright, E.R; Folgado, M; Rivera, M; Crelier, A; Vásquez, P y López, S. 2008. *Nigrospora sacchari* causing leaf spot, twig and shoot blight on blueberry: a new host of the pathogen. Plant Disease 92:171.

- Wright, E.R.; Mandolesi, A.; Rivera, M.C.; Pérez, B.A. *Neofusicoccum parvum,* blueberry pathogen in Argentina. 2012. Acta Horticulturae 926: 619-621.