



Acta Botanica
Mexicana

Identificación del alga *Cephaleuros virescens* s.l. en plantas de zarzamora (*Rubus* sp.) en el estado de Michoacán, México

Identification of the alga *Cephaleuros virescens* s.l. in blackberry plants (*Rubus* sp.) in the state of Michoacán, Mexico

Jazmín Cortés Martínez¹, Samuel Cruz-Esteban^{1,2}, Edith Garay-Serrano^{1,2,3}

Resumen:

Antecedentes y Objetivos: Las especies de algas que conforman el género *Cephaleuros* inducen enfermedades en más de 300 especies de plantas en todo el mundo. En México se ha identificado que *Cephaleuros virescens* infecta hojas de aguacate, guayaba, limón y mango. En el cultivo de zarzamora solo se ha reportado en los Estados Unidos de América. En este trabajo se planteó identificar, en plantas de zarzamora (*Rubus* sp. cv. Tupy), al agente causal de la enfermedad “mancha naranja” que afecta las plantas de ese fruto en dos áreas del estado de Michoacán. Esta representa un problema fitosanitario y ecológico por los agroquímicos utilizados para combatirla.

Métodos: Para identificar al agente causal, se examinó el tejido de los tallos de zarzamora infectados caracterizando estructuras y comparando con los datos de especies relacionadas: *C. diffusus*, *C. parasiticus* y *C. virescens*. Adicionalmente, se integraron datos moleculares al extraer el ADN de tejido de manchas naranjas colectadas en campo en dos sitios de muestreo, se realizó la amplificación de las regiones ITS y 18S del ADN y las secuencias obtenidas, junto con secuencias de *Cephaleuros* de América, Sudáfrica y Asia de GenBank, se integraron en una matriz de datos para la realización de los análisis filogenéticos.

Resultados clave: Con análisis morfológicos y moleculares, se identificó a *C. virescens sensu lato* (s.l.) como el agente causal de las manchas que se propagan a lo largo de los tallos de zarzamora, principalmente en plantas de tercer y cuarto año. Hasta la fecha, *C. virescens* afectaba exclusivamente al cultivo de zarzamora en el sureste de los Estados Unidos de América.

Conclusiones: El manchado naranja en los tallos de zarzamora es causado por el alga *Cephaleuros virescens* (s.l.). El presente estudio representa el primer reporte de esta especie afectando zarzamora en México. Los análisis filogenéticos permiten concluir que se trata de la misma especie que provoca la enfermedad en zarzamora en los Estados Unidos de América.

Palabras clave: berries, fitopatógenos, infección, mancha naranja.

Abstract:

Background and Aims: The species of algae that integrate the genus *Cephaleuros* induce diseases in more than 300 plant species worldwide. In Mexico, only *Cephaleuros virescens* has been identified infecting avocado, guava, lemon and mango leaves. In blackberry cultivation, only have been reported in the United States of America. This work aimed to identify the causal agent of the disease “orange spot” that affects blackberry plants (*Rubus* sp. cv. Tupy) in two areas of Michoacán, which represents a phytosanitary and ecological problem due to the agrochemicals used to combat it.

Methods: To identify the causal agent, tissue from infected stems was examined for structures. Measurements were compared with data from related species: *C. diffusus*, *C. parasiticus*, and *C. virescens*. In addition, molecular data were integrated by extracting DNA from tissue of orange spots collected in the field at two sampling sites, amplification of the ITS and 18S DNA regions was performed and the sequences obtained, together with sequences of *Cephaleuros* from America, South Africa, and Asia from GenBank, were integrated into a data matrix for phylogenetic analyses.

Key results: Following morphological and molecular analyses, *C. virescens sensu lato* (s.l.) was identified as the causal agent of the spots spreading along blackberry stems, mainly on third- and fourth-year plants. To date, *C. virescens* had only been reported on blackberry stems in the southeastern United States of America.

Conclusions: Orange spotting on blackberry canes is caused by the alga *Cephaleuros virescens* (s.l.). This represents the first report of this species affecting blackberry in Mexico. Following phylogenetic analyses, it has been concluded that this is the same species that causes the disease on blackberries in the United States of America.

Key words: berries, infection, orange spot, phytopathogens.

¹Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, Red de Diversidad Biológica del Occidente Mexicano, Avenida Lázaro Cárdenas 253, 61600 Pátzcuaro, Michoacán, México.

²Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), Avenida Insurgentes Sur 1582, 03940 Cd. Mx., México.

³Autor para la correspondencia: edith.garay@inecol.mx

Recibido: 28 de septiembre de 2023.

Revisado: 27 de octubre de 2023.

Aceptado por Marie-Stéphanie Samain: 27 de noviembre de 2023.

Publicado Primero en línea: 29 de noviembre de 2023.

Publicado: Acta Botanica Mexicana 130(2023).



Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia Creative Commons 4.0

Atribución-No Comercial (CC BY-NC 4.0 Internacional).

Citar como: Cortés Martínez, J., S. Cruz-Esteban y E. Garay-Serrano. 2023. Identificación del alga *Cephaleuros virescens* s.l. en plantas de zarzamora (*Rubus* sp.) en el estado de Michoacán, México. Acta Botanica Mexicana 130: e2260. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm130.2023.2260>

e-ISSN: 2448-7589

Introducción

En el reino Plantae existen diversas relaciones interespecíficas; entre ellas destacan las del tipo fitopatogénico debido a que causan enfermedades en plantas, tanto en cultivadas como en ornamentales, con consecuencias económicas importantes. Se estima que alrededor de 2500 especies vegetales pueden infectar plantas vasculares (Agrios, 2005). Aunque los muérdagos son las plantas patógenas más conocidas (Agrios, 2005), existen otros organismos relevantes debido al amplio rango de hospederos que pueden afectar. Este es el caso de algunas algas verdes del phylum Chlorophyta, cuyas especies parásitas se encuentran en los géneros *Cephaleuros* Kunze ex E.M. Fries, *Phyllosiphon* Kühn y *Rhodochytrium* Lagerheim (Joubert y Rijkenberg, 1971; Agrios, 2005; Aboal y Werner, 2011). De estos grupos taxonómicos, *Cephaleuros* contiene 18 especies reconocidas en AlgaeBase (Guiry y Guiry, 2023); todas ellas fitopatógenas: *C. aucubae* Suto & Ohtani, *C. biolophus* Thompson & Wujek, *C. diffusus* Thompson & Wujek, *C. drouetii* Thompson & Wujek, *C. endophyticus* (F.E. Fritsch) Printz, *C. expansus* Thompson & Wujek, *C. henningsii* Schmidle, *C. japonicus* Suto & Ohtani, *C. karstenii* Schmidle, *C. lagerheimii* Schmidle, *C. microcellularis* Suto & Ohtani, *C. minimus* Karsten, *C. parasiticus* Karsten, *C. pilosa* Thompson & Wujek, *C. pilosus* Thompson & Wujek, *C. solutus* Karsten, *C. tumidae-setae* Thompson & Wujek y *C. virescens* Kunze ex E.M. Fries.

Cephaleuros virescens se ha reportado como un fitopatógeno que afecta a casi 300 especies cultivadas, causando daños en las hojas de diversos cultivos tales como anacardo, arándano, baya coral, cacao, café, camelia, chirimoya, ciruela, coco, jazmín, magnolia, mamey, membrillo, palma de aceite, panapén, pimienta, vainilla, yuca y zapote (Malagi et al., 2011). Estos daños se han registrado en Australia, Brasil, Colombia, Costa Rica, China, Etiopía, Estados Unidos de América, India, Japón, Korea, Pakistán, Perú y Taiwán (Wolf, 1930; Holcomb et al., 1998; Garrido y Piffil Diez, 2007; Nelson, 2008; Han et al., 2011; Suto et al., 2014; Browne et al., 2020; Patrice et al., 2021; Dechassa y Merga, 2022; Shen et al., 2022). En México, se ha reportado infectando limón en el estado de Colima (Orozco-Santos et al., 2014), así como guayaba, mango (Quezada

Gutiérrez et al., 2009) y aguacate en Michoacán (Téliz-Ortiz y Mora-Aguilera, 2007).

Por otro lado, desde 2019 se ha observado de forma persistente una enfermedad en zarzamora en dos áreas de Michoacán, que se ha nombrado como “la mancha naranja”. Se caracteriza por presentar manchas redondeadas, de aspecto afelpado y de color naranja, que pueden observarse tanto en la parte superior de los tallos (también denominados cañas) como en la base de la planta. Debido a la presencia de síntomas con tonalidades naranjas, los productores habían sospechado de algún tipo de roya o alga que afectaba los tallos de zarzamora de tercer o cuarto año de crecimiento (Comm. pers., 2019). La mancha naranja se ha convertido en un problema significativo, pues los agroquímicos utilizados para combatir otros patógenos no han logrado reducir su incidencia en la zarzamora.

Es importante destacar que la creciente demanda internacional de frutillas o berries, entre los que se encuentra la zarzamora, ha impulsado la producción de este fruto en México (SADER, 2021). El país se sitúa en el primer lugar a nivel mundial en la producción de esta frutilla, con un total de 215,923 toneladas (SADER, 2021; SIAP, 2022). En México, Michoacán es el principal estado productor de zarzamora contribuyendo con 97% de la producción a nivel nacional en 2022, siendo los Estados Unidos de América el principal cliente, que acapara 93.1% del total exportado (SIAP, 2022).

Dado el significativo valor del cultivo en Michoacán, se recolectaron muestras de tallos (cañas) de zarzamora afectados por la mancha naranja con el propósito de identificar el fitopatógeno responsable de la enfermedad mediante análisis morfológicos y moleculares.

Materiales y Métodos

Recolección de muestras

Se recolectaron en las localidades de Taretan y Chupio, Michoacán, México (Fig. 1) cañas de *Rubus* sp. cv. Tupy afectadas por mancha naranja. El clima en Taretan se clasifica como subtropical húmedo, caracterizado por lluvias durante la temporada de verano, con una precipitación pluvial anual de 1560 mm y temperaturas entre 14.4 y 29.66 °C (INAFED, 2020). Por otro lado, en Chupio el clima es cálido



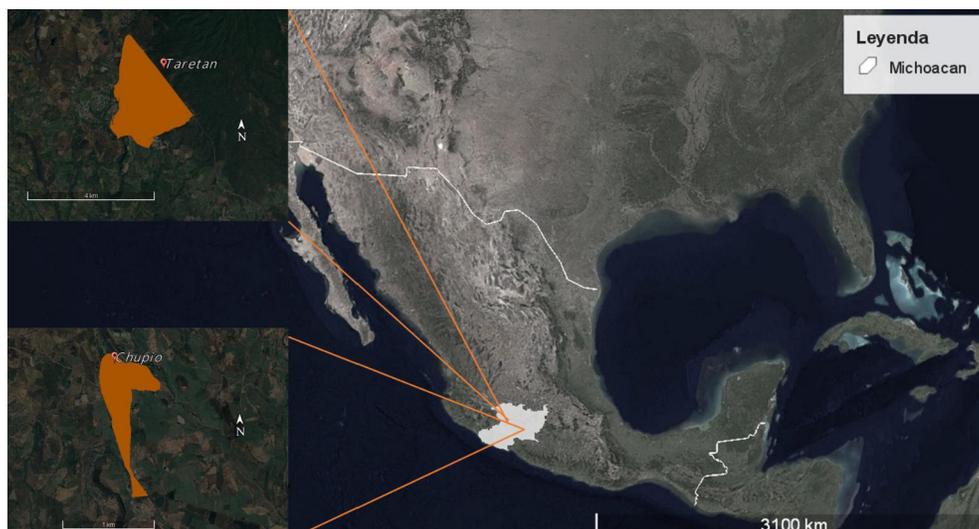


Figura 1: Lugares de colección de tallos de zarcamora cv. Tupy afectados por mancha naranja en Taretan y Chupio, Michoacán, México. Realizado por Jazmín Cortés Martínez en Google Earth Pro v. 7.3.6.9345 (Google Earth Pro, 2022).

subhúmedo, con lluvias también en verano, una precipitación pluvial entre 900 y 1300 mm y temperaturas entre 18 y 24 °C (INEGI, 2010).

Las muestras de Taretan (19.34° latitud, -101.92° longitud, 1170 m s.n.m.) se recolectaron en abril y septiembre 2019, y en enero y marzo 2020. Las muestras procedentes de Chupio (19.18° latitud, -101.44° longitud, 1160 m s.n.m.) se obtuvieron en marzo 2021.

Las cañas afectadas se cortaron en los fragmentos que presentaban infección activa, con tijeras de poda previamente desinfectadas con alcohol al 96%. Estos fragmentos se almacenaron individualmente en bolsas de papel estraza debidamente etiquetadas. En total, se recopilaron 25 muestras (cañas afectadas), cada una de diferentes individuos. Los fragmentos de tallo se transportaron en una hielera a 4 °C y se mantuvieron refrigerados a la misma temperatura en el laboratorio de Ecología del Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, en Pátzcuaro, Michoacán, México.

Identificación del organismo y análisis micromorfológicos

La identificación del agente causal de la mancha naranja se llevó a cabo en primer lugar mediante la caracterización de los síntomas de la planta y las estructuras del organismo. Las lesiones en los tallos afectados se observaron utilizan-

do un microscopio estereoscópico Carl Zeiss, Stemi 305 (Göttingen, Alemania). Se tomaron fotografías con la cámara fotográfica AxioCam ERc 5s (Göttingen, Alemania) y con el programa de cómputo Zeiss Zen Model 2012 (Jena, Alemania) y se compararon los síntomas de las zarcamoras con aquellos que se encontraban documentados en imágenes e información proveniente de artículos científicos y reportes técnicos (Thompson y Wujek, 1997; Suto y Ohtani, 2009; Suto et al., 2014; Pitaloka et al., 2015; Sunpapao et al., 2016; Browne et al., 2020).

Para examinar las estructuras micromorfológicas, se obtuvieron muestras del tejido infectado extrayéndolo directamente de la zona afectada, con una aguja de disección esterilizada. Las muestras se transfirieron a una solución de KOH al 3%, y posteriormente se distribuyeron en un portaobjetos que se cubrió con un cubreobjetos. Las laminillas se examinaron bajo un microscopio óptico Carl Zeiss, Primostar 1 (Göttingen, Alemania) en las que se observaron las estructuras, su color, tamaño y forma. Utilizando la regla de medición del microscopio óptico Leica, Serie Galen III (Buffalo, EUA), con las mismas preparaciones, se midió el ancho y largo de 25 esporangióforos, 20 vesículas, y el diámetro de 27 zoosporangios y gametangios. Se calcularon los promedios y se estableció el rango de dimensiones para cada estructura con el fin de documentar la variabilidad en los elementos morfológicos de la especie. La morfología

observada se comparó con la descripción taxonómica disponible en las fuentes consultadas mencionadas en el párrafo anterior.

Análisis moleculares

A partir de las manchas color naranja en buen estado en los tallos de zarzamora, se seleccionaron tres muestras de la localidad de Taretan y otras tres de Chupio, con el fin de extraer el ADN genómico. La extracción se realizó con el Kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit de Promega. Luego, se procedió a amplificar la región 18S del ADN nuclear utilizando los iniciadores PNS1-F/NS41-R (Sunpapao y Pitaloka, 2015), así como la región ITS1-5.8S-ITS2 del ADN ribosomal con los primers ITS-9F (Nakayama et al., 1996) e ITS-7R (Hayakawa et al., 2012).

Las amplificaciones se llevaron a cabo siguiendo los protocolos descritos por Sunpapao y Pitaloka (2015) para la región 18S y lo reportado por Fang et al. (2021) para la región ITS. Los productos de PCR se remitieron a Macrogen (Seúl, Corea) para su purificación y secuenciación. Las secuencias resultantes se ensamblaron y revisaron utilizando el software Bioedit v. 7.2.5 (Hall, 1999) y se depositaron en GenBank (2023a).

Análisis filogenéticos

Se incorporaron las secuencias de DNA de los fitopatógenos de las seis muestras en una matriz de datos y se adicionaron las depositadas en GenBank y relacionadas con especies de *Rubus* L. como hospedero, además de algunas secuencias documentadas en los artículos de López-Bautista et al. (2006) y Fang et al. (2021), que incluyen secuencias de Asia, África y América. Se utilizaron dos secuencias de *Trentepohlia* C. Martius como grupo externo. Se crearon tres matrices: una para la región del espaciador interno transcrito 1-ARN ribosómico 5.8S-espaciador interno transcrito 2 o ITS1-5, 8S-ITS2 (con 27 secuencias), una segunda para el ARN ribosómico de subunidad pequeña o 18S (que incluía 32 secuencias), y una tercera matriz de datos integrada por secuencias de ambos marcadores concatenados.

Las secuencias de ITS o 18S se alinearon utilizando el programa Mafft v. 7 (Katoh et al., 2019). Se determinó el

mejor modelo evolutivo para cada conjunto de datos utilizando el software MEGA v. 11.0.10 (Tamura et al., 2021). La inferencia filogenética se realizó mediante el método de máxima verosimilitud (MV) con 1000 réplicas bootstrap en el programa MEGA y mediante inferencia Bayesiana utilizando el programa MrBayes v. 3.2.7a (Ronquist et al., 2012). El Cuadro 1 muestra las secuencias utilizadas en este estudio.

Resultados

Presencia de la enfermedad de mancha naranja en zarzamora

Al revisar los tallos de plantas de zarzamora de las localidades de Chupio y Taretan, se observó que los síntomas de mancha naranja presentes en las muestras eran muy semejantes macroscópicamente. La enfermedad en ambas localidades se manifiesta con síntomas distintivos: inicialmente, se presentan manchas redondeadas, notorias al superar 1 cm de ancho, con aspecto compacto y finamente pubescente de color anaranjado en la superficie de la caña (Fig. 2A). Con el tiempo maduran, pueden unirse con otras manchas y cambian gradualmente a un tono verde grisáceo expandiéndose a lo largo del tallo (Fig. 2A). Además de los síntomas visibles en los tallos, es posible observar signos del patógeno, como esporangióforos, en el envés de las hojas. Sin embargo, esta infección suele ser poco profusa y dispersa, que no llega a formar una mancha completa. En el entorno natural, la infección comienza en la parte superior de la caña con manchas aisladas, pero a medida que la enfermedad se desarrolla, se extiende formando un patrón salpicado que se propaga hacia la base de la planta. Esto puede cubrir gran parte de la superficie del tallo y en muchos casos provoca la decadencia o incluso la muerte de la planta. La enfermedad puede afectar a las zarzamoras de segundo corte, siendo las plantas de tercer y cuarto corte las más vulnerables. Las plantas jóvenes no suelen ser afectadas por este patógeno. La enfermedad está presente durante todo el año, pero su desarrollo es más activo durante la temporada de lluvias, que suele ser de junio a septiembre. En la época de sequía, el patógeno depende de las condensaciones de agua para completar su ciclo de vida.



Cuadro 1: Secuencias y números de acceso de GenBank (2023a, b) de especies de algas del género *Cephaleuros* Kunze ex E.M. Fries utilizadas para los análisis filogenéticos. Las secuencias de *Trentepohlia* C. Martius se usaron como grupo externo. Las muestras adicionales en este estudio se señalan en negritas.

Especie de alga	No. identificación	País de colecta	Fuente de colecta	ITS	18S
<i>Cephaleuros diffusus</i> Thompson & Wujek	YN517	China	hojas	MT507415	MT507314
<i>C. diffusus</i> Thompson & Wujek	GD1924	China	hojas	MT507441	MT507342
<i>C. drouetii</i> Thompson & Wujek	QXS29	China	hojas	MT507453	MT507357
<i>C. expansus</i> Thompson & Wujek	GD1919	China	hojas	MT507472	-
<i>C. cf. expansus</i>	GD1314	China	hojas	KX586806	KX586903
<i>C. henningsii</i> Schmidle	GX1342	China	hojas	KX586827	KX586937
<i>C. karstenii</i> Schmidle	DZ1312	China	hojas	KX586784	KX586875
<i>C. karstenii</i> Schmidle	BN16-1	China	hojas	MT507397	MT507296
<i>C. karstenii</i> Schmidle	YN1019	China	hojas	KX586843	KX586957
<i>C. karstenii</i> Schmidle	YNE13	China	no se especifica	MT507408	MT507307
<i>C. lagerheimii</i> Schmidle	GX1816	China	corteza de betel	MT507396	MT507292
<i>C. parasiticus</i> Karsten	GD1927	China	hojas	MT507422	MT507322
<i>C. parasiticus</i> Karsten	GD1952	China	hojas	MT507424	MT507324
<i>C. parasiticus</i> Karsten	UTEX 2412	USA	no se especifica	-	DQ399583
<i>C. tumidae-setae</i> Thompson & Wujek	BN3	China	hojas	MT507459	MT507364
<i>C. tumidae-setae</i> Thompson & Wujek	QXS27	China	hojas	MT507454	MT507358
<i>C. virescens</i> Kunze ex E.M. Fries	FJ1315	China	hojas	KX586798	KX586892
<i>C. virescens</i> Kunze ex E.M. Fries	FJ1201	China	hojas	KX586792	KX586884
<i>C. virescens</i> Kunze ex E.M. Fries	SY1301	China	hojas	KX586835	KX586948
<i>C. virescens</i> Kunze ex E.M. Fries	DZ1904	China	hojas	MT507418	MT507318.1
<i>C. virescens</i> Kunze ex E.M. Fries	GD1943	China	hojas	MT507452	MT507356
<i>C. virescens</i> Kunze ex E.M. Fries	SAG 25.83	Sudáfrica	no se especifica	JX866795.1	KM020143.1
<i>C. virescens</i> Kunze ex E.M. Fries	SAG 42.85	Taiwán	no se especifica	MW862262.1	KM020147.1
<i>C. virescens</i> Kunze ex E.M. Fries	Cams4	Taiwán	<i>Camellia sinensis</i>	ON040862.1	-
<i>C. virescens</i> Kunze ex E.M. Fries	WH-OCB3	USA	Cañas de <i>Rubus fruticosus</i> L.	-	MN637833.1
<i>C. virescens</i> Kunze ex E.M. Fries	WH-P	USA	Cañas de <i>Rubus fruticosus</i> L.	-	MN637832
<i>C. virescens</i> Kunze ex E.M. Fries	Sin ID	USA	Navaho	-	DQ399584
<i>C. virescens s.l</i>	An2	México	Cañas de <i>Rubus</i> sp.	OR587854	OR583174
<i>C. virescens s.l</i>	An3	México	Cañas de <i>Rubus</i> sp.	OR587855	OR583175
<i>C. virescens s.l</i>	An5	México	Cañas de <i>Rubus</i> sp.	-	OR583176
<i>C. virescens s.l</i>	An6	México	Cañas de <i>Rubus</i> sp.	-	OR583177
<i>Trentepohlia abietina</i> (Flotow ex Kützing) Hansgirg	GD1352	China	tronco	KX586810.1	KX586907.1
<i>Trentepohlia jolithus</i> (Linnaeus) Wallroth	YJG	China	roca	KX586842.1	KX586956.1



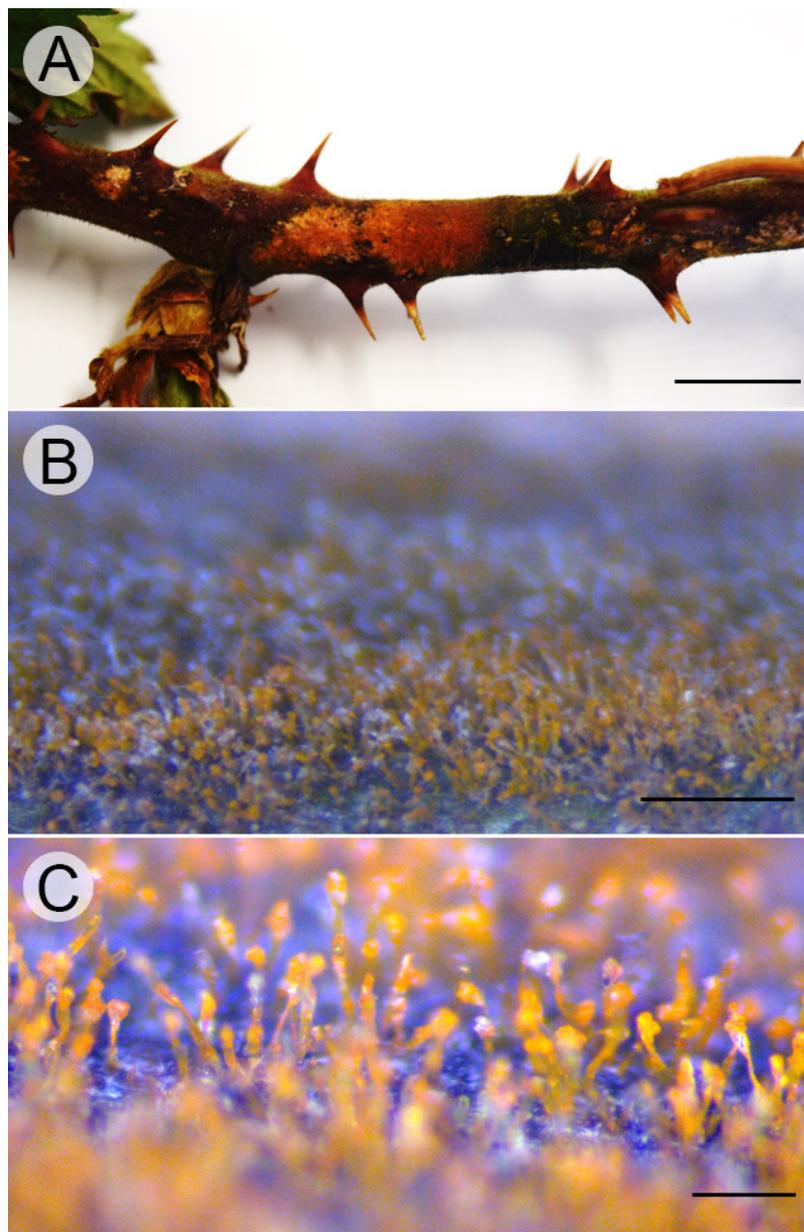


Figura 2: Síntomas y signos de la enfermedad de la mancha naranja en la planta de zarzamora. A. tallos con manchas redondas y aterciopeladas; B. superficie del tallo en la que se proyectan esporangióforos; C. múltiples esporangióforos maduros color naranja y esporangióforos jóvenes de color traslúcido. Escalas: A=1 cm, B=200 μ m, C=500 μ m.

Características micromorfológicas del alga fitopatógena

Al revisar con el microscopio estereoscópico a los organismos que conforman las manchas naranjas en los tallos de zarzamora cv. Tupy en Chupio y Taretan, se detectó la presencia de estructuras algales multicelulares filamentosas anaranjadas que cubren toda la superficie (Fig. 2B) y que constituyen los esporangióforos del fitopatógeno (Fig. 2C), coincidiendo con elementos que tienen algunas especies

del género *Cephaleuros* (Brooks et al., 2015). Al microscopio óptico, el talo o cuerpo del alga presentó una forma redondeada y compacta, sin huecos visibles. De este talo se proyectaron esporangióforos (sp) alargados, que variaron de color naranja a amarillento. Cada uno de estos esporangióforos desarrolló una vesícula (HC) de la cual emergieron 1-3 células sulfutorias (SC). Cada una de estas células sostiene un esporangio (S) también conocido como zoosporangio (Fig. 3A,B). En los esporangios, las células sulfutorias

(SC) presentaron un ángulo pronunciado (Fig. 3B) Además de los esporangióforos, en el talo también se encontraron setas (z) multicelulares con un extremo distal redondeado (Fig. 3C). El zoosporangio es redondo a subgloboso al madurar sostenido por el esporangióforo (sp) (Fig. 3D). Dentro de estos zoosporangios se desarrollan las zoosporas.

Tres algas fitopatógenas del género *Cephaleuros* presentan los elementos morfológicos observados (talo, esporangios, gametangios, células sulfatorias), aunque varían en tamaño y forma. En el Cuadro 2, se comparan los datos reportados para tres especies relacionadas: *C. diffusus*, *C. parasiticus* y *C. virescens*, junto con la especie en estudio.

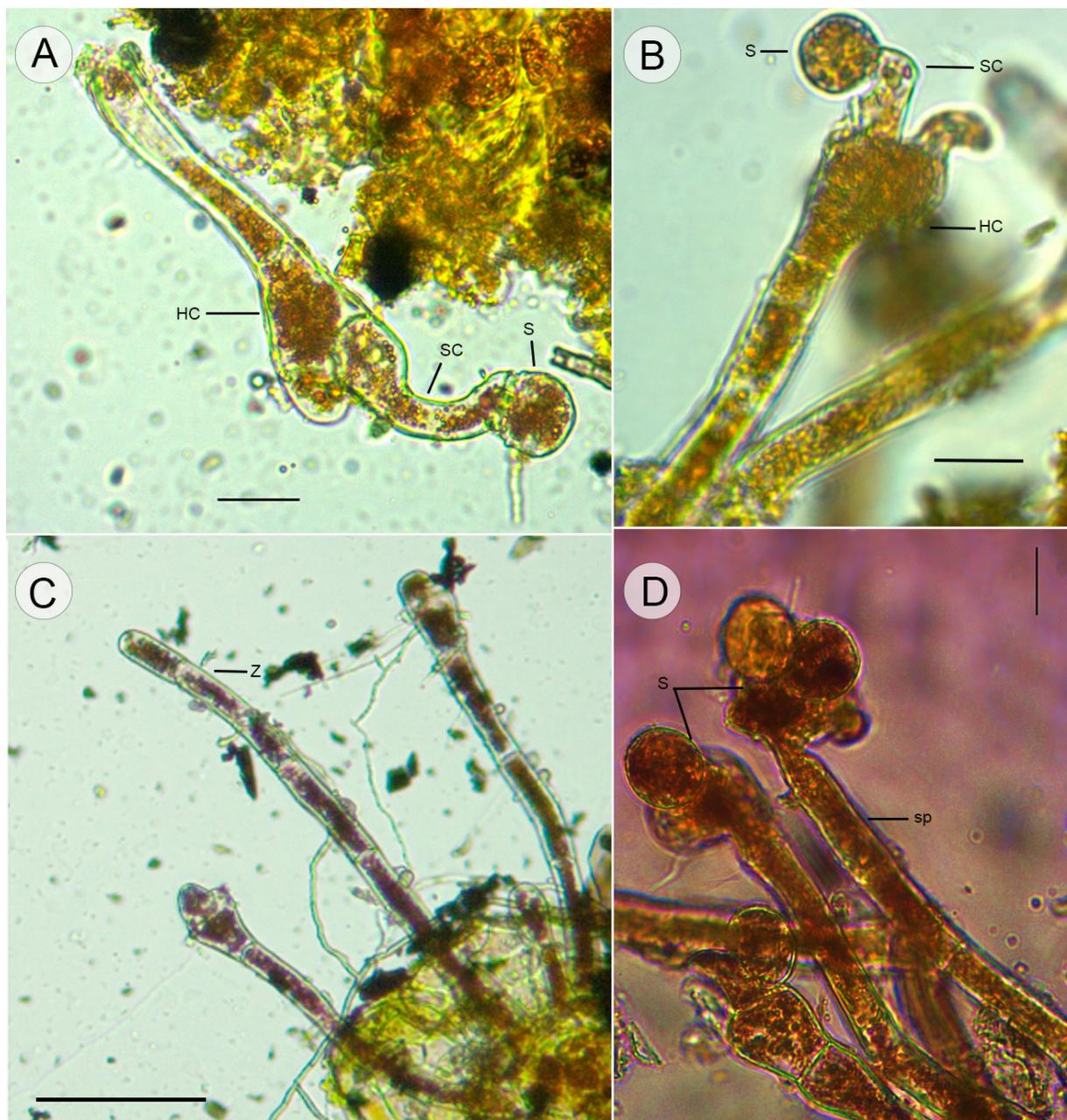


Figura 3: Estructuras del alga *Cephaleuros* Kunze ex E.M. Fries, observación al microscopio óptico. A. esporangióforo en formación desarrollando una vesícula (HC), célula sulfatoria (SC), esporangio (S); B. zoosporangio de forma redonda, acompañado de una célula sulfatoria (SC) alargada con un ángulo característico de *Cephaleuros virescens* Kunze ex E.M. Fries; C. seta (z) con terminación redondeada y esporangióforos en proceso de diferenciación; D. zoosporangios (s) redondos sostenidos por múltiples esporangióforos (sp). Escalas: fotos A, B y D=20 μ m, C=50 μ m.

Cuadro 2: Características de las estructuras de tres especies de algas fitopatógenas del género *Cephaleuros* Kunze ex E.M. Fries comparadas con la especie de estudio. Datos referidos en ¹Thompson y Wujek, 1997; ²Suto y Ohtani, 2009; ³Suto et al., 2014; ⁴Pitaloka et al., 2015; ⁵Sunpapao y Pitaloka, 2015; ⁶Sunpapao et al., 2016.

Elemento	Mancha naranja en este estudio	<i>Cephaleuros diffusus</i> Thompson & Wujek ^{1,5}	<i>Cephaleuros parasiticus</i> Karsten ^{3,6}	<i>Cephaleuros virescens</i> Kunze ex E.M. Fries ^{2,4}
Forma de talo	Redonda, sin espacios	Disco circular con expansión radial	No se reporta	Disco irregular sin huecos, o redonda
Setas	Filamento delgado, cilíndrico, con extremo distal redondeado	Filamento cilíndrico	Sin setas	Filamento delgado con punta globular a elíptica, compuesto de cinco células
Esporangióforo (largo × ancho μm)	De la base hasta la vesícula, 98-168(129.7) de largo	250-440(350.5) × 10-12.5(10.5)	232.5- 490(335.6) × 10-22.5(12.7)	Medida de la base hasta las células de la vesícula 252-430 (320.4) × 10-20 (17)
Vesícula (largo × ancho μm)	33.3-28 (33.3) × 25.2-30.8 (28.4)	No se reporta	No se reporta	No se reporta
Célula filamentososa o sulfutoria	Larga y cilíndrica	Corta, cilíndrica e irregular	Irregular, difícil de medir, Se desarrollan debajo de la célula epidérmica	Corta o larga cilíndrica
Esporangio (largo × ancho μm)	17-26(20) × 15-21(18)	12.5-27.5(15.5) × 10-20 (15)	20-30(25.08) × 15-25(18.8)	17-27 × 15-21
Gametangio (largo × ancho μm)	29- 58 × 20-42	12.5-32.5 × 12.5-22.5	No se reporta	29-58 × 18-43
Número de esporangios	2 a 3	No se reporta	4 a 6	2 a 3

Trabajo molecular y análisis filogenético

Se obtuvieron seis secuencias de *Cephaleuros*. De estas, cuatro son del marcador 18S ADNr (dos de Taretan y dos de Chupio) y dos secuencias de la región ITS de Chupio; las muestras de Taretan no amplificaron con este último marcador. Las secuencias obtenidas se han registrado en GenBank bajo los números de acceso OR583174 - OR583177 para la región 18S y OR587854 - OR587855 para el marcador ITS.

En el análisis filogenético, se incluyeron 58 secuencias de *Cephaleuros*, incorporando las seis secuencias generadas en esta investigación. La matriz de datos correspondiente al marcador 18S consistió en 31 secuencias, cada una con la longitud de 953 pb. Por otro lado, en la base de datos del marcador ITS1+5.8S+ITS2 se integraron 27 secuencias, con un alineamiento total de 691pb. Para los datos del 18S, el modelo evolutivo que mejor se ajusta a los datos fue TIM2+I+G, mientras que, para las secuencias de ITS, TIM3+G.

Los árboles filogenéticos basados en la secuencia de ITS y 18S mostraron una mejor resolución utilizando el

método de máxima verosimilitud (MV), ya que generaron pocas politomías, aunque los clados recuperados con la misma topología tuvieron mejor soporte con probabilidad bayesiana (Fig. 4). Tanto en el enfoque de MV como en el análisis Bayesiano, las secuencias de *Cephaleuros* que afectan a las zarzamoras en Michoacán se agruparon de manera consistente en la misma topología. El análisis reveló que las muestras de *Cephaleuros* de Michoacán (Fig. 4) formaron un clado, junto con muestras de los Estados Unidos de América que también afectan a *Rubus* sp., con una alta probabilidad bayesiana (1). Es importante destacar que varias secuencias identificadas en GenBank como *C. virescens* y *C. parasiticus* se distribuyeron a lo largo de la filogenia, mientras que las secuencias de Michoacán y los Estados Unidos de América se agruparon fuera de los nueve clados identificados por Fang et al. (2021). Estos autores, al analizar secuencias de ITS ADNr de varias especies de *Cephaleuros* provenientes de Asia y África, observaron que se agrupaban en nueve clados distintos.



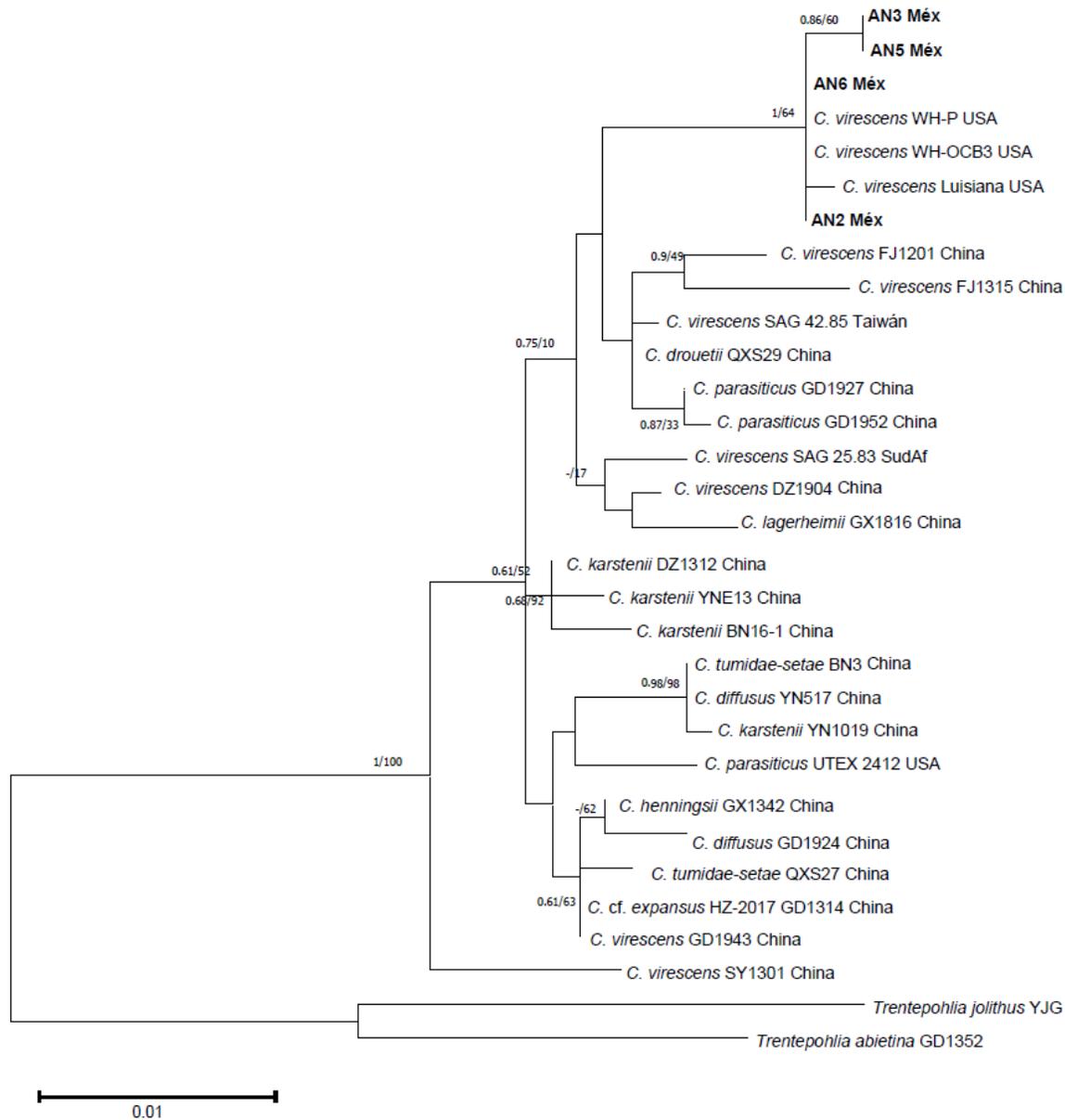


Figura 4: Filogenia de especies de *Cephaleuros* Kunze ex E.M. Fries inferida con secuencias de 18S, analizadas con máxima verosimilitud y 1000 repeticiones de Bootstrap. En los nodos se indican los valores de soporte de las probabilidades posteriores bayesianas (PP) y las de Bootstrap (BP). Las secuencias de *Trentepohlia* C. Martius se usaron como grupo externo. Las nuevas secuencias generadas en este estudio se indican en negritas.

Discusión

Nuestro estudio mostró que las características del organismo causal de las manchas naranjas en las muestras tomadas en las localidades de estudio (Chupio y Taretan) corresponden al género de algas *Cephaleuros*. La presencia de esporangióforos pedicelados que sostienen esporangios laterales, a través de células sulfutorias, concuerda con las descripciones realizadas por Brooks et al. (2015). Es im-

portante destacar que estas características difieren de las de otros dos géneros de algas fitopatógenas descritos por Procházková et al. (2016) para *Phyllosiphon* y por Atkinson (1908) para *Rhodochytrium*.

En el continente americano se han reportado dos especies de *Cephaleuros* como patógenas: *C. virescens* que afecta los cultivos de aguacate, guayaba, limón, mango y zarzamora (Téliz-Ortiz y Mora-Aguilera, 2007; Nelson, 2008;



Quezada-Gutiérrez et al., 2009; Orozco-Santos et al., 2014; Browne et al., 2020) y *C. parasiticus* que induce enfermedades en bromelias (Sanahuja et al., 2018) y guayabas (Nelson, 2008). Los síntomas observados en la zarzamora de Michoacán coinciden con los causados por *C. virescens*: inicialmente aparecen manchas amarillas redondas que con el tiempo se tornan anaranjadas, a menudo con una apariencia aterciopelada; luego, estas manchas cambian a un tono verde grisáceo a medida que maduran (Marlatt y Alfieri, 1981). Esto contrasta con los síntomas producidos por *C. parasiticus*, que genera manchas anaranjadas en las hojas, que son amarillas en el centro y afelpadas (Suto et al., 2014). En bromelias estas manchas son de color verde grisáceo y pueden evolucionar a manchas oxidadas (Ramya et al., 2013).

La sintomatología en los tallos de zarzamora en Michoacán podría asemejarse a la inducida por *C. diffusus*, que también genera manchas anaranjadas y se oxidan con el tiempo (Sunpapao y Pitaloka, 2015). Sin embargo, al considerar la evidencia microscópica, se descarta *Cephaleuros diffusus* debido al tamaño de los esporangios, que en *C. diffusus* son más pequeños ($12.5-27.5(15.5) \times 10-20(15) \mu\text{m}$) (Sunpapao et al., 2016), en comparación con los de *C. parasiticus*, que son más grandes ($20-30(25.08) \times 15-25(18.8) \mu\text{m}$). Por otro lado, los esporangios de *C. virescens* ($17-27 \times 15-21 \mu\text{m}$) en muestras de *Magnolia grandiflora* L. y *Persea thunbergii* (Siebold & Zucc.) Kosterm. reportados por Suto y Ohtani (2009) en Japón son similares en tamaño a los observados en los tallos de zarzamora en Michoacán ($17-26(20) \times 15-21(18) \mu\text{m}$). El tamaño del gametangio de *C. diffusus* ($12.5-32.5 \times 12.5-22.5 \mu\text{m}$) es menor al de las muestras de zarzamora en Michoacán ($29-58 \times 20-42 \mu\text{m}$), que se asemeja al de *C. virescens* ($29-58 \times 18-43 \mu\text{m}$) (Suto y Ohtani, 2009; Pitaloka et al., 2015). Además, las muestras en Michoacán se diferencian de *C. parasiticus* en que este último tiene de 4 a 6 esporangios (Suto et al., 2014), mientras que la especie en Michoacán tiene de 2 a 3. La célula sulfatoria del alga estudiada es inclinada hacia el centro y acodada, en concordancia con los informes de *C. virescens* (Browne et al., 2020), mientras que en *C. diffusus* esta célula es más corta e irregular (Sunpapao y Pitaloka, 2015). También difiere de la célula de *C. parasiticus*, que es irregular y difícil de medir (Suto et al., 2014).

En los análisis filogenéticos se integraron datos de los genes 18S e ITS de las tres especies relacionadas: *C. diffusus*, *C. parasiticus* y *C. virescens* de Asia, África y América. En este estudio no se encontraron secuencias del género *Cephaleuros* provenientes de México en la base de datos GenBank del National Center for Biotechnology Information (GenBank, 2023b), pero sí de los Estados Unidos de América, incluso de zarzamora. Las secuencias de 18S del ADNr del alga fitopatógena de zarzamora en Michoacán se agrupan con las WH-P y WH-OCB3 de *C. virescens* de los Estados Unidos de América, cuyo hospedero es *Rubus fruticosus* L. (Fig. 4). Al compararlas, se encontró un alto porcentaje de similitud que oscila entre 96.7 y 100%. Estos especímenes de Michoacán y de los Estados Unidos de América se encuentran fuera de los agrupamientos considerados por Fang et al. (2021), en los que se integraron secuencias de Asia y África. Los representantes de los nueve clados recuperados por ellos fueron incluidos en el análisis de este artículo, y las muestras de *Cephaleuros virescens* de zarzamora de México y Estados Unidos de América se separan claramente de ellos. Por lo tanto, las secuencias de *C. virescens* en el continente americano son distintas de las encontradas en Asia y África.

La filogenia de ITS y 18S del ADNr revela una falta de resolución que dificulta la distinción entre *C. virescens*, *C. parasiticus* e incluso *C. diffusus*. Esto se debe a la presencia de varias secuencias identificadas como estas especies en diferentes clados. Por lo tanto, la delimitación de las especies de *Cephaleuros* requiere un enfoque taxonómico integral que involucre la inclusión de ejemplares tipo de estas especies y la recolección de más muestras de las áreas donde se recolectaron los tipos (Fang et al., 2021). Con base en esta información y en la concordancia de nuestras muestras con las características morfológicas y dimensiones descritas previamente para *C. virescens* por Suto y Ohtani (2009) y Pitaloka et al. (2015), así como en la afinidad filogenética con las secuencias de *Cephaleuros* que infectan zarzamora de los Estados Unidos de América, hemos decidido designar a los organismos que causan la mancha naranja de zarzamora en las zonas colectadas de Michoacán como *C. virescens sensu lato*.

Las afectaciones en las zarzamoras causadas por *Cephaleuros virescens* se habían registrado exclusivamen-



te en los Estados Unidos de América. El primer informe de esta enfermedad afectando los tallos se remonta a 1997 en Arkansas y Luisiana (Holcomb et al., 1998). Con el tiempo, la enfermedad se ha extendido a otras regiones de ese país, incluyendo Georgia y Florida, y en 2020 se encuentra en el sureste de ese país a lo largo de la costa del Golfo (Browne et al., 2020). En los Estados Unidos de América la enfermedad suele aparecer a principios de otoño y se expande durante el invierno y la primavera, con una mayor presencia en junio (Browne et al., 2020).

Para México, en el caso de Chupio y Taretan, los productores refieren que la enfermedad de la mancha naranja está presente durante todo el año y afecta principalmente a las plantas de tercer o cuarto año de crecimiento. Su incidencia es más alta durante la temporada de lluvias (junio a septiembre), ya que las películas de agua en la planta, así como las escorrentías, sirven como medio para la movilidad de las zoosporas y su reproducción (Nelson, 2008). El aire también actúa como medio de propagación, ya que las zoosporas de las plantas afectadas se desplazan hacia las nuevas primocañas al entrar en contacto unas con otras (Suto y Ohtani, 2011).

En Taretan la producción de zarzamora ha disminuido y los costos de prevención de la enfermedad han aumentado (Comm. pers., 2019). Esto se debe a que se requiere incrementar la frecuencia de las fumigaciones: en lugar de cada cuatro a cinco días, cuando la enfermedad está en alta incidencia, se aumenta a una aplicación preventiva cada ocho días. Además, las plantas deben ser reemplazadas con mayor frecuencia (Comm. pers., 2019). Es de suma importancia llevar a cabo estudios sobre el proceso de infección y los mecanismos de control de esta alga, ya que provoca afectaciones secundarias en las plantas por el ataque de fitopatógenos oportunistas que han tomado relevancia, especialmente durante la temporada de lluvias y debido a su potencial asociación con la muerte de tallos y plantas (Joubert y Rijkenberg, 1971; Aboal y Werner, 2011).

En conclusión, después de examinar las manchas naranjas en los tallos de zarzamora cv. Tupy en dos localidades ubicadas en la zona central de Michoacán, pudimos confirmar la presencia de estructuras algales multicelulares filamentosas. Estas estructuras presentaban esporangióforos pedicelados que sostenían varios esporangios laterales,

los cuales a su vez eran sostenidos por una célula sulfitoria. Tras analizar las características, concluimos que el organismo causal de estas manchas corresponde al género de algas *Cephaleuros*. Los resultados encontrados son de importancia para el diagnóstico, así como para prever el desarrollo de métodos de control de esta enfermedad.

Contribución de autores

JCM, SCE y EGS colectaron material vegetativo en campo. JCM llevó a cabo el trabajo de laboratorio, diseñó los cuadros y figuras y compiló la información de las especies relacionadas. EGS realizó el trabajo molecular y los análisis filogenéticos. JCM y EGS interpretaron los datos y redactaron el escrito. Todos los autores contribuyeron a la discusión y revisión, y aprobaron el manuscrito final.

Financiamiento

Los recursos para llevar a cabo esta investigación provinieron del presupuesto fiscal del Instituto de Ecología, A.C. (INECOL), asignado a SCE y EGS.

Agradecimientos

Al Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, por facilitar el uso de equipos e instalaciones de los laboratorios de Biología Molecular, Ecología y Microscopía. A José Manuel Cruz Palacios por la asistencia en el laboratorio. A los productores de zarzamora de Taretan y Chupio, por su amabilidad y por permitirnos muestrear tallos de plantas de zarzamora.

Literatura citada

- Aboal, M. y O. Werner. 2011. Morphology, fine structure, life cycle and phylogenetic analysis of *Phyllosiphon arisari*, a siphonous parasitic green alga. *European Journal of Phycology* 46(3): 181-192. DOI: <https://doi.org/10.1080/09670262.2011.590902>
- Agrios, G. N. 2005. *Plant pathology*. Elsevier Academic Press. San Diego, USA. 950 pp. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02037-6>
- Atkinson, G. F. 1908. A parasitic alga, *Rhodochytrium spilanthis* Lagerheim, in North America. *International Journal of Plant Sciences (antes Botanical Gazette)* 46(4): 299-301. DOI: <https://doi.org/10.1086/329720>



- Brooks, F., F. Rindi, Y. Suto, S. Ohtani y M. Green. 2015. The Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta): an unusual algal order and its novel plant pathogen—*Cephaleuros*. *Plant Disease* 99(6): 740-753. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-15-0029-FE>
- Browne, F. B., P. M. Brannen, H. Scherm, E. A. Richardson y J. R. Taylor. 2020. Yield Response to Orange Cane Blotch of Blackberry Grown in the Georgia Coastal Plain. *Plant Disease* 104(1): 161-167. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-19-0389-RE>
- Dechassa, N. y M. Merga. 2022. Tea (*Camellia sinensis*) Production, Opportunities, Challenges, and Future Prospects in Ethiopia. *Advances in Agriculture* 2022: 1942666. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/1942666>
- Fang, J., S. Li, B. Liu, G. Liu, Z. Hu y H. Zhu. 2021. Molecular phylogeny and morphology of *Cephaleuros* (Trentepohliales, Chlorophyta) from southern China. *Phycologia* 60(3): 189-199. DOI: <https://doi.org/10.1080/00318884.2021.1884799>
- Garrido, R. y E. Pisfil Diez. 2007. Presencia de la Mancha afelpada *Cephaleuros virescens*. *Manglar* 5(1): 27-32.
- GenBank. 2023a. National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (consultado, septiembre de 2022).
- GenBank. 2023b. Base de datos del National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (consultado, junio-julio de 2022).
- Google Earth. 2022. Google Earth Pro, v. 7.3..6.9345 <https://www.google.com/intl/es-419/earth/> (consultado, noviembre de 2023).
- Guiry, M. D. y G. M. Guiry. 2023. AlgaeBase World-wide electronic publication. National University of Ireland. Galway, Irlanda. <https://www.algaebase.org> (consultado, mayo de 2023)
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium series* 41: 95-98.
- Han, K. S., M. J. Park, J. H. Park y H. D. Shin. 2011. First report of algal leaf spot associated with *Cephaleuros virescens* on greenhouse-grown *Ficus benghalensis* in Korea. *Australasian Plant Disease Notes* 6: 72-73. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13314-011-0024-8>
- Hayakawa, Y. I., T. Ogawa, S. Yoshikawa, K. Ohki y M. Kamiya. 2012. Genetic and ecophysiological diversity of *Cladophora* (Cladophorales, Ulvophyceae) in various salinity regimes. *Phycological Research* 60(2): 86-97. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.2012.00641.x>
- Holcomb, G. E., S. R. Vann y J. B. Buckley. 1998. First report of *Cephaleuros virescens* in Arkansas and its occurrence on cultivated blackberry in Arkansas and Louisiana. *Plant Disease* 82(2): 263-263. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.2.263B>
- INAFED. 2020. Taretan. Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED). <http://www.inafed.gob.mx> (consultado, marzo de 2023).
- INEGI. 2010. Compendio de información geográfica municipal 2010-Tacámbaro, Michoacán de Ocampo. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Tacámbaro, México. 10 pp.
- Joubert, J. J. y F. H. J. Rijkenberg. 1971. Parasitic green algae. *Annual Review of Phytopathology* 9(1): 45-64. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.py.09.090171.000401>
- Katoh, K., J. Rozewicki y K. D. Yamada. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics* 20(4): 1160-1166. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>
- Lopez-Bautista, J. M., F. Rindi y M. D. Guiry. 2006. Molecular systematics of the subaerial green algal order Trentepohliales: an assessment based on morphological and molecular data. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56(7): 1709-1715. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63990-0>
- Malagi, G., I. D. Santos, S. M. Mazaró y C. A. Gugins. 2011. Detection of algal leaf spot (*Cephaleuros virescens* Kunze) in *Citrus* in Paraná State. *Revista Brasileira de Agrociência* 17(1): 148-152.
- Marlatt, R. B. y S. A. Alfieri, Jr. 1981. Hosts of *Cephaleuros*, a parasitic alga in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 94: 311-317.
- Nakayama, T., S. Watanabe, K. Mitsui, H. Uchida e I. Inouye. 1996. The phylogenetic relationship between the Chlamydomonadales and Chlorococcales inferred from 18S rDNA sequence data. *Phycological Research* 44(1): 47-55. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.1996.tb00037.x>



- Nelson, S. C. 2008. *Cephaleuros* species, the plant-parasitic green algae. *Plant Disease* 43: 1-6.
- Orozco-Santos, M., M. M. Robles-González, J. J. Velázquez-Monreal, M. A. Manzanilla-Ramírez, M. J. Bermúdez-Guzmán, S. H. Carrillo-Medrano, V. M. Medina-Urrutia, L. M. Hernández-Fuentes, R. Gómez-Jaimes, G. Manzo-Sánchez, J. Farías-Larios, D. Nieto-Ángel, E. Mijangos-Hernández, J. A. Sánchez-de la Torre y S. Varela-Fuentes. 2014. El limón mexicano (*Citrus aurantifolia*)-Libro Técnico Núm. 1. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Centro de Investigación Regional Pacífico Centro (CIRPAC), Campo Experimental Tecomán. Tecomán, México. 477 pp.
- Patrice, N. D. J., M. S. Bertrand, H. Alain, K. T. W. Norbert, A. D. Baba, T. T. D. Brice, D. Bouba y A. Zachée. 2021. Characterization of red rust disease caused by *Cephaleuros virescens* Kunze on cashew nut in the Sudano-Sahelian ecological zone of Cameroon. *Pakistan Journal of Phytopathology* 33(1): 17-27. DOI: <https://doi.org/10.33866/phytopathol.033.01.0634>
- Pitaloka, M. K., V. Petcharat, S. Arikrit y A. Sunpapao. 2015. *Cephaleuros virescens*, the cause of an algal leaf spot on Para rubber in Thailand. *Australasian Plant Disease Notes* 10: 4. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13314-015-0158-1>
- Procházková, K., Y. Němcová y J. Neustupa. 2016. *Phyllosiphon ari* sp. nov. (*Watanabea* clade, Trebouxiophyceae), a new parasitic species isolated from leaves of *Arum italicum* (Araceae). *Phytotaxa* 283(2): 143-154. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.283.2.3>
- Quezada-Gutiérrez, M. C., M. Díaz-Celaya, M. R. Gregorio-Cipriano, G. Rodríguez-Alvarado y S. P. Fernández-Pavía. 2009. Mancha algal en guayabo (*Psidium guajava* L.) y mango (*Mangifera indica* L.) ocasionada por *Cephaleuros virescens* en Michoacán, México. *Biológicas* 11(1): 87-92.
- Ramya, M., P. Ponmurugan y D. Saravanan. 2013. Management of *Cephaleuros parasitica* Karst (Trentepohliales: Trentepohliaceae), an algal pathogen of tea plant, *Camellia sinensis* (L) (O. Kuntze). *Crop Protection* 44: 66-74. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.10.023>
- Ronquist, F., M. Teslenko, P. van der Mark, D. L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M. A. Suchard y J. P. Huelsenbeck. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. *Systematic Biology* 61(3): 539-542. DOI: <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- SADER. 2021. Zarzamora, la frutilla número uno de México. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/zarzamora-la-frutilla-numero-uno-de-mexico> (consultado, noviembre de 2023).
- Sanahuja, G., P. Lopez, A. J. Palmateer y A. R. Chase. 2018. Red Rust of *Neoregelia* Bromeliads Caused by a Parasitic Alga *Cephaleuros parasiticus* in Florida. *Plant Health Progress* 19(1): 27-33. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHP-11-17-0068-RS>
- Shen, Y. M., H. Y. Hsiao y T. C. Huang. 2022. A review of *Cephaleuros* in Taiwan, with description of *C. parasiticus* on Asian pear tree as a new record. *Phytomedicine*, 64(2): 35-52. DOI: [https://doi.org/10.6716/JPM.202206_64\(2\).0001](https://doi.org/10.6716/JPM.202206_64(2).0001)
- SIAP. 2022. Estadística de Producción Agrícola. Avance de Siembras y Cosechas, México. Servicio e Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos_a.php (consultado, noviembre de 2023).
- Sunpapao, A. y M. Pitaloka. 2015. A new record of plant parasitic green algae, *Cephaleuros diffusus* (Trentepohliaceae, Chlorophyta), on *Acacia auriculiformis* hosts in Thailand. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 16(2): 116-120. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d160202>
- Sunpapao, A., N. Thithuan, P. Bunjongsiri y S. Arikrit. 2016. *Cephaleuros parasiticus*, associated with algal spot disease on *Psidium guajava* in Thailand. *Australasian Plant Disease Notes* 11(12): 1-4. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13314-016-0199-0>
- Suto, Y., E. K. Ganesan y J. A. West. 2014. Comparative observations on *Cephaleuros parasiticus* and *C. virescens* (Trentepohliaceae, Chlorophyta) from India. *Algae* 29(2): 121-126. DOI: <https://doi.org/10.4490/algae.2014.29.2.121>
- Suto, Y. y S. Ohtani. 2009. Morphology and taxonomy of five *Cephaleuros* species (Trentepohliaceae, Chlorophyta) from Japan, including three new species. *Phycologia* 48(4): 213-236. DOI: <https://doi.org/10.2216/07-31.1>



- Suto, Y. y S. Ohtani. 2011. Morphological features and chromosome numbers in cultures of five *Cephaleuros* species (Trentepohliaceae, Chlorophyta) from Japan. *Phycological Research* 59(1): 42-51. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.2010.00600.x>
- Tamura, K., G. Stecher y S. Kumar. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38(7): 3022-3027. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Téliz-Ortiz, D. y A. Mora-Aguilera. 2007. El aguacate y su manejo integrado. Editorial Mundi Prensa. Cd. Mx., México. 321 pp.
- Thompson, R. H. y D. E. Wujek. 1997. Trentepohliales: *Cephaleuros*, *Phycopeltis* and *Stomatochroon*: morphology, taxonomy, and ecology. Science publishers, Inc. Enfield, USA. 194 pp.
- Wolf, F. A. 1930. A parasitic alga, *Cephaleuros virescens* Kunze, on citrus and certain other plants. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society* 45(2): 187-205.

