

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



VARIABILIDAD MORFOLÓGICA, PATOGENICA Y MOLECULAR DE
Neopestalotiopsis spp EN FRESA EN EL ESTADO DE MICHOACÁN

Tesis

Que presenta LIZETH ALEJANDRA VELASCO LOPEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2025

VARIABILIDAD MORFOLÓGICA, PATOGENICA Y MOLECULAR DE
Neopestalotiopsis spp EN FRESA EN EL ESTADO DE MICHOACÁN

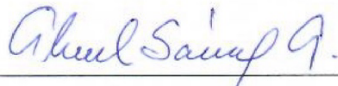
Tesis

Elaborado por LIZETH ALEJANDRA VELASCO LOPEZ como requisito parcial
para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Parasitología Agrícola en la
supervisión y aprobación del comité de asesoría



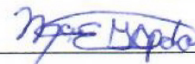
Dr. Epifanio Castro del Angel

Director de Tesis



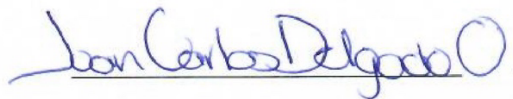
M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor



Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda

Asesor



Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz

Asesor



Dr. Antonio Flores Naveda

Subdirector de Postgrado

UAAAN

AGRADECIMIENTOS

A mi **ALMA MATER** y al **Departamento de Parasitología** por los mejores años de formación académica que pude tener y por darme la oportunidad de conocer a muchos amigos que se volvieron familia.

Agradezco sinceramente al **Dr. Epifanio Castro del Ángel** por su apoyo constante, sus palabras de aliento y la paciencia con la que guió este trabajo.

A la **Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda**, al **M.C. Abiel Sánchez Arizpe** y al **Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz**, por su tiempo, apoyo y valiosas orientaciones para el desarrollo de este trabajo.

A **María Cristina Sánchez Flores** por su apoyo, atención y amistad brindados durante y después de la finalización de este proyecto de tesis.

Al **Dr. Isidro Humberto Almeyda León**, por brindarme la oportunidad de realizar una estancia en su laboratorio y por compartir sus valiosos conocimientos.

Al **Dr. Raúl Rodríguez Guerra**, por su disposición, orientación y el aprendizaje transmitido durante mi estancia.

A la **Dra. Kenzy Iveth Peña Carrillo**, por su apoyo y por las enseñanzas que enriquecieron significativamente mi formación académica.

A la creadora de Sci-Hub, **Alexandra Elbakyan**, por su valiente labor en favor del acceso abierto al conocimiento. Su proyecto me permitió acceder a información valiosa y me recordó que la ciencia solo avanza cuando el conocimiento se comparte.

DEDICATORIA

A mi madre

Juana López López, mi mayor inspiración y motivo para seguir adelante. Gracias por tu amor incondicional, por creer en mí incluso cuando yo dudaba, y por ser mi apoyo constante en cada paso de este camino. Todo lo que he logrado es también tuyo.

A mi abuela

Mariela López López, por su apoyo incondicional, por motivarme siempre a seguir adelante y por hacer que cada regreso a casa estuviera lleno de cariño y de mis comidas favoritas.

A mis amigos

Maythe Morales, Carmen Guijón, Lizeth Almendra, Magda Zuñiga, por compartir este viaje y hacerlo inolvidable.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA	iv
ÍNDICE GENERAL	v
LISTA DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS	4
HIPÓTESIS	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
Historia y origen del cultivo	5
Importancia económica de la fresa	5
Principales enfermedades de la fresa en causadas por hongos.....	6
<i>Podosphaera aphanis</i>	6
<i>Colletotrichum acutatum</i>	6
<i>Phomopsis obscurans</i>	6
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	7
<i>Mycosphaerella fragariae</i>	7
<i>Fusarium oxysporum</i>	7
<i>Botrytis cinerea</i>	8
<i>Neopestalotiopsis</i> spp	8
Historia de <i>Neopestalotiopsis</i>.....	8
Características morfológicas.....	9
Panorama global y nacional de <i>Neopestalotiopsis</i> spp. asociadas al cultivo de fresa.....	10

Variabilidad patogénica y distribución de <i>Neopestalotiopsis</i> spp. asociadas al cultivo de fresa.....	10
Diversidad y relevancia fitopatológica de <i>Neopestalotiopsis</i> en México.....	13
Métodos de control de <i>Neopestalotiopsis</i> en cultivos de fresa	14
Control químico	15
Alternativas de control.....	15
Métodos para la caracterización genética y evaluación de la diversidad en hongos	
patógenos.....	16
Uso de marcadores RAPD en la identificación genética y análisis de diversidad	16
Variabilidad genética en hongos y Oomycetos fitopatógenos	17
Grupos de compatibilidad micelial como indicador de diversidad	17
ITS como indicador de diversidad	18
<i>MATERIALES Y MÉTODOS</i>	20
Recolección y aislamiento del patógeno.....	20
Caracterización morfológica y morfometría	20
Extracción de ADN	21
Amplificación de la región ITS	21
Construcción del árbol filogenético de ITS.....	22
Amplificación RAPD	22
Grupos de compatibilidad micelial	23
<i>RESULTADOS</i>	24
Recolección de muestras y aislamiento del patógeno.....	24
Morfometría.....	24
Extracción de ADN	25
Amplificación de la región ITS	26
Análisis filogenético basado en la región ITS	26
Amplificación RDP's.....	27
Compatibilidad micelial	31

<i>DISCUSIÓN</i>	33
<i>CONCLUSIONES</i>	37
<i>REFERENCIAS</i>	38

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Especies de <i>Neopestalotiopsis</i> reportadas como agentes causales de la pudrición de la corona, raiz y fruto.	11
Tabla 2. Número de fragmentos, fragmentos polimórficos y % de polimorfismo por iniciador (individuales y mezclados).....	28
Tabla 3. Información sobre el PIC promedio por iniciador e índice de Shannon promedio por iniciador.	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de las secciones medidas en las conidias de <i>Neopestalotiopsis</i> spp.	25
Figura 2. Visualización de ADN genómico de aislados de <i>Neopestalotiopsis</i> sp. en gel de agarosa al 3%.	26
Figura 3. Árbol filogenético inferido a partir de secuencias ITS1–ITS4 de <i>Neopestalotiopsis</i> spp. de fresa en Michoacán. El análisis en IQ-TREE (modelo K2P+G4, 10,000 réplicas bootstrap) mostró que las cepas estudiadas se agrupan con <i>N. rosae</i> (MN385720.1), evidenciando variabilidad genética intraespecífica.	27
Figura 4. Patrón representativo de bandas amplificadas con los iniciadores P31/P35 en gel de poliacrilamida de <i>Neopestalotiopsis</i> spp.	28
Figura 5. Relaciones genéticas de 17 cepas de <i>Neopestalotiopsis</i> spp. recolectadas en distintas localidades del estado de Michoacán, obtenidas mediante el coeficiente de Nei-Li a partir de los datos generados con cinco marcadores RAPD aplicados de manera individual.	30
Figura 6. Análisis de Coordenadas Principales (ACP) de los aislamientos de <i>Neopestalotiopsis</i> basado en los perfiles de amplificación obtenidos.	31
Figura 7. Interacciones miceliales entre aislamientos de <i>Neopestalotiopsis</i>, evidenciando reacciones de compatibilidad entre cepas.	32
Figura 8. Interacciones miceliales entre aislamientos de <i>Neopestalotiopsis</i>, evidenciando reacciones de incompatibilidad entre cepas.	32

RESUMEN

VARIABILIDAD MORFOLÓGICA, PATOGÉNICA Y MOLECULAR DE
Neopestalotiopsis spp EN FRESA EN EL ESTADO DE MICHOACÁN
POR

LIZETH ALEJANDRA VELASCO LOPEZ

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PARASITOLOGIA AGRICOLA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. EPIFANIO CASTRO DEL ÁNGEL -DIRECTOR DE TESIS-

Saltillo, Coahuila.

Diciembre 2025

La fresa (*Fragaria x ananassa*) es un cultivo de gran importancia económica en México, donde *Neopestalotiopsis rosae* ha sido identificada como el principal patógeno asociado con pudriciones en raíz, corona y fruto. Aunque en distintas regiones del mundo se han reportado varias especies de *Neopestalotiopsis* afectando la fresa, en México solo se ha confirmado la presencia de *N. rosae*. En este estudio se evaluó la variabilidad genética de 17 aislados de *Neopestalotiopsis* spp. mediante marcadores moleculares RAPD y pruebas de compatibilidad micelial. Los resultados mostraron amplificaciones consistentes y un nivel moderado de polimorfismo, con valores de PIC y del índice de Shannon que evidencian una diversidad genética apreciable. Asimismo, las pruebas de compatibilidad revelaron la existencia de distintos grupos vegetativos, lo que sugiere cierta heterogeneidad genética dentro de la población analizada. En conjunto, los resultados confirman que *Neopestalotiopsis* spp. presenta una diversidad genética moderada, cuya base podría explorarse más a fondo en estudios futuros.

Palabras clave: Diversidad genética, Marcadores RAPD, Polimorfismo, Compatibilidad micelial.

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL, PATHOGENIC, AND MOLECULAR VARIABILITY OF
Neopestalotiopsis spp IN STRAWBERRY IN THE STATE OF MICHOACAN

BY

LIZETH ALEJANDRA VELASCO LOPEZ

MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURAL PARASITOLOGY
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. EPIFANIO CASTRO DEL ÁNGEL- ADVISOR-

Saltillo, Coahuila

December 2025

Strawberry (*Fragaria x ananassa*) is a crop of great economic importance in Mexico, where *Neopestalotiopsis rosae* has been identified as the main pathogen associated with root, crown, and fruit rot. Although several *Neopestalotiopsis* species have been reported affecting strawberries worldwide, only *N. rosae* has been confirmed in Mexico. In this study, the genetic variability of 17 isolates of *Neopestalotiopsis* spp. was assessed using RAPD molecular markers and mycelial compatibility tests. The results showed consistent amplifications and a moderate level of polymorphism, with PIC and Shannon index values indicating appreciable genetic diversity. Mycelial compatibility tests also revealed different vegetative groups, suggesting a degree of genetic heterogeneity within the population. Overall, the findings indicate that *Neopestalotiopsis* spp. exhibits moderate genetic diversity, the underlying causes of which warrant further investigation.

Keywords: Genetic diversity, RAPD markers, Polymorphism, Mycelial compatibility.

INTRODUCCIÓN

En México, la fresa se cultiva en 16 de las 32 entidades federativas, siendo Michoacán, Baja California y Guanajuato los principales estados productores y concentran la mayor parte de la producción nacional (SIAP, 2024). Sin embargo, las enfermedades emergentes causadas por el hongo *Neopestalotiopsis rosae*, han representado un desafío en el cultivo fresa en nuestro país (Rebollar et al., 2020). Este patógeno ha sido identificado como el agente causal de manchas foliares en hojas y de la pudrición de la raíz y corona provocando una reducción de hasta un 70% en el rendimiento (Acosta González, 2022; Olivares-Rodríguez et al., 2024).

Las especies de *Neopestalotiopsis* asociadas al cultivo de fresa suelen provocar un conjunto de síntomas similares, que incluyen manchas foliares, pudrición del fruto y, en casos severos, necrosis en corona y raíces. Si bien pueden existir variaciones leves en la expresión de los síntomas según el órgano afectado o las condiciones ambientales, el cuadro general de la enfermedad tiende a ser consistente entre especies. En Norteamérica (EE. UU. y Canadá), por ejemplo, *N. rosae* y otras especies del género han sido vinculadas principalmente con manchas foliares y pudrición del fruto, afectando la calidad comercial de la cosecha. Estudios en Florida y California también describen manifestaciones más severas, con marchitez y muerte de plantas bajo alta presión de enfermedad (Baggio et al., 2021; Lawrence et al., 2023). Reportes en Ontario y otras regiones templadas coinciden en la presencia concomitante de manchas foliares y pudrición del fruto, subrayando la importancia de la conservación de la calidad del fruto en la cadena productiva (McNally et al., 2023; Rotondo et al., 2023).

En Sudamérica, las infecciones por *Neopestalotiopsis* suelen manifestarse con mayor frecuencia como podredumbre de corona y raíz, signos que afectan la estabilidad y el vigor de las plantas y que obligan a renovar plantas infectadas en viveros. Trabajos en Argentina y Ecuador documentaron principalmente podredumbre de corona/raíz asociada a *N. clavispora* y *N. mesopotamica*, respectivamente, lo que indica una tendencia a atacar órganos subterráneos o a nivel del cuello de la planta en esas poblaciones (Obregón et al., 2018; Hidrobo-Chavez et al., 2022). Informes de Uruguay también respaldan esta

sintomatología, lo que sugiere patrones regionales de daño sistémico en ciertas condiciones agronómicas (Machín et al., 2019).

En Europa se han descrito tanto tizones foliares y manchas como podredumbres de corona, dependiendo de la especie y localidad. En Italia y España se han registrado episodios críticos de podredumbre de corona al que han atribuido a *N. clavispora* y especies cercanas, mientras que en Alemania se observó tanto tizón foliar como afectación del fruto (Chamorro et al., 2016; Gilardi et al., 2019; Schierling et al., 2024).

En Asia, los informes describen una amplia gama de síntomas: desde tizones del cáliz y del receptáculo hasta marchitamiento por pudrición de raíz. En regiones como Taiwán y China continental se han notificado tanto lesiones foliares y pudrición de fruto como afecciones radiculares que conducen a marchitez, confirmando que algunas cepas asiáticas tienden a causar síntomas severos que comprometen tanto rendimiento como supervivencia de plantas (Wu et al., 2021; Shi et al., 2022). Asimismo, descripciones recientes en India indican la capacidad de ciertas especies de provocar afectación simultánea de hojas, raíces y frutos, situación crítica en sistemas de producción con altas densidades de plantación (Rakhonde et al., 2025).

Por ello, estudiar la variabilidad genética en hongos fitopatógenos es esencial para anticipar y controlar brotes de enfermedades, ya que poblaciones con gran diversidad tienen mayor probabilidad de generar variantes resistentes a fungicidas o capaces de evadir cultivares con resistencia genética (Zhang et al., 2023).

Sin embargo, aunque la secuenciación completa de genoma sea más adecuado para el estudio de especies, este suele ser costoso y tardado. Por ello, se han desarrollado alternativas basadas en marcadores moleculares de ADN que utilizan la técnica de PCR. Entre ellos, los RAPD continúan siendo una herramienta útil para detectar diversidad genética (Oliveira y Azevedo, 2022). Kermani et al. (2016) realizaron estudios donde las variaciones genéticas tanto intra como interespecíficas en *Aspergillus* fueron detectadas utilizando RAPD-PCR a partir de muestras atmosféricas. De acuerdo con Valencia-Ledezma et al. (2022), esta técnica permite explorar la variabilidad genética al generar patrones de amplificación específicos que reflejan diferencias entre organismos. Su eficacia ha sido comprobada para distinguir especies con alta similitud morfológica,

como en el caso de *Aspergillus*, donde los perfiles obtenidos con distintos iniciadores lograron diferenciarlas con gran precisión.

De manera adicional la región ITS (Internal Transcribed Spacer) del ADN ribosomal se considera el marcador universal para hongos por su variabilidad y facilidad de amplificación, siendo clave en la identificación y análisis filogenético. Su uso como “DNA barcode” ha sido ampliamente validado, aunque puede presentar limitaciones de resolución en linajes crípticos (Schoch et al., 2012; Bellemain et al., 2010). Finalmente, los grupos de compatibilidad micelial (VCGs) constituyen una herramienta biológica que agrupa aislados capaces de formar heterocariones viables. En *Verticillium dahliae*, los VCGs han mostrado correlación con diversidad genética y distribución poblacional, aportando información valiosa sobre la epidemiología de los patógenos (Collado-Romero et al., 2006).

Diversas especies de *Neopestalotiopsis* se reconocen actualmente como agentes causales de enfermedades en fresa (*Fragaria x ananassa*), responsables de síntomas en hojas, corona y raíces (Baggio et al., 2021; Chamorro et al., 2016; Obregón et al., 2018). Estas evidencias sustentan el carácter patogénico del género y permiten discutir la variabilidad patogénica a partir de los antecedentes documentados, aun cuando no se hayan realizado pruebas de inoculación directa en este estudio. En el presente trabajo, se analizó la variabilidad morfológica y molecular de aislados obtenidos en Michoacán, complementando dicha caracterización con la información disponible en la literatura sobre su comportamiento patogénico.

En este contexto, el objetivo de este estudio fue analizar la diversidad genética de cepas de *Neopestalotiopsis* spp. obtenidos de cultivos de fresa en Michoacán, mediante el uso de marcadores RAPD, la evaluación de grupos de compatibilidad micelial y a sus relaciones filogenéticas basados en secuencias a partir de la región ITS.

OBJETIVOS

- I. Caracterizar la morfología de cepas de *Neopestalotiopsis* spp.
- II. Evaluar la variabilidad genética de cepas de *Neopestalotiopsis* spp. mediante marcadores moleculares RAPD e ITS.

HIPÓTESIS

Los aislados de *Neopestalotiopsis* spp. asociados al cultivo de fresa en Michoacán presentan una variabilidad morfológica y genética, evidenciable mediante análisis de secuencias ITS, marcadores RAPD, grupos de compatibilidad y morfometría.

REVISIÓN DE LITERATURA

Historia y origen del cultivo

Fragaria x ananassa, la fresa cultivada, es una especie alooctoploide considerada como uno de los cultivos domesticados más recientes, con una historia de domesticación de aproximadamente tres siglos. Este híbrido surgió en Europa a partir del cruce entre dos especies silvestres americana; *F. virginiana*, originaria de América del Norte, y *F. chiloensis*, procedente de Sudamérica (Hardigan et al., 2016; Liston et al., 2014; Whitaker et al., 2020). El encuentro entre ambas especies ocurrió en los jardines europeos a mediados del siglo XVII. Esta hibridación dio lugar a una nueva especie que daba lugar a frutos de mayor tamaño y mejor adaptación a las condiciones climáticas (Hancock, 2010).

Importancia económica de la fresa

La producción de fresa en México representa una de las actividades agrícolas de mayor relevancia dentro del sector hortofrutícola debido a su impacto económico. De acuerdo con los datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), en 2024 se sembraron 15,936.46 ha y se cosecharon 15,858.36 ha. La producción total nacional alcanzó las 696,112.63 t/ha, con un promedio de rendimiento de 43.9 t/ha y un precio medio rural (PMR) de \$24,706.56 por unidad medida, generando un valor total de producción estimado en \$17.198 millones de pesos (cifra originalmente reportada por SIAP en miles de pesos y convertida aquí a millones para facilitar su interpretación).

Entre las entidades productoras, Michoacán destaca como el principal estado productor, con 9,720 hectáreas cosechadas y una producción de 411,927.40 toneladas, lo que equivale al 59.2% de la producción nacional total. Este estado generó un valor económico de 9.206 millones de pesos. En segundo lugar, se encuentra Baja California, con 137,424.42 toneladas, que representan el 19.7% del total nacional, y un valor de 5.417 millones de pesos, a partir de una superficie cosechada de 2,958.4 hectáreas. En tercer lugar, se ubica Guanajuato, con una producción de 107,920.17 toneladas (15.5% del total) y un valor de 1.502 millones de pesos (SIAP, 2024).

Principales enfermedades de la fresa en causadas por hongos

Podosphaera aphanis

La fresa (*Fragaria x ananassa*) es un cultivo de alto valor económico y nutricional que, sin embargo, presenta una alta susceptibilidad a una amplia gama de patógenos fúngicos que afectan distintas etapas de su desarrollo. Entre las enfermedades más relevantes se encuentran las ocasionadas por *Podosphaera aphanis*, agente causal del oídio, que se manifiesta con micelio blanquecino sobre hojas y frutos, reduciendo la fotosíntesis y la calidad comercial del producto (Amorim et al., 2025; Simard et al., 2025).

Colletotrichum acutatum

Colletotrichum acutatum, agente causal de la antracnosis de la fresa, representa una amenaza significativa para la producción comercial, ya que puede permanecer asintomático durante la etapa de vivero, pero volverse altamente destructivo tras el trasplante a campo. La infección latente en plantas madre y trasplantes reduce el crecimiento vegetativo, el tamaño del dosel y el rendimiento de frutos, llegando a ocasionar pérdidas superiores al 40% (Daugovish et al., 2012).

Phomopsis obscurans

Phomopsis obscurans, responsable de la mancha foliar de la frutilla En estudios realizados en Serbia, este hongo fue detectado en plantas de fresa, aunque con baja frecuencia. Aún así, su relevancia radica en la capacidad de provocar lesiones necróticas en hojas, pecíolos y frutos, lo que compromete la fotosíntesis, la calidad del fruto y, en casos severos, la productividad del cultivo. Además, *Phomopsis obscurans* puede sobrevivir en restos vegetales y material de propagación, facilitando su diseminación entre ciclos productivos y su establecimiento en nuevas plantaciones (Tanović et al., 2014).

Sclerotinia sclerotiorum

Sclerotinia sclerotiorum es un hongo fitopatógeno que desencadena la marchitez y podredumbre blanca en diversos cultivos, entre ellos la fresa (*Fragaria x ananassa*). Esta enfermedad provoca el deterioro de los tejidos vegetales, afectando tanto la parte aérea como el sistema radicular y reduciendo significativamente el rendimiento del cultivo (Delgado et al., 2023).

Mycosphaerella fragariae

Mycosphaerella fragariae produce la mancha foliar en la fresa, una de las principales enfermedades que afectan la producción y la calidad del fruto, y que en etapas avanzadas puede llegar a provocar la pérdida total de la plantación (Rojas et al., 2023). En un estudio realizado durante dos años, se observó que el daño ocasionado por este patógeno disminuyó cerca del 90 % cuando se llevaron a cabo labores de saneamiento en primavera, consistentes en eliminar hojas muertas e infectadas. Asimismo, se registró una reducción aproximada del 50 % al emplear un sistema de siembra en una sola hilera en lugar de dos (Schmid et al., 2005).

Fusarium oxysporum

Fusarium oxysporum, identificado como uno de los principales agentes de la podredumbre de la raíz, una enfermedad que induce marchitamiento del follaje, secado y deterioro de las hojas más viejas, retraso en el crecimiento y una marcada reducción en la producción de frutos. En etapas avanzadas, las plantas terminan por colapsar y morir, mostrando una decoloración de tonalidad marrón a marrón anaranjado en los tejidos vasculares y corticales de la corona (Koike et al., 2009; Zhang et al., 2025).

Botrytis cinerea

Botrytis cinerea o moho gris es un hongo necrotrófico que tiene la capacidad de destruir las células del fruto mediante la producción de especies reactivas de oxígeno y toxinas, lo que provoca pérdidas considerables de producción tanto durante el desarrollo del cultivo como en la etapa de postcosecha (Rhouma et al., 2020). Durante el almacenamiento y transporte, *B. cinerea* se mantiene como la causa más importante de descomposición, reduciendo la vida útil de los frutos y generando pérdidas económicas significativas en la cadena de comercialización (Ling et al., 2025). A diferencia de la mancha foliar, ni el saneamiento de las hojas ni la eliminación de frutos dañados durante la cosecha logran reducir de manera significativa el daño causado por este patógeno, lo que evidencia la complejidad de su control (Schmid et al., 2005).

Neopestalotiopsis spp

En los últimos años, el cultivo de fresa ha enfrentado un incremento en la incidencia de enfermedades fúngicas emergentes y reemergentes, entre las que destaca *Neopestalotiopsis* sp., considerada una amenaza creciente para la producción. Este patógeno plantea importantes desafíos fitosanitarios debido a su alta variabilidad patogénica, la falta de información sobre la susceptibilidad de las variedades comerciales, la escasa disponibilidad de fumigantes efectivos y el conocimiento limitado acerca de sus fuentes de inóculo. Estas condiciones dificultan el diseño de estrategias de manejo integradas y aumentan el riesgo de pérdidas significativas en los sistemas de producción de fresa (Avilés et al., 2024).

Historia de *Neopestalotiopsis*

A mediados del siglo XIX, el micólogo italiano De Notaris realizó los primeros intentos para clasificar a los hongos multiseptados y dio origen al género *Pestalotia* para una sola especie, *Pestalotia pezizoides*, pero posteriormente se añadieron más especies que compartían morfología diversa que generó confusión taxonómica dentro de este grupo.

Así, casi un siglo después, Steyaert (1949) revisó de manera detallada el grupo y determinó que muchas especies atribuidas a *Pestalotia* no compartían los rasgos diagnósticos de la especie tipo. Por ello, se propuso el establecimiento de dos nuevos géneros, *Pestalotiopsis* y *Truncatella*. *Pestalotiopsis* abarcó hongos cosmopolitas con un amplio rango ecológico, que podían comportarse como sapróbicos, endófitos o patógenos oportunistas en diversos cultivos de importancia económica.

En años más recientes, gracias a los avances de las técnicas moleculares, se reevaluó la clasificación del complejo del género *Pestalotiopsis*. Maharachchikumbura et al. (2014) realizaron un estudio filogenético detallado utilizando secuencias multilocus de regiones génicas como ITS, β -tubulina y *tefl- α* aunado a las observaciones morfológicas confirmaron una divergencia. Los resultados llevaron a los autores proponer la segregación de *Pestalotiopsis* en tres géneros distintos: *Pestalotiopsis*, *Neopestalotiopsis* y *Pseudopestalotiopsis*. Respecto a las características morfológicas que los diferencian, *Neopestalotiopsis* presenta células medianas versicolas y conidióforos indistintos mientras que *Pseudopestalotiopsis* se diferencia de *Pestalotiopsis*, por las células medianas oscuras y concoloras. Asimismo, los tres géneros pueden distinguirse de forma aproximada según el número total de pares de bases en la región ITS. *Neopestalotiopsis* posee secuencias con una longitud aproximada de 480 a 484 pares de bases, lo que la distingue de *Pestalotiopsis* (489–495 pb) y *Pseudopestalotiopsis* (536–540 pb) (Liu et al., 2010). De esta manera, la redefinición consolidó la posición taxonómica de *Neopestalotiopsis* como un género independiente dentro de la familia *Sporocadaceae*.

Características morfológicas

El nombre de *Neopestalotiopsis* proviene de su parecido morfológico con el género *Pestalotiopsis*. *Neopestalotiopsis* se caracteriza por producir conidiomas acervulares o picnidiales, generalmente oscuros, globosos o subglobosos, que pueden presentarse de forma aislada o agregada sobre el tejido hospedero. Los conidióforos son poco diferenciados o reducidos a células conidiógenas hialinas, lisas y de paredes delgadas. Los conidios son fusiformes a elipsoides, con cuatro septos y tres células medianas versicolores. Presentan además una célula apical hialina provista de uno o varios

apéndices filiformes y una célula basal con un apéndice único y céntrico (Maharachchikumbura et al., 2014).

Panorama global y nacional de *Neopestalotiopsis* spp. asociadas al cultivo de fresa

Variabilidad patogénica y distribución de *Neopestalotiopsis* spp. asociadas al cultivo de fresa

En los últimos años, diversas especies del género *Neopestalotiopsis* han adquirido relevancia como patógenos de alto impacto económico en el cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*). Este género se caracteriza por presentar una amplia gama de síntomas, que incluyen manchas foliares, necrosis del pecíolo, pudriciones en la corona y las raíces, e incluso afectación del fruto, comprometiendo tanto el rendimiento como la calidad comercial del producto (Schierling et al., 2024).

En distintos países donde se ha reportado, *Neopestalotiopsis* representa una seria amenaza para la producción de fresa, con pérdidas que pueden alcanzar hasta un 70% (Olivares-Rodríguez et al., 2024). La variabilidad en la sintomatología observada entre regiones y especies sugiere diferencias en el comportamiento patogénico dentro del género. Factores como la especie involucrada, el órgano afectado, las condiciones ambientales y la respuesta varietal del hospedero influyen en la expresión de los síntomas, lo que respalda la existencia de una variabilidad patogénica intra e interespecífica (Baggio et al., 2021; Obregón et al., 2018; Rakhonde et al., 2025).

A continuación, se presenta un resumen de las especies de *Neopestalotiopsis* reportadas como agentes causales de enfermedades en fresa en distintas regiones del mundo (Tabla 1). Esta evidencia respalda el carácter patogénico del género y sirve de referencia para contextualizar la diversidad biológica y funcional de los aislados encontrados en Michoacán.

Tabla 1. Especies de *Neopestalotiopsis* reportadas como agentes causales de la pudrición de la corona, raiz y fruto.

Especie	País	Cultivo	Síntomas	Referencia
<i>N. rosae</i>	Florida, EE. UU.	Fresa	Manchas foliares y pudrición de fruta	Baggio et al., 2021
<i>N. rosae</i>	California, EE. UU.	Fresa	Lesiones necróticas y ennegrecimiento en corona y raíces; marchitez y muerte de plantas.	Lawrence et al., 2023
<i>N. rosae</i>	Boves, provincia de Cuneo, Italia	Fresa	Podredumbre de la corona	Dardani et al., 2025
<i>N. hispanica</i> (syn. <i>vaccinii</i>)				
<i>N. clavispora</i>	Bella Vista y Tucuman, Argentina	Fresa	Podredumbre de corona y raíz	Obregón et al., 2018
<i>N. rosae</i>	Stuttgart, Alemania	Fresa	Tizones foliares y pudrición del fruto	Schierling et al., 2024
<i>N. mesopotamica</i>	Ecuador	Fresa	Podredumbre de corona y raíz	Hidrobo-Chavez et al., 2022
<i>Neopestalotiopsis</i> sp.	Georgia, EE. UU.	Fresa	Manchas foliares y	Madrid et al., 2024

			podrición del fruto	
<i>N. rosae</i>	Michoacán, México	Fresa	Podredumbre de la corona y mancha foliar	Rebollar- Altiver et al., 2020
<i>N. clavispora</i>	Huelva, España	Fresa	Podredumbre de corona y raíz	Chamorro et al., 2016
<i>Neopestalotiopsis</i> sp.	Ohio, EE. UU.	Fresa	Mancha foliar	Rotondo et al., 2023
<i>N. rosae</i>	Taiwan	Fresa	Tizones foliares y pudrición del fruto	Wu et al., 2021
<i>N. clavispora</i>	Italia	Fresa	Podredumbre de corona y raíz	Gilardi et al., 2019
<i>N. clavispora</i>	Salto, Uruguay	Fresa	Podredumbre de corona y raíz	Machín et al., 2019
<i>Neopestalotiopsis</i> sp.	Ontario, Canada	Fresa	Mancha foliar y pudrición del fruto	McNally et al., 2023
<i>N. clavispora</i>	Liaoning Province, China	Fresa	Tizón del cáliz y del receptáculo	Shi et al., 2022
<i>Neopestalotiopsis</i> sp.	New England, EE. UU.	Fresa	Manchas foliares y tizón del pecíolo	Salvas et al., 2024
<i>Neopestalotiopsis</i> <i>rosae</i>	Beijing, China	Fresa	Podredumbre de la raíz y marchitamiento	Sun et al., 2021
<i>Neopestalotiopsis</i> <i>rosae</i>	Paraguay	Fresa	Mancha foliar y pudrición de la corona.	Fernández- Ozuna et al., 2023

<i>N. mesopotámica</i> <i>N. iranensis</i>	Kurdistan, Iran	Fresa	Manchas Foliales pudrición fruto	Ayoubi & Soleimani, del 2016
<i>Neopestalotiopsis</i> <i>javaensis</i>	India	Fresa	Manchas Foliales, pudrición de raíz y fruto	Rakhonde et al., 2025
<i>Neopestalotiopsis</i> <i>vaccinii</i>	Virginia, UU.	EE. Fresa	Manchas Foliales, pudrición fruto y raíz	Gangwar et al., 2025

Diversidad y relevancia fitopatológica de *Neopestalotiopsis* en México

Durante la temporada de fresa de 2017 en Zamora, Michoacán, se reportó una alta mortalidad de trasplantes hasta el 50%. Las plantas afectadas mostraron pudrición de los tejidos radiculares, así como en las coronas y manchas en el follaje, síntomas asociados a la enfermedad emergente causada por el hongo *Neopestalotiopsis*. Para confirmar la identidad se realizó una caracterización morfológica y molecular que incluyó la secuenciación de las regiones ITS, del factor de elongación 1 α y la porción parcial del gen β -tubulina (Revollar-Alviter et al., 2020).

De manera similar, en otros cultivos de importancia económica también se ha identificado la presencia de especies de este género. Gerardo-Lugo et al. (2020) realizaron el primer informe de *Neopestalotiopsis* como el agente causa de la mancha gris en hojas de mango. Este hallazgo se obtuvo a partir de una colecta efectuada durante el periodo de 2016-2017, de la cual se aislaron cepas de *Neopestalotiopsis*, que fueron identificados mediante análisis morfológicos y moleculares. Las secuencias obtenidas de las regiones ITS, EF - 1 α y TUB se alinearon y analizaron filogenéticamente. El análisis filogenético reveló la existencia de 20 aislados se agruparon en cuatro clados consistentes, aunque no

sustentados por las topologías generales de los árboles. En las pruebas de patogenicidad se comprobó que todos estos aislados inducían lesiones en las hojas de mango comprobando su capacidad patogenética (Sarmiento-Chacón et al., 2023).

Además de cultivos frutales, también se han reportado especies ornamentales afectadas por este patógeno. Tal es el caso de *Chamaedorea quezalteca*, una palmera de camedor de la región Frailesca, Chiapas. En este cultivo, *Neopestalotiopsis* causaba manchas foliares que reducían la producción y reducían su calor comercial. Otro cultivo afectado por *N. australis* es *Byrsonima crassifolia* (conocido comúnmente como nanche). Este patógeno que provoca la formación de una costra en los frutos jóvenes fue, reportado por primera vez en Choapas, Veracruz (Moreno-Velázquez et al., 2025).

Métodos de control de *Neopestalotiopsis* en cultivos de fresa

A nivel mundial las plagas y enfermedades siguen representando una de las principales amenazas para la seguridad alimentaria, ya que provoca reducciones significativas en el rendimiento y la calidad de los cultivos de hasta un 40% de la producción. Debido a ello, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) enfatiza que la protección preventiva de las plantas resulta mucho más rentable que la respuesta a emergencias fitosanitarias una vez que los brotes se han establecido. De hecho, cuando las plagas o enfermedades logran consolidarse en un área, su erradicación se vuelve prácticamente imposible, y su manejo implica un proceso prolongado y costoso. Por ello, fortalecer las estrategias de prevención, monitoreo y control temprano constituye una prioridad esencial para preservar la sanidad vegetal y garantizar la sostenibilidad de los sistemas agrícolas a escala global (FAO, 2022).

De manera particular, hongos como *Neopestalotiopsis* spp que usualmente se comporta como un endófito en tejidos vegetales, han mostrado en los últimos años una transición hacia un modo de vida patogénico, ocasionando brotes severos que han comprometido la rentabilidad del cultivo de fresa a nivel global (Ávila-Hernandez et al., 2025).

Control químico

Baggio et al. (2023) evaluaron la eficacia de fungicidas de acción simple y múltiple en el control de este patógeno, demostrando que los compuestos de acción específica, como fludioxonil, fluazinam y los inhibidores de la desmetilación del esterol, junto con los de acción múltiple como captan, thiram y clorotalonil, resultaron ser los más efectivos para reducir el crecimiento micelial y limitar el desarrollo de los síntomas. Asimismo, se confirmó resistencia a los fungicidas del grupo 11, como la azoxistrobina, asociada con la mutación G143A en el gen del citocromo b, hallazgo que coincide con los resultados obtenidos en las pruebas de inoculación y los ensayos de campo.

Alternativas de control

Ante la evidencia de resistencia a fungicidas se han explorado alternativas, como el uso de agentes biocontroladores. Zhang et al (2024) se han enfocado en el potencial de manejo de *Neopestalotiopsis* spp a través de cepas de *Bacillus cereus* (Bce-2) que han demostrado una fuerte actividad antagonista, con inhibiciones de crecimiento micelial superiores al 70%. En campo, la aplicación de su solución de fermentación redujo el índice de enfermedad en plantas de fresa en un 57,8% y estimuló enzimas de defensa como peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa. Además, el tratamiento indujo la expresión de genes relacionados con la resistencia vegetal, lo que confirma el papel de *Bacillus cereus* como agente antagonista a *Neopestalotiopsis clavispora*. Se han evaluado otras cepas antagonistas como *Bacillus velezensis* (QY-4 y QJ-3) y *Bacillus subtilis* (TT-3), las cuales mostraron una inhibición del crecimiento micelial de *N. clavispora* superior al 60%. Estas bacterias afectaron la integridad de la membrana fúngica y, mediante la emisión de compuestos orgánicos volátiles, redujeron el desarrollo del patógeno en más del 40%. En ensayos de invernadero, la aplicación de dichas cepas disminuyó significativamente los síntomas de la enfermedad, con eficiencias de control de hasta 67%, además de inducir la actividad de enzimas defensivas como peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa. Estos resultados confirman el potencial de *Bacillus velezensis* y *B. subtilis* como agentes de

control biológico eficaces frente a *Neopestalotiopsis clavispora* en fresa (Zhang et al., 2024).

De manera complementaria, Olivares-Rodríguez et al. (2025) evaluaron alternativas para el control de *Neopestalotiopsis* sp. en fresa, reportando la eficacia de cepas de *Trichoderma* sp., así como del ácido peracético y extractos de canela y neem. Las cepas de *Trichoderma* sp. presentaron actividad micoparasítica caracterizada por el enrollamiento, adhesión y lisis de las hifas del patógeno, lo que confirma su potencial como agente de control biológico de bajo impacto ambiental.

Métodos para la caracterización genética y evaluación de la diversidad en hongos patógenos

Uso de marcadores RAPD en la identificación genética y análisis de diversidad

Los marcadores moleculares han revolucionado el estudio genético de los frutales al permitir identificar la diversidad, evolución y resistencia a enfermedades. Estos fragmentos de ADN son herramientas clave en la taxonomía, el mapeo génico y el mejoramiento, ya que facilitan el desarrollo de cultivares con rasgos superiores y promueven la conservación sostenible de los recursos genéticos (Thakur et al., 2023).

Los marcadores moleculares permiten reconocer con precisión si un organismo tiene o no genes que interesan. Dentro de estos marcadores se encuentran los RAPDs, un método que consiste en la amplificación aleatoria de fragmentos ADN mediante PCR utilizando iniciadores de secuencias arbitrarias (Müller et al., 2023). Los marcadores RAPD requieren una cantidad baja de ADN y se basan en cambios de una sola base o indels, lo que les proporciona un alto nivel de polimorfismo. Su razón de multiplex efectivo es media, y presenta un patrón de herencia dominante. Para su amplificación se emplean iniciadores de aproximadamente 10 nucleótidos con secuencias aleatorias. La técnica, aunque no es exigente desde el punto de vista técnico y no requiere detección radiactiva. Sin embargo, su reproductibilidad es baja a media, lo que, aunque puede limitar su aplicación en algunos estudios pueden ser útiles en los análisis de diversidad genética, y en menor medida en programas de genética y mejoramiento (Singh et al., 2025).

Variabilidad genética en hongos y Oomycetos fitopatógenos

En los sistemas agrícolas, los monocultivos aceleran la evolución de nuevas razas patógenas. Por ejemplo, las condiciones ambientales y las prácticas agrícolas son factores de presión selectiva sobre los genes de resistencia de las crucíferas, promoviendo la evolución y diversificación de razas patógenas más virulentas durante distintas etapas de la interacción huésped-patógeno.

Entre los hongos y Oomycetes fitopatógenos que afectan a las crucíferas y que presentan alta diversidad genética son; *Albugo candida* (mildió blanco), *Alternaria brassicae* y *A. brassicicola* (mancha foliar), *Hyaloperonospora parasitica* (mildió veloso), *Leptosphaeria maculans* (tizón del tallo o “pierna negra”), *Plasmodiophora brassicae* (hernia de la col), *Sclerotinia sclerotiorum* (podredumbre blanca), *Verticillium* spp. (marchitez), *Xanthomonas campestris* (podredumbre negra bacteriana).

Para estudiar su evolución se utilizan herramientas moleculares como RAPD-PCR, ITS y COX2 (secuencias genéticas), análisis filogenético, así como estudios de proteómica y genómica, además de marcadores moleculares para identificar genes de virulencia o avirulencia (como AvrAC1, AvrLm, Cr811). La diversidad genética encontrada en estos patógenos se debe a mutaciones, recombinaciones sexuales, presión de selección por cultivos resistentes y, en el caso de *Albugo candida*, la poloploidia (Singh et al., 2023).

Grupos de compatibilidad micelial como indicador de diversidad

En un estudio realizado por Júnior et al. (2010) se evaluó la diversidad genética de *Sclerotinia sclerotiorum* mediante el análisis de 40 aislamientos obtenidos de distintos cultivos y regiones de Brasil. Los investigadores emplearon marcadores RAPD junto con la identificación de grupos de compatibilidad micelial (GCM) para explorar la variabilidad existente entre los aislamientos. A partir de 16 iniciadores aleatorios se generaron 121 fragmentos de ADN, y el análisis de conglomerados con el método UPGMA permitió diferenciar tres grupos principales y cinco GCM, con niveles de similitud genética entre 61.8% y 68.2%. Se observó una correspondencia clara entre los patrones de

compatibilidad micelial y los perfiles genéticos obtenidos por RAPD, lo que evidencia que los GCM reflejan efectivamente la diversidad genética dentro de la especie. Sin embargo, no se detectaron asociaciones entre los grupos y el origen geográfico o el tipo de hospedante. El análisis de varianza molecular mostró que casi toda la variación (99.1 %) provenía de diferencias individuales, sin un efecto notable del cultivo hospedante. Este trabajo demostró que la compatibilidad micelial puede servir como un indicador sólido de la variabilidad genética en *S. sclerotiorum*, y sugirió que las poblaciones de regiones tropicales y subtropicales tienden a reproducirse sexualmente, a diferencia de las poblaciones clonales predominantes en zonas templadas.

En otro estudio realizado en nueve provincias de Turquía, se llevó a cabo por primera vez un muestreo en áreas de césped para detectar la presencia de *Sclerotium rolfsii*, la fase asexual de *Athelia rolfsii*, un patógeno del suelo que afecta a numerosas especies vegetales en distintas partes del mundo. Se recolectaron muestras que presentaban parches circulares de coloración clorótica, marrón rojiza o con apariencia de ojo de rana, a partir de las cuales se obtuvieron 32 aislados del hongo. Entre estos, se identificó un grupo de compatibilidad micelial (MCG), lo que permitió establecer una relación entre los aislamientos obtenidos. Las pruebas de patogenicidad en invernadero mostraron una severidad de la enfermedad entre 83.74 % y 92.87% (Ünal et al., 2019).

ITS como indicador de diversidad

En un estudio sobre la diversidad fúngica en Brasil, se analizaron marcadores moleculares de importancia filogenética generados desde 1996, con el objetivo de caracterizar la biodiversidad de hongos en distintas regiones del país. Se recopilaron 19 440 secuencias de ADN fúngico-provenientes de GenBank, entre ellas ITS, LSU, SSU, tef1- α , β -tubulina, rpb1, rpb2, actina, quitina sintasa y ATP6. El marcador ITS fue el más representativo, con 11 209 secuencias, principalmente de Ascomycota (70,1 %) y Basidiomycota (18,6 %). A partir de un umbral del 98 % de similitud, las secuencias ITS se agruparon en 3 047 unidades taxonómicas operativas (OTU), lo que refleja una notable diversidad genética dentro de estos grupos. Aunque algunos filos como Cryptomycota y Entorrhizomycota no

estuvieron representados, los resultados evidencian la utilidad del ITS como un marcador confiable para estimar la diversidad fúngica. Además, el análisis reveló la existencia de linajes aún no identificados, lo que sugiere que la diversidad de hongos en Brasil podría ser incluso mayor a la reportada con base en datos morfológicos y bibliográficos (Menolli y Sánchez-García, 2019).

En otro estudio relacionado en un estudio centrado en los hongos micorrízicos arbusculares (AMF) se emplearon secuencias de ADN ribosomal ITS obtenidas de bases de datos públicas para examinar su distribución a escala continental y global. Mediante un análisis filogenético de máxima probabilidad se definieron 305 taxones virtuales ITS (ITS-VT) pertenecientes al filo *Glomeromycota*. Los resultados mostraron que alrededor del 60% de los ITS-VT fueron específicos de un hospedero, mientras que aquellos con un rango más amplio de plantas presentaron también una distribución geográfica más extensa. Asimismo, se observó que la mayoría de los ITS-VT se restringieron a un solo tipo de grupo funcional de hospedero, con distribuciones limitadas entre ecosistemas, continentes y zonas climáticas. Los análisis de composición comunitaria evidenciaron diferencias significativas entre grupos funcionales de plantas y regiones, y demostraron que la estructura de las comunidades de AMF se correlaciona con la composición vegetal. En conjunto, las secuencias ITS reflejaron un patrón de alto endemismo y especificidad hospedero-dependiente, lo que reafirma el valor del ITS como indicador eficaz de diversidad y distribución fúngica a gran escala (Yang et al., 2012).

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y aislamiento del patógeno

La recolección de muestras se llevó a cabo en tres municipios del estado de Michoacán: Irimbo, Maravatío y Epitacio Huerta. Se seleccionaron plantas adultas de fresa (*Fragaria x ananassa*) provenientes de viveros y parcelas comerciales que presentaban síntomas compatibles con infecciones por especies del género *Neopestalotiopsis*. Las muestras se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología de Posgrado del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Los aislados de *Neopestalotiopsis* se obtuvieron a partir de coronas y raíces de plantas afectadas. Siguiendo la metodología descrita por Torres-Calzada et al (2013), se cortaron fragmentos de aproximadamente 1 cm² de tejido vegetal, los cuales se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1.2%. Posteriormente, los fragmentos se colocaron en cajas Petri con medio Agar Papa Dextrosa (PDA) para favorecer el crecimiento fúngico.

Las colonias con características morfológicas típicas de *Neopestalotiopsis* fueron transferidas a nuevas cajas con PDA y se incubaron a 26 °C hasta la formación de esporas. A partir de estas, se prepararon suspensiones conidiales que se dispersaron nuevamente sobre PDA. Después de 24 horas, se seleccionaron conidias germinadas, las cuales se transfirieron a cajas Petri frescas para su uso en la caracterización morfológica y en los análisis moleculares. La identidad del género se corroboró mediante caracteres morfológicos y análisis moleculares, considerando la información patogénica reportada previamente para especies del mismo grupo.

Caracterización morfológica y morfometría

Se seleccionaron 17 aislamientos para su caracterización mediante las claves de Maharachchikumbura et al. (2014). Entre las características morfológicas utilizadas para la identificación del género *Neopestalotiopsis* se examinó el color de la colonia, también la presencia o ausencia de acérvulos, las dimensiones (longitud y ancho) de los conidios, así como la longitud de los apéndices apical y basal. Estas características han sido fundamentales en los estudios de taxonomía fúngica, tal como lo describen Keith et al. (2006) y Maharachchikumbura et al. (2011). Con el objetivo de determinar la longitud, el

ancho y el número promedio de apéndices presentes en las conidias, se seleccionaron 150 conidias maduras por cada aislado, obtenidas de cultivos de 15 días de antigüedad. Las conidias fueron cuidadosamente montadas en portaobjetos y teñidas con azul de algodón para mejorar el contraste. Posteriormente, se capturaron fotografías utilizando un microscopio compuesto con un aumento de $\times 400$ y una cámara Dino-Lite. Las mediciones se realizaron en el software DinoXcope V2.6.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Raeder y Broda (1985). Se inocularon fragmentos pequeños de colonias en 20 mL de caldo de dextrosa y papa (PDB) y se incubaron a 25 °C con agitación a 150 rpm durante 4 días. El micelio se recuperó, se lavó de dos a cuatro veces con buffer TE 1X y se transfirió a tubos de 1.5 mL. Se añadió buffer de lisis (200 mM Tris-HCl pH 8.5, 250 mM NaCl, 25 mM EDTA, 0.5% SDS) y se realizó la ruptura de tejido con un disruptor mecánico. Posteriormente, se realizaron extracciones con fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (25:24:1), centrifugando a 14,000 rpm a 4 °C para separar fases acuosas, repitiendo este paso dos veces. El ADN se precipitó añadiendo acetato de sodio 3M (pH 7) e isopropanol frío, seguido de centrifugación. El precipitado se lavó dos veces con etanol al 70% frío y se secó. Finalmente, el pellet obtenido se resuspendió en buffer TE 1X y se trató con RNasa (0.15 U/10 μ L) durante 5–15 minutos a 37 °C. Para verificar la integridad y pureza del ADN, se evaluaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 3% a 100 V durante 40 minutos. La concentración de ADN (ng/ μ L) se determinó mediante un espectrofotómetro NanoDrop.

Amplificación de la región ITS

La amplificación de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) se realizó en un volumen final de 25 μ L. La mezcla de reacción incluyó: 2.5 μ L de buffer, 1.75 μ L de MgCl₂, 0.5 μ L de dNTPs, 1 μ L de cada cebador (ITS1 e ITS4), 17.05 μ L de agua ultrapura, 0.2 μ L de Taq ADN polimerasa y 1 μ L de ADN molde. Se utilizaron los iniciadores ITS1 (5'TCC GTA GGT GAA CCT GCG G3') e ITS4 (5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC3') descritos para la amplificación de esta región. El programa de amplificación consistió en una desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 minutos, seguida de 35 ciclos con las siguientes condiciones: desnaturalización a 94 °C por 30 segundos, alineamiento a 56 °C

por 45 segundos y extensión a 72 °C por 90 segundos. Finalmente, se realizó una extensión final a 72 °C por 8 minutos. Los productos de la PCR obtenidos fueron purificados enviados para su secuenciación al laboratorio YPICIT (San Luis Potosí, México).

Construcción del árbol filogenético de ITS

Las secuencias obtenidas se editaron con el programa MEGA 12 (Tamura et al., 2021) y se alinearon utilizando el software MAFFT v7 (Kato & Standley, 2013). El archivo de alineamiento resultante en formato FASTA se empleó posteriormente para inferir el árbol filogenético mediante el servidor en línea IQ-TREE (Nguyen et al., 2015). Para la construcción del árbol, se seleccionó el modelo evolutivo K2P+G4, determinado a través de ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017). La robustez de la topología se evaluó con el método de bootstrap ultrarrápido utilizando 10,000 réplicas (Hoang et al., 2018). Finalmente, el árbol filogenético se visualizó en el programa FigTree v1.4.4 (Rambaut, 2016) y se editó en Inkscape para su presentación.

Amplificación RAPD

El ADN genómico obtenido de los aislados fue cuantificado con un espectrofotómetro NanoDrop, ajustando a una concentración final de 50 ng en 2 µL para las reacciones de amplificación. Las pruebas RAPD se llevaron a cabo en el Laboratorio de Plagas Cuarentenarias del INIFAP, sede General Terán. Para ello, se utilizó los iniciadores: P23 (5'-GGCGATCACG-3'), P30 (5'-CTCCTGCGAC-3'), mezcla de P 23 y P30, P2 (5'-CGAACATGAG-3'), P31 (5'-CGACCCCGT-3'), mezcla de P31 y P35 (5'-GCTGGGGACC-3').

Cada reacción se preparó en un volumen final de 25 µL por reacción, compuesto por 5 µL de buffer 1X, 2 µL del primer respectivo, 0.05 µL de enzima ADN polimerasa, 13.5 µL de agua bidestilada ultrapura y 4 µL de ADN genómico previamente estandarizado. El programa de amplificación utilizado fue de desnaturalización inicial a 94 °C durante 3 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 1 minuto, alineamiento a 36 °C por 2 minutos y extensión a 72 °C por 1 minuto. Finalmente, se realizó una extensión final a 72 °C durante 1 minuto.

Los productos de PCR se visualizaron inicialmente en geles de agarosa al 3% corriendo a 100 V durante 40 minutos, y las bandas resultantes fueron observadas en un transiluminador para confirmar su presencia y tamaño. Posteriormente, las muestras se

analizaron mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 6% (preparados con 22.7 mL de agua bidestilada, 8 mL de buffer BS 5X, 5.6 mL de poliacrilamida al 30%, 60 μ L de TEMED y 300 μ L de APS al 15%) corriendo a 90 V durante 3 horas. Estos geles se realizaron en el laboratorio #4 en la Facultad de Ciencias Biologicas en la Universidad Autónoma de Nuevo León

Grupos de compatibilidad micelial

Earnshaw y Boland (1997) describieron los grupos de compatibilidad micelial como una herramienta indirecta para detectar variabilidad genética en hongos. Con base en esta metodología, se llevaron a cabo pruebas de compatibilidad micelial en 45 cajas de Petri, colocando en cada caja cuatro discos de PDA con crecimiento de micelio de las diferentes cepas: uno en el centro y tres distribuidos equidistantemente a 3 cm de distancia alrededor del disco central. Se consideró una interacción como compatible cuando se observó un crecimiento uniforme y continuo en el punto de unión entre las cepas. Por el contrario, las interacciones fueron clasificadas como incompatibles si se produjo inhibición del crecimiento de una cepa sobre la otra o si no se observó desarrollo de micelio en el punto de contacto.

RESULTADOS

Recolección de muestras y aislamiento del patógeno

Durante la recolección de muestras se obtuvieron tejidos de plantas de fresa con síntomas visibles de enfermedad en tres municipios del estado de Michoacán: Irimbo, Maravatío y Epitacio Huerta. Las muestras correspondieron principalmente coronas con lesiones necróticas. En laboratorio, se logró el aislamiento del hongo asociado a estas lesiones, del cual se obtuvieron cultivos puros mediante la técnica de cultivos monoconidiales. El crecimiento en medio PDA mostró colonias de coloración variable entre blanco grisáceo y marrón claro, con márgenes definidos y presencia de estructuras conidiales típicas del género *Neopestalotiopsis*. En total se seleccionaron 17 aislamientos representativos para su caracterización morfológica y molecular.

Morfometría

Para el análisis morfométrico se midieron un total de 150 conidias por aislado. Cada conidia fue dividida en cinco secciones con el fin de describir detalladamente su estructura (Imagen 1): la sección 1 correspondió a los apéndices apicales, la sección 2 a la célula apical, la sección 3 a las tres células medias, la sección 4 a la célula basal y la sección 5 al apéndice basal.

El largo total de las conidias, considerando el eje comprendido desde la célula apical hasta la célula basal, varió entre 20 y 29 μm . El punto más ancho se registró en la célula media 2, con un rango de 6-8 μm . Los apéndices apicales mostraron una longitud variable de 9-28 μm , mientras que la célula apical presentó dimensiones de 3-6 μm . En cuanto a las células medias (1, 2 y 3) (figura 1), los valores oscilaron entre 3-6 μm , 4-6 μm y 4-7 μm , respectivamente. La célula basal mostró una longitud de 3-6 μm , y los apéndices basales variaron entre 5-13 μm . Estas medidas evidencian la variabilidad morfológica característica del género *Neopestalotiopsis*, especialmente en la longitud de los apéndices y la proporción entre las células medias y la apical.

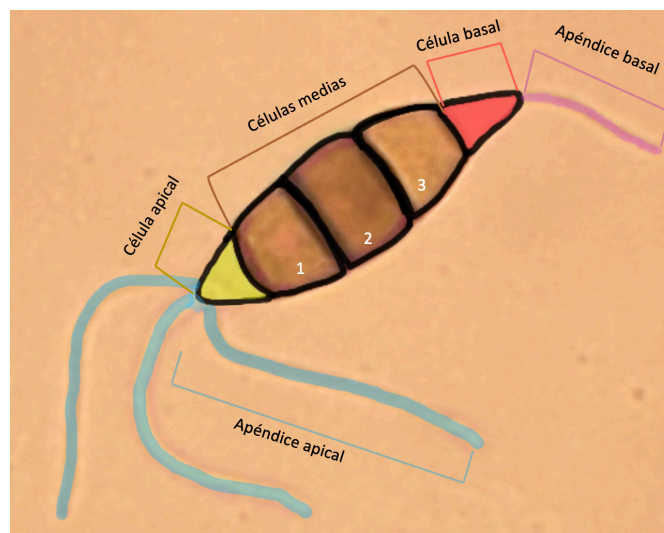


Figura 1. Esquema de las dimensiones evaluadas en las conidias de *Neopestalotiopsis* spp.

Extracción de ADN

La integridad del ADN extraído se comprobó mediante electroforesis en gel de agarosa al 3% (Figura 2), observándose en todos los carriles una banda definida de alto peso molecular que confirma la extracción exitosa del ADN genómico. La calidad del ADN se evaluó con un espectrofotómetro NanoDrop, el cual permitió medir tanto la concentración como la pureza del material genético, obteniéndose rendimientos que variaron entre 60 y 4600 ng/ μ L. En cuanto a la pureza, la relación A260/A280 se encontró entre 1.5 y 2.0, lo que indica valores aceptables frente a contaminantes como proteínas o fenol; sin embargo, la variabilidad en este parámetro probablemente se deba a la presencia de ARN residual, ya que no se aplicó tratamiento con RNasa durante la extracción. Por su parte, la relación A260/A230 osciló entre 1.1 y 1.9, lo que sugiere la presencia de sales u otros compuestos del buffer de extracción. A pesar de que algunos valores no correspondieron a condiciones óptimas, las concentraciones de ADN obtenidas fueron consideradas suficientes y adecuadas para los análisis moleculares posteriores.

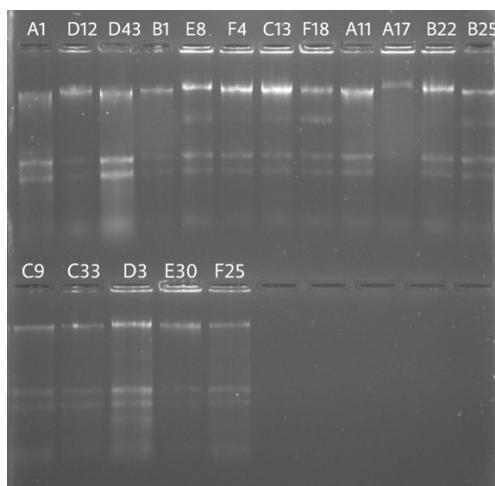


Figura 2. Visualización de ADN genómico de aislados de *Neopestalotiopsis* sp. en gel de agarosa al 3%.

Amplificación de la región ITS

La amplificación de la región ITS con los iniciadores universales ITS1 e ITS4 generó productos específicos de aproximadamente 600 pb en la mayoría de las cepas, los cuales fueron claramente visibles en los geles de agarosa. Los 17 cepas analizadas produjeron amplicones de calidad adecuada para su secuenciación. Las secuencias obtenidas se editaron y alinearon, y posteriormente se compararon con registros disponibles en la base de datos GenBank. Los resultados mostraron una similitud del 98 al 100% con secuencias correspondientes a *Neopestalotiopsis rosae*. Sin embargo, debido a la alta cercanía genética entre especies del género *Neopestalotiopsis*, se considera necesario incorporar otros marcadores moleculares para confirmar con mayor precisión la identidad taxonómica de las cepas.

Análisis filogenético basado en la región ITS

El análisis filogenético basado en las secuencias ITS1–ITS4 agrupó a los 17 aislados de *Neopestalotiopsis* dentro de un clado monofilético correspondiente a *N. rosae*, junto con la secuencia de referencia MN385720.1 (Figura 3). Los valores de soporte bootstrap (77–92%) confirmaron la solidez de esta relación. Sin embargo, la formación de subclados bien definidos entre los aislados MOS1, E8, R_A1 y R_C31, lo que indica la existencia de variabilidad genética intraespecífica, probablemente asociada a diferencias en el origen geográfico o a microevolución dentro de la población local. Aunque todas las cepas

pertencen al mismo linaje, la divergencia observada en la región ITS sugiere la presencia de distintos haplotipos dentro de *N. rosae*, lo que respalda la heterogeneidad genética detectada mediante los análisis de compatibilidad micelial y RAPD.

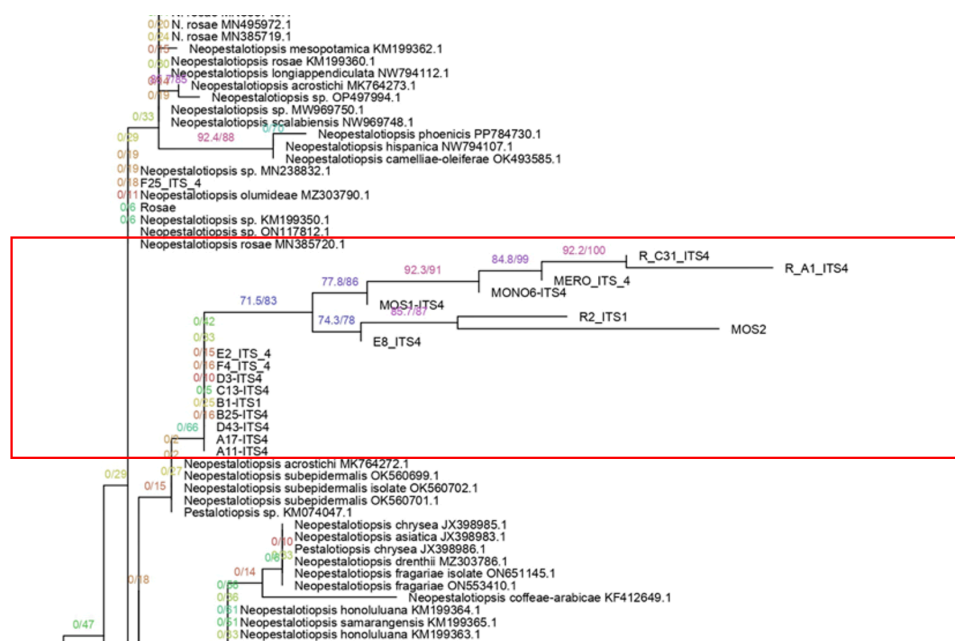


Figura 3. Árbol filogenético inferido a partir de secuencias ITS1-ITS4 de *Neopestalotiopsis* spp. de fresa en Michoacán. El análisis en IQ-TREE (modelo K2P+G4, 10,000 réplicas bootstrap) mostró que las cepas estudiadas se agrupan con *N. rosae* (MN385720.1), evidenciando variabilidad genética intraespecífica.

Amplificación RDP's

La amplificación de las 17 cepas se obtuvo con todos los iniciadores evaluados. Entre ellos, las combinaciones P23/P30 y P31/P35 destacaron por generar la mayor cantidad de fragmentos amplificados (Figura 4), en contraste con el iniciador P2, que al emplearse de manera individual produjo el menor número de fragmentos (Tabla 2).

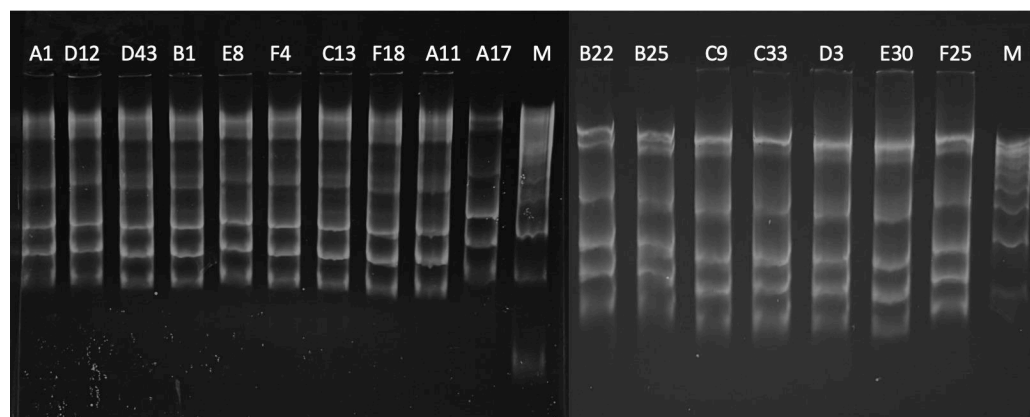


Figura 4. Patrón representativo de bandas amplificadas con los iniciadores P31/P35 en gel de poliacrilamida de *Neopestalotiopsis* spp.

Los iniciadores evaluados mostraron una alta capacidad para detectar variabilidad genética entre las cepas analizadas, con porcentajes de polimorfismo superiores al 90% en la mayoría de los casos (Tabla 2). Los marcadores 23, 30 y 2 presentaron el 100% de fragmentos polimórficos, evidenciando su alta eficiencia para discriminar genotipos, mientras que el marcador 31 mostró el menor nivel de polimorfismo (85.7%). En conjunto, estos resultados indican una elevada diversidad genética en las poblaciones estudiadas y confirman la utilidad de los iniciadores seleccionados para estudios de variabilidad intraespecífica.

Tabla 2. Número de fragmentos, fragmentos polimórficos y % de polimorfismo por iniciador (individuales y mezclados).

Marcador	Número de fragmentos	Fragmentos polimórficos	% de polimorfismo
23	17	17	100.00
30	16	16	100.00
23/30	20	19	95.00
2	9	9	100.00
31	7	6	85.71
31/35	16	15	93.75

Los valores del Coeficiente de Información Polimórfica (PIC) variaron entre 0.3052 y 0.3814, con un promedio de 0.3551 (Tabla 3). Estos valores indican un nivel de polimorfismo moderado entre los iniciadores evaluados.

Por su parte, el índice de diversidad de Shannon fluctuó entre 46.17% y 55.99%, alcanzando una media de 52.37% (Tabla 3). Entre los iniciadores empleados, P2 y P30 generaron el mayor número de bandas polimórficas, mientras que la combinación P23/P30 mostró la menor capacidad de amplificación y resolución.

Tabla 3. Información sobre el PIC promedio por iniciador e índice de Shannon promedio por iniciador.

Iniciador	PIC	Índice de Shannon
23	0.3664	0.5447
30	0.3702	0.5467
23/30	0.3052	0.4617
2	0.3814	0.5599
31	0.3539	0.5076
3135	0.3538	0.5218

El dendrograma (Figura 5), generado a partir de la matriz de similitud de Dice, reveló la formación de cinco grupos principales. El grupo 1 estuvo integrado por las cepas A1 y D12; el grupo 2 por D43, B1, E8, F4, C13, F18 y A11; el grupo 3 únicamente por la cepa A17; el grupo 4 por B22, B25 y F26; y el grupo 5 por C9, C33, D3 y E30.

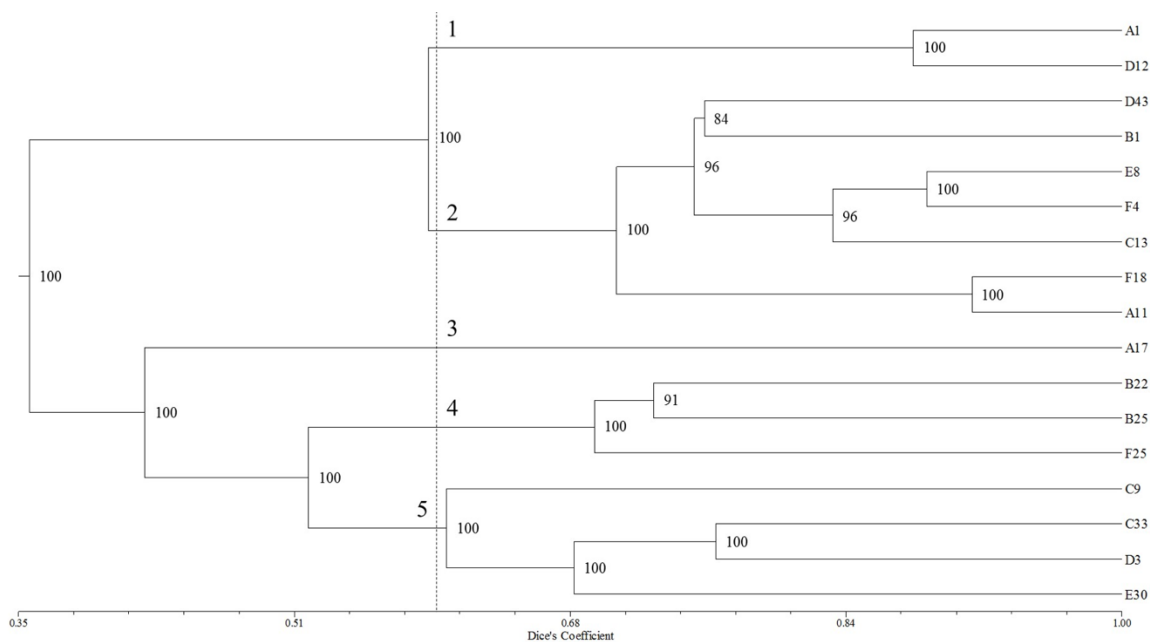


Figura 5. Relaciones genéticas de 17 cepas de *Neopestalotiopsis* spp. recolectadas en distintas localidades del estado de Michoacán, obtenidas mediante el coeficiente de Nei-Li a partir de los datos generados con cinco marcadores RAPD aplicados de manera individual.

El dendrograma resultante indica la presencia de al menos cinco variantes genéticas de *Neopestalotiopsis* spp. en la zona productora de fresa de Michoacán, ya que algunas cepas presentan valores de similitud superiores al 90% e incluso del 100%, lo que evidencia aislamientos genéticamente idénticos. Sin embargo, el número real de variantes podría ser mayor, dado que en ciertos grupos los valores de similitud son inferiores al 80%.

El Análisis de Coordenadas Principales (ACP) (Figura 6) respaldó la agrupación observada en el dendrograma, mostrando nuevamente cinco grupos principales. Aun así, algunos subgrupos registraron similitudes menores al 90%, lo que sugiere la posible existencia de una diversidad genética más amplia dentro de las cepas analizadas.

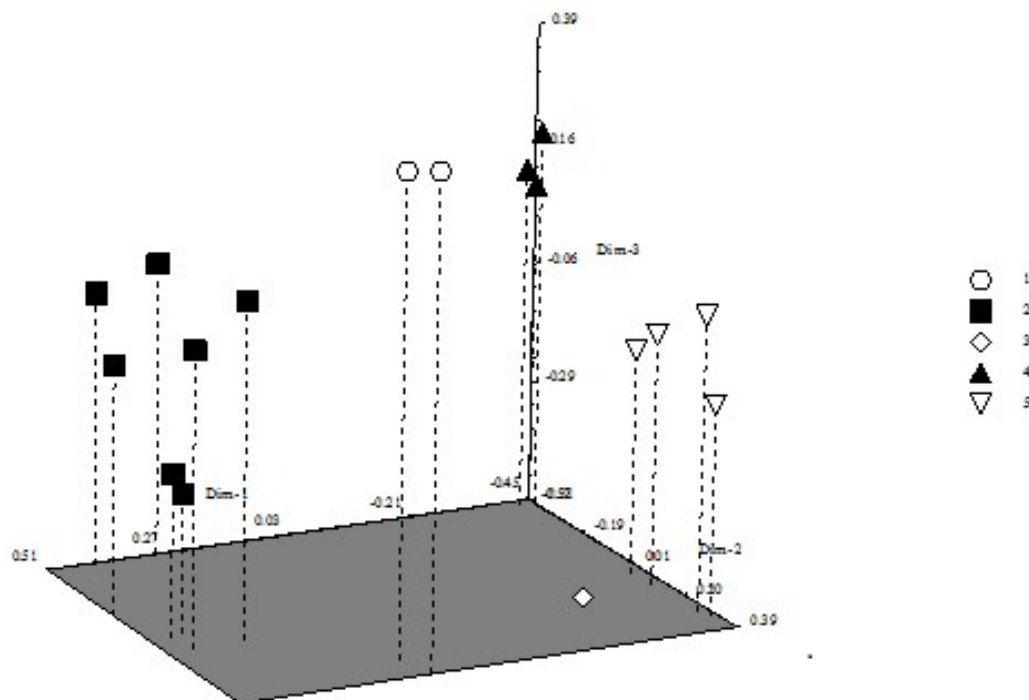


Figura 6. Análisis de Coordenadas Principales (ACP) de los aislamientos de *Neopestalotiopsis* basado en los perfiles de amplificación obtenidos.

Compatibilidad micelial

Del total de interacciones analizadas en las pruebas de compatibilidad micelial, se observó que las cepas pertenecientes al grupo A1 mostraron un comportamiento mayoritariamente compatible (Figura 7), estableciendo uniones estables con la mayoría de los aislados evaluados. Sin embargo, se detectó incompatibilidad en su interacción con las cepas A17 y E30, en las cuales se evidenció una barrera de reconocimiento que impidió la fusión de hifas. Este patrón sugiere que A1 podría constituir un grupo de compatibilidad relativamente amplio, pero con ciertos límites frente a cepas específicas.

Por el contrario, el resto de los aislados (A11, F4, F18, D12, A17, B22, C13, F25, B25, B1, E8, E30, D43, C9, D3 y C33) presentaron interacciones incompatibles (Figura 8)) en la mayoría de los enfrentamientos, caracterizadas por zonas de inhibición del crecimiento o ausencia de anastomosis en el punto de contacto. Estos resultados indican que la población analizada se encuentra conformada principalmente por aislados que pertenecen a distintos grupos de compatibilidad micelial (VCGs), lo cual refleja una marcada heterogeneidad genética.

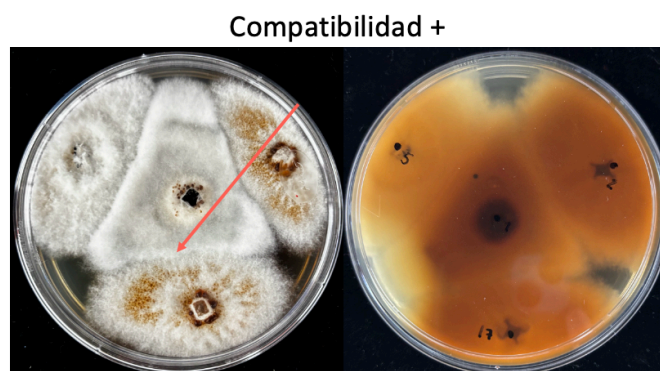


Figura 7. Interacciones miceliales entre aislamientos de *Neopestalotiopsis*, evidenciando reacciones de compatibilidad entre cepas.

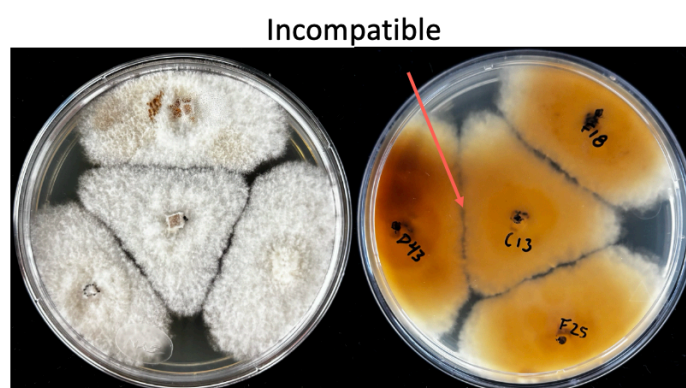


Figura 8. Interacciones miceliales entre aislamientos de *Neopestalotiopsis*, evidenciando reacciones de incompatibilidad entre cepas.

DISCUSIÓN

Las conidias analizadas presentaron forma fusiforme, con cuatro septos y cinco células bien definidas. Su longitud varió entre 20 y 29 μm y el ancho entre 6 y 8 μm . Los apéndices apicales midieron de 9 a 28 μm y los basales de 5 a 13 μm , con la presencia de tres a cuatro apéndices apicales por conidia. Estas características coinciden parcialmente con lo descrito por Erdurmuş et al. (2022) para *Neopestalotiopsis rosae*, quienes reportaron conidias fusiformes de $24.1 \times 7.3 \mu\text{m}$, con tres células medias pardas, extremos hialinos y 3–4 apéndices apicales.

Fernández-Ozuna et al. (2023) reportaron conidias de 24.5 a 30.2 μm de longitud y 7.3 a 10.2 μm de ancho, con dos a cuatro apéndices apicales de 22.9 a 30.6 μm y un apéndice basal de 3.9 a 6.9 μm . Las medidas obtenidas en este estudio se ubican dentro de los rangos mencionados por ambos autores, lo que respalda la correspondencia morfológica con *N. rosae*.

El análisis filogenético basado en las secuencias ITS1–ITS4 agrupó los 17 aislados dentro de un clado monofilético correspondiente a *Neopestalotiopsis rosae*, junto con la secuencia de referencia MN385720.1, con valores de soporte bootstrap robustos (77–92%). Sin embargo, la presencia de subclados bien definidos entre aislados como MOS1, E8, R_A1 y R_C31 evidencia una variabilidad genética intraespecífica, probablemente relacionada con diferencias geográficas o procesos de microevolución local. Este tipo de variación es consistente con lo reportado en otros hongos fitopatógenos, donde la región ITS se ha utilizado con éxito para diferenciar especies estrechamente relacionadas y detectar linajes divergentes. Dicha región, ampliamente empleada en estudios taxonómicos y filogenéticos, permite además inferir relaciones intraespecíficas y patrones de diversidad genética asociados a la patogenicidad o adaptación ecológica (Merseguel et al., 2015; Rampersad, 2014; Nilsson et al., 2008).

El análisis de variabilidad genética mediante marcadores RAPD permitió obtener amplificaciones consistentes en las 17 cepas de *Neopestalotiopsis* spp. estudiadas. El hecho de que todos los iniciadores generaran productos de amplificación confirma que la técnica fue adecuada para este grupo de hongos. Resultados similares se han descrito para hongos fitopatógenos, como *Fusarium oxysporum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *F. solani*.

En dicho estudio el uso de 15 iniciadores RAPD permitieron detectar altos niveles de polimorfismo, alcanzando hasta un 83% en el caso de *F. oxysporum* (Kumari et al., 2014). Así mismo, Khan y colaboradores (2025) evaluaron la diversidad genética de *Curvularia lunata* mediante el uso combinado de marcadores ISSR, URP y RAPD. Todos los sistemas mostraron un 100% de polimorfismo. Sin embargo, los marcadores RAPD generaron el mayor número de bandas (66) y presentaron el valor más alto de contenido de información polimórfica (PIC = 0.89).

Los marcadores moleculares basados en la técnica de PCR como lo es RAPD son comúnmente usados para los estudios de diversidad genética fúngica y sigue siendo una alternativa viable para el estudio de diversos patógenos frente a MPS en estudios con recursos limitados (Oliveira & Azevedo, 2022)

Una vez comprobada la eficiencia de los marcadores en la amplificación de las secuencias genómicas, se procedió a evaluar el nivel de polimorfismo y la diversidad genética entre los aislados.

Los valores de PIC obtenidos (0.3052–0.3814; media = 0.3551) reflejan un nivel moderado de polimorfismo, lo que sugiere que los marcadores RAPD aplicados fueron adecuados para distinguir la variación genética entre las cepas. Este grado de diversidad es consistente con lo reportado en otros estudios sobre hongos fitopatógenos. Resultados similares fueron reportados por Zafar et al. (2025) en su estudio con *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium solani* y *F. oxysporum*, donde los valores de PIC alcanzaron hasta 0.416, lo que demuestra la utilidad de los marcadores RAPD para evaluar la diversidad genética en hongos patógenos. Por otro lado, Patel et al. (2018), en *Colletotrichum falcatum*, registraron un valor promedio de PIC de 0.705 al combinar marcadores RAPD e ISSR, lo que evidencia que el uso conjunto de diferentes tipos de marcadores puede aumentar la resolución en los estudios de variabilidad genética.

Las diferencias entre ambos estudios pueden explicarse por el tipo de marcador empleado, la cantidad de loci amplificados o las particularidades biológicas de cada organismo. Además, procesos como la recombinación sexual y las mutaciones espontáneas contribuyen a generar una mayor diversidad genotípica en las poblaciones fúngicas.

El índice de diversidad de Shannon obtenido en este estudio (46.17–55.99%, media = 52.37%) refleja un nivel moderado de diversidad genética entre los aislados de

Neopestalotiopsis. Este resultado sugiere que, si bien existe una variabilidad apreciable dentro de la población analizada, la estructura genética podría estar condicionada por un origen común o por una dispersión limitada entre los sitios de muestreo.

Por, ejemplo, en el caso de *Histoplasma capsulatum*, Sahaza et al. (2019) aplicaron análisis RAPD-PCR para estudiar la estructura poblacional y encontraron que el índice de Shannon fue un indicador clave para detectar diferencias genéticas relacionadas con el origen geográfico de los aislados. Sus resultados demostraron que este parámetro es útil para revelar patrones de diversidad y estructuración genética en hongos patógenos, respaldando su uso en estudios similares.

De manera comparable, Wang et al. (2025) reportaron valores de diversidad genética relativamente bajos en poblaciones de *T. koraiensis*, donde el índice de Shannon varió entre 0.0462 y 0.2614, con una media de 0.1687. Dichos autores observaron que la diversidad genética entre poblaciones era ligeramente superior a la registrada dentro de ellas, lo que sugiere un flujo génico restringido y cierta diferenciación geográfica. En el caso de *Neopestalotiopsis*, la tendencia a una diversidad moderada podría indicar un patrón similar, en el que las poblaciones mantienen cierta conectividad genética, pero con un grado de aislamiento suficiente para generar variación entre aislados de diferentes procedencias.

Así mismo, los resultados de compatibilidad micelial evidenciaron una alta heterogeneidad dentro de la población de *Neopestalotiopsis* spp., lo que indica la existencia de varios grupos de compatibilidad vegetativa. Este tipo de agrupación suele estar relacionado con diferencias genéticas entre los individuos, ya que los MCG reflejan la estructura poblacional. En estudios con *Sclerotinia sclerotiorum*, se ha demostrado una estrecha relación entre los MCG y los linajes multilocus, donde gran parte de la variación genética se explicó por las diferencias entre los grupos de compatibilidad (Silva et al., 2021). Cota-Barreras et al., (2022) estudiaron como en poblaciones de *Macrophomina phaseolina* aisladas de garbanzo en México se identificaron seis grupos de compatibilidad micelial, a pesar de que todos los aislados correspondieron a la misma especie según análisis moleculares. Este resultado evidencia que, aun dentro de una misma especie, pueden existir diferencias genéticas reflejadas en los patrones de compatibilidad micelial. Por lo tanto, la variabilidad observada entre los aislados de *Neopestalotiopsis* spp. podría

interpretarse como un indicador de diversidad genética intrapoblacional, lo que respalda la utilidad de las pruebas de compatibilidad como herramienta para inferir la estructura genética de las poblaciones fúngicas.

Los resultados de este estudio demuestran que las poblaciones de *Neopestalotiopsis* spp. presentan una diversidad genética moderada, sustentada tanto por los marcadores moleculares como por los patrones de compatibilidad micelial. Estos hallazgos aportan una base sólida para comprender la dinámica poblacional del patógeno y pueden contribuir al diseño de estrategias de manejo más efectivas, así como a futuras investigaciones sobre su evolución y adaptación en diferentes hospedantes.

CONCLUSIONES

Las observaciones morfométricas revelaron diferencias en el tamaño y la forma de las conidias, particularmente en la longitud de los apéndices y en la proporción entre las células, lo que sugiere cierta heterogeneidad morfológica entre los aislados. No obstante, estos resultados deben interpretarse con cautela, ya que la identificación molecular se sustentó únicamente en la región ITS.

Por otra parte, los análisis con marcadores RAPD y las pruebas de compatibilidad micelial evidenciaron una diversidad genética moderada, lo que indica que las poblaciones de *Neopestalotiopsis* spp. no son completamente uniformes. Esta variabilidad podría estar relacionada con su modo de reproducción predominantemente asexual, así como con mutaciones o recombinaciones esporádicas que favorecen la aparición de nuevos genotipos.

Las características morfológicas y moleculares de los aislados obtenidos en Michoacán muestran similitudes con especies previamente descritas como patogénicas en fresa, lo que sugiere que podrían corresponder a linajes con comportamiento fitopatógeno, según la literatura disponible. En conjunto, los resultados obtenidos cumplen con los objetivos planteados y permiten establecer una aproximación integral a la caracterización morfológica y genética de *Neopestalotiopsis* spp. Este trabajo sienta las bases para futuros estudios que profundicen en la delimitación taxonómica de las especies y en la comprensión de su papel en la patogenicidad y dinámica poblacional en los cultivos de fresa.

Aunque en el presente estudio no se realizaron pruebas de inoculación en plantas de fresa, los antecedentes de patogenicidad de *Neopestalotiopsis* spp. en este cultivo respaldan la relevancia de las variantes detectadas. La variabilidad genética observada podría estar asociada con diferencias en agresividad o adaptación, tal como se ha documentado para poblaciones del género en otras regiones productoras.

REFERENCIAS

- Abd-El-Kareem, F., Elshahawy, I.E. & Abd-Elgawad, M.M.M. Management of strawberry leaf blight disease caused by *Phomopsis obscurans* using silicate salts under field conditions. *Bull Natl Res Cent* 43, 1 (2019). <https://doi.org/10.1186/s42269-018-0041-2>
- Acosta González, U. (2022). Caracterización de aislamientos de *Neopestalotiopsis* spp. y efecto de fungicidas en pre y post-infección en el cultivo de fresa (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma Chapingo).
- Amorim, D. F., Machado, J. P., Lopes, A. C., Magalhães, L. de O., Dantas, B. L., & Silva, S. X. de B. (2025). Diagnóstico fitossanitário e manejo do morango em Boninal, Bahia. *International Journal of Development Research*, 15(9), 69176–69182. <https://doi.org/10.37118/ijdr.30154.09.2025>
- Avilés, M., Pastrana, A. M., & Borrero, C. (2024). Emerging diseases in Spain strawberry crops: *Neopestalotiopsis* leaf and crown rot and *Fusarium* wilt. *Plants*, 13(23), 3441. <https://doi.org/10.3390/plants13233441>
- Ayoubi, N., & Soleimani, M. J. (2016). Strawberry fruit rot caused by *Neopestalotiopsis* iranensis sp. nov., and *N. mesopotamica*. *Current Microbiology*, 72(3), 329-336. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0955-y>
- Baggio, J. S., Forcelini, B. B., Wang, N. Y., Ruschel, R. G., Mertely, J. C., & Peres, N. A. (2021). Outbreak of leaf spot and fruit rot in Florida strawberry caused by *Neopestalotiopsis* spp. *Plant Disease*, 105(2), 305-315. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1290-RE>
- Bellemain, E., Carlsen, T., Brochmann, C., Coissac, E., Taberlet, P., & Kauserud, H. (2010). ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in-silico approach reveals potential PCR biases. *BMC Microbiology*, 10, 189. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-189>
- Chamorro, M., Aguado, A., & De los Santos, B. (2016). First report of root and crown rot caused by *Pestalotiopsis clavispora* (*Neopestalotiopsis clavispora*) on strawberry in Spain. *Plant Dis*, 100(7), 1495.

- Collado-Romero, M., Mercado-Blanco, J., Olivares-García, C., Valverde-Corredor, A., & Jiménez-Díaz, R. M. (2006). Molecular variability within and among *Verticillium dahliae* vegetative compatibility groups. *Phytopathology*, *96*(11), 1224–1235. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-1224>
- Cota-Barreras, C. I., García-Estrada, R. S., Valdez-Torres, J. B., León-Félix, J., Valenzuela-Herrera, V., & Tovar-Pedraza, J. M. (2022). Molecular detection, virulence, and mycelial compatibility of *Macrophomina phaseolina* isolates associated with chickpea wilt in Sinaloa and Sonora, Mexico. *Canadian Journal of Plant Pathology*, *44*(6), 849–857. <https://doi.org/10.1080/07060661.2022.2084642>
- Dardani, G., Martino, I., Aloï, F., Carli, C., Giordano, R., Spadaro, D., & Guarnaccia, V. (2025). Characterization of *Neopestalotiopsis* species associated with strawberry crown rot in Italy. *Agronomy*, *15*(2), 1-18.
- Daugovish, O., Bolda, M., Kaur, S., Mochizuki, M. J., Marcum, D., & Epstein, L. (2012). Drip irrigation in California strawberry nurseries to reduce the incidence of *Colletotrichum acutatum* in fruit production. *HortScience*, *47*(3), 368–373. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.47.3.368>
- Delgado, A., Toro, M., Memenza-Zegarra, M., & Zúñiga-Dávila, D. (2023). Control of white rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in strawberry using arbuscular mycorrhizae and plant-growth-promoting bacteria. *Sustainability*, *15*(4), 2901. <https://doi.org/10.3390/su15042901>
- Earnshaw, D., & Boland, G. J. (1997). Mycelial compatibility groups in *Sclerotium cepivorum*. *Plant pathology*, *46*(2), 229-238. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1997.d01-13.x>
- Erdurmuş, D., Palacioğlu, G., & Erdurmuş, G. (2023). First report of *Neopestalotiopsis rosae* causing leaf spot and crown rot of strawberry in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, *105*, 315. <https://doi.org/10.1007/s42161-022-01218-8>
- Fernández-Ozuna, Y. A., Álvarez, A. G., Lopez-Nicora, H. D., Alvarenga, A. A., & Colmán, A. A. (2023). First report of *Neopestalotiopsis rosae* causing leaf spot and crown rot on strawberry (*Fragaria x ananassa*) in Paraguay. *New Disease Reports*, *48*(2). <https://doi.org/10.1002/ndr2.12239>

- Filiz Ünal, Ayşe Aşkın, Ercan Koca, Mesut Yıldırım & M. Ümit Bingöl. Mycelial compatibility groups, pathogenic diversity and biological control of *Sclerotium rolfsii* on turfgrass. *Egypt J Biol Pest Control* 29, 44 (2019). <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0144-6>
- Gerardo-Lugo, S. S., Tovar-Pedraza, J. M., Maharachchikumbura, S. S., Apodaca-Sánchez, M. A., Correia, K. C., Saucedo-Acosta, C. P., Camacho-Tapia M., Hyde K. D., Marraiki N., Elgorban A. M., & Beltrán-Peña, H. (2020). Characterization of *Neopestalotiopsis* species associated with mango grey leaf spot disease in Sinaloa, Mexico. *Pathogens*, 9(10), 788. <https://doi.org/10.3390/pathogens9100788>
- Gilardi, G., Bergeretti, F., Gullino, M. L., & Garibaldi, A. (2019). First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing root and crown rot on strawberry in Italy. *Plant disease*, 103(11), 2959-2959. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-19-0673-PDN>
- Hancock, J. F., Finn, C. E., Luby, J. J., Dale, A., Callow, P. W., & Serçe, S. (2010). Reconstruction of the strawberry, *Fragaria x ananassa*, using genotypes of *F. virginiana* and *F. chiloensis*. *HortScience*, 45(7), 1006-1013. DOI: 10.21273/HORTSCI.45.7.1006
- Hidrobo-Chavez, J., Ramírez-Villacís, D. X., Barriga-Medina, N., Herrera, K., & León-Reyes, A. (2022). First report of *Neopestalotiopsis mesopotamica* causing root and crown rot on strawberry in Ecuador. *Plant Disease*, 106(3), 1066. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-21-1278-PDN>
- Hoang, D. T., Chernomor, O., von Haeseler, A., Minh, B. Q., & Vinh, L. S. (2018). UFBoot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular Biology and Evolution* 35 (2), 518–522. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx281>
- Júnior, C. L., Gomes, E. V., Lobo Júnior, M., Nasser, L. C. B., & Petrofeza, S. (2011). Genetic diversity and mycelial compatibility groups of the plant-pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* in Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 10(2), 868–877. <https://doi.org/10.4238/vol10-2gmr937>

- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K. F., von Haeseler, A., & Jermini, L. S. (2017). ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, 14(6), 587–589. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>
- Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Keith, L. M., Velasquez, M. E., & Zee, F. T. (2006). Identification and characterization of *Pestalotiopsis* spp. causing scab disease of guava, *Psidium guajava*, in Hawaii. *Plant Disease*, 90(1), 16-23. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0016>
- Kermani, F., Shams-Ghahfarokhi, M., Gholami-Shabani, M., & Razzaghi-Abyaneh, M. (2016). Diversity, molecular phylogeny and fingerprint profiles of airborne *Aspergillus* species using random amplified polymorphic DNA. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(6), 96. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2052-1>
- Khan, M.F.A., Riaz, A., Ahsan, R. et al. Genetic Variability Among Isolates of *Curvularia lunata* and *Exserohilum rostratum* Causing Brown Leaf Spot of Rice from Pakistan. *Curr Microbiol* 82, 436 (2025). <https://doi.org/10.1007/s00284-025-04425-5>
- Koike, S. T., Kirkpatrick, S. C., & Gordon, T. R. (2009). *Fusarium* wilt of strawberry caused by *Fusarium oxysporum* in California. *Plant Disease*, 93(10), 1077-1077. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-10-1077A>
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA 12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, 41. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>
- Kumari, N., & Thakur, S. K. (2014). Randomly amplified polymorphic DNA-a brief review. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 9(1), 6-13. doi:10.3844/ajavssp.2014.6.13
- Lawrence, D. P., Brittain, G. D., Aglave, B., & Sances, F. V. (2023). First Report of *Neopestalotiopsis rosae* causing crown and root rot of strawberry in California. *Plant Disease*, 107(2), 566. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-22-0871-PDN>

- Ling, X., Chen, Y., Wei, Y., Jiang, S., Ye, J., Chen, J., Xu, F., Wu, F., & Shao, X. (2026). A WRKY IIc transcription factor, FaWRKY47 enhances postharvest resistance to *Botrytis cinerea* in strawberry via activation of jasmonate biosynthesis and antioxidant defenses. *Postharvest Biology and Technology*, 232, 113967. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2025.113967>
- Machín, A., González, P., Vicente, E., Sánchez, M., Estelda, C., Ghelfi, J., & Silvera-Pérez, E. (2019). First report of root and crown rot caused by *Neopestalotiopsis clavispora* on strawberry in Uruguay. *Plant Disease*, 103(11), 2946-2946. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-19-0948-PDN>
- Maharachchikumbura, S. S., Guo, L. D., Chukeatirote, E., Bahkali, A. H., & Hyde, K. D. (2011). *Pestalotiopsis*—morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. *Fungal diversity*, 50(1), 167-187. <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0125-x>
- Maharachchikumbura, S. S., Hyde, K. D., Groenewald, J. Z., Xu, J., & Crous, P. W. (2014). *Pestalotiopsis* revisited. *Studies in Mycology*, 79(1), 121-186. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.005>
- McNally, J., Prapagar, K., Goldenhar, K., Pate, E., Shan, S., & Kalischuk, M. (2023). First report of an aggressive species of *Neopestalotiopsis* affecting strawberry in Canada. *New Disease Reports*, 48(1). DOI:10.1002/ndr2.12210
- Menolli Jr, N., & Sánchez-García, M. (2020). Brazilian fungal diversity represented by DNA markers generated over 20 years. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(2), 729–749. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00206-y>
- Merseguel, K. B., Nishikaku, A. S., Rodrigues, A. M., et al. (2015). Genetic diversity of medically important and emerging *Candida* species causing invasive infection. *BMC Infectious Diseases*, 15, 57. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0793-3>
- Moreno-Velázquez, M., Hernández-Pablo, S., Quezada-Salinas, A., Alvarado-Rosales, D., Saavedra Romero, L. L., & Rodríguez-Mendoza, J. (2025). First report of *Neopestalotiopsis australis* causing fruit rot on *Byrsonima crassifolia* in, Mexico. *New Disease Reports*, 51(1).

- Müller, M., Kües, U., Budde, K.B. et al. Applying molecular and genetic methods to trees and their fungal communities. *Appl Microbiol Biotechnol* 107, 2783–2830 (2023). <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12480-w>
- Nguyen, L.-T., Schmidt, H. A., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1), 268–274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- Nilsson, R. H., Kristiansson, E., Ryberg, M., Hallenberg, N., & Larsson, K. H. (2008). Intraspecific ITS variability in the kingdom Fungi as expressed in the international sequence databases and its implications for molecular species identification. *Evolutionary Bioinformatics*, 4, 193–201. <https://doi.org/10.4137/EBO.S653>
- Obregón, V. G., Meneguzzi, N. G., Ibañez, J. M., Lattar, T. E., & Kirschbaum, D. S. (2018). First report of *Neopestalotiopsis clavisporea* causing root and crown rot on strawberry plants in Argentina. *Plant disease*, 102(9), 1856-1856. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0330-PDN>
- Olivares-Rodríguez, G., Ángeles-Núñez, J. G., Mondragón-Rojas, F., Rivas-Valencia, P., Zárate-Castrejón, J. L., Mariscal-Amaro, L. A., Díaz-Espino, L. F., & Martínez-Martínez, T. O. (2024). Control in vitro de *Neopestalotiopsis* sp. aislada de fresa empleando *Trichoderma* y fungicidas comerciales. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 42(4), 52. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2024-28>
- Olivares-Rodríguez, G., Ángeles-Núñez, J. G., Mondragón-Rojas, F., Rivas-Valencia, P., Zárate-Castrejón, J. L., Mariscal-Amaro, L. A., Díaz-Espino, L. F., & Martínez-Martínez, T. O. (2025). Control in vitro of *Neopestalotiopsis* sp. isolated from strawberry by *Trichoderma* and commercial fungicides. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 42(spe), RMEXFIT202428. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2024-28>
- Oliveira, M., & Azevedo, L. (2022). Molecular markers: An overview of data published for fungi over the last ten years. *Journal of Fungi*, 8(8), 803. <https://doi.org/10.3390/jof8080803>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2022, marzo 29). La FAO acoge con satisfacción la decisión de establecer el Día Internacional

de la Sanidad Vegetal. FAO. <https://www.fao.org/newsroom/detail/fao-welcomes-decision-to-mark-international-day-of-plant-health/es>

- Patel, P., Rajkumar, B. K., Parmar, P., Shah, R., & Krishnamurthy, R. (2018). Assessment of genetic diversity in *Colletotrichum falcatum* Went accessions based on RAPD and ISSR markers. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(1), 153-159. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.11.006>
- Raeder, U., and Broda, P. 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Lett. Appl. Microbiol.* 1:17-20
- Rakhonde, G.Y., Supriya, M.L. & Sriram, S. First report of the association of *Neopestalotiopsis javaensis* causing leaf spot and fruit rot of strawberry in the southern part of India. *Indian Phytopathology* 78, 487–492 (2025). <https://doi.org/10.1007/s42360-025-00863-0>
- Rambaut, A. (2016). FigTree v1.4.4. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> (Accessed May 2025).
- Rampersad, S. N. (2014). ITS1, 5.8S and ITS2 secondary structure modelling for intra-specific differentiation among species of the *Colletotrichum gloeosporioides sensu lato* species complex. *SpringerPlus*, 3, 684. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-684>
- Rebollar-Alviter, A., Silva-Rojas, H. V., Fuentes-Aragón, D., Acosta-González, U., Martínez-Ruiz, M., & Parra-Robles, B. E. (2020). An emerging strawberry fungal disease associated with root rot, crown rot and leaf spot caused by *Neopestalotiopsis rosae* in Mexico. *Plant Disease*, 104(8), 2054-2059. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2493-SC>
- Rhouma, A., Hajji-Hedfi, L., Ben Othmen, S., Shah, K. K., Matrood, A. A. A., Okon, O. G., & Pant, D. (2022). Strawberry grey mould, a devastating disease caused by the airborne fungal pathogen *Botrytis cinerea*. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 50(2), 44–50. <https://doi.org/10.21608/EJP.2022.161763.1070>
- Rojas, A. E. F., Gonzalez, L. C., & Carrillo, D. A. P. (2023). Spectral signature of leaf spot (*Mycosphaerella fragariae*) in strawberry plants (*Fragaria x ananassa* Duch) related to NDVI and NDRE index. *INGE CUC*, 19(2), 1. <http://doi.org/10.17981/ingecuc.19.2.2023.04>

- Rotondo, F., Klass, T. L., Scott, K., McCartney, M., Jacobs, J. M., & Lewis Ivey, M. L. (2023). First report of *Neopestalotiopsis* disease in Ohio caused by an emerging and novel species of *Neopestalotiopsis* on strawberry. *Plant Disease*, *107*(3), 940. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-22-0400-PDN>
- Sahaza, J. H., Duarte-Escalante, E., Canteros, C., Rodríguez-Arellanes, G., Reyes-Montes, M. R., & Taylor, M. L. (2019). Analyses of the genetic diversity and population structures of *Histoplasma capsulatum* clinical isolates from Mexico, Guatemala, Colombia and Argentina, using a randomly amplified polymorphic DNA-PCR assay. *Epidemiology & Infection* *147*, e204. doi:10.1017/S0950268819000931
- Sarmiento-Chacón, M., Hernández-García, V., Rodríguez-Larramendi, L. A., Salas-Marina, M. Á., & Ríos-Velasco, C. (2023). *Neopestalotiopsis* sp. and *Colletotrichum karstii*, causal agents of leaf spots on camedor palm (*Chamaedorea quezalteca*) in Mexico. *Revista mexicana de fitopatología*, *41*(2), 165-181.
- Schierling, T. E., Voegelé, R. T., & El-Hasan, A. (2024). First report on the emergence of *Neopestalotiopsis rosae* as a severe economic threat to strawberry production in Germany. *Microorganisms*, *13*(1), 6. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13010006>
- Schmid, A., Daniel, C. & Weibel, F. Effect of cultural methods on leaf spot (*Mycosphaerella fragariae*) and gray mold (*Botrytis cinerea*) damage in strawberries. *Biocontrol* *50*, 179–194 (2005). <https://doi.org/10.1007/s10526-004-0453-9>
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., ... & Fungal Barcoding Consortium. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(16), 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2024). Anuario estadístico de la producción agrícola (Base de datos). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. https://nube.agricultura.gob.mx/cierre_agricola/

- Shi, J., Zhang, X., Liu, Y., Zhang, Z., Wang, Z., Xue, C., Ma, Y., & Wang, F. (2022). First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing calyx and receptacle blight on strawberry in China. *Plant disease*, 106(4), 1307. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-21-1376-PDN>
- Silva, R. A., Ferro, C. G., Lehner, M. D. S., Paula Jr, T. J., & Mizubuti, E. S. (2021). The population of *Sclerotinia sclerotiorum* in Brazil is structured by mycelial compatibility groups. *Plant Disease*, 105(11), 3376-3384. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-21-0110-RE>
- Simard, S. Z., Blauer, K. A., & Holmes, G. J. (2025). Evaluation of Fungicides for Strawberry Powdery Mildew Management Under Greenhouse Conditions in San Luis Obispo, California, Summer 2024. *Plant Health Progress*, PHP-05. <https://doi.org/10.1094/PHP-05-25-0151-PDMR>
- Singh Saharan, G., Mehta, N.K., Meena, P.D. (2023). Pathogenomics of Pathogenic Variability. In: Genomics of Crucifer's Host- Pathosystem . Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-3812-2_5
- Steyaert, R. L. (1949). Contribution à l'étude monographique de *Pestalotia* de Not. et *Monochaetia* Sacc.(*Truncatella* gen. nov. et *Pestalotiopsis* gen. nov.). Bulletin du Jardin botanique de l'Etat, Bruxelles/Bulletin van den Rijksplantentuin, Brussel, 285-347.
- Sun, Q., Harishchandra, D., Jia, J., Zuo, Q., Zhang, G., Wang, Q., ... & Li, X. (2021). Role of *Neopestalotiopsis rosae* in causing root rot of strawberry in Beijing, China. *Crop Protection*, 147, 105710.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Tanović, B., Hrustić, J., Mihajlović, M., Nikolić, M., Delibašić, G., & Grahovac, M. (2014). Strawberry Production in Serbia and Some Economically Important Diseases. *Acta Horticulturae*, 1049, 839-844. 10.17660/ActaHortic.2014.1049.133
- Thakur, R., Singh, V., & Banerjee, D. (2023). Use of molecular marker in fruit crops for their traits and genetical diversity analysis. *E3S Web of Conferences*, 453, 01020. EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202345301020>

- Torres-Calzada, C., Tapia-Tussell, R., Higuera-Ciapara, I., & Perez-Brito, D. 2013. Morphological, pathological and genetic diversity of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose in papaya (*Carica papaya* L). *European Journal of Plant Pathology*, 135(1), 67-79.
- Valencia-Ledezma, O. E., Castro-Fuentes, C. A., Duarte-Escalante, E., Frías-De-León, M. G., & Reyes-Montes, M. D. R. (2022). Selection of polymorphic patterns obtained by RAPD-PCR through qualitative and quantitative analyses to differentiate *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Fungi*, 8(3), 296. <https://doi.org/10.3390/jof8030296>
- Wang, J., Zhang, Y., Wang, R., Lan, X., Yuan, J., Yu, Z., & Du, F. (2025). RAPD analysis of genetic diversity in *Thuja koraiensis* Nakai population. *Revista Árvore*, 49, e4929. <https://doi.org/10.53661/1806-9088202549263914>
- Whitaker, V. M., Knapp, S. J., Hardigan, M. A., Edger, P. P., Slovin, J. P., Bassil N. V., Hytönen T., Mackenzie K. K., Lee S., Jung S., Main D., Barbey C. R., & Verma, S. (2020). A roadmap for research in octoploid strawberry. *Horticulture Research*, Volume 7, 33. <https://doi.org/10.1038/s41438-020-0252-1>
- Wu, H. Y., Tsai, C. Y., Wu, Y. M., Ariyawansa, H. A., Chung, C. L., & Chung, P. C. (2021). First report of *Neopestalotiopsis rosae* causing leaf blight and crown rot on strawberry in Taiwan. *Plant Disease*, 105(2), 487-487. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-1045-PDN>
- Yang, H., Zang, Y., Yuan, Y., Tang, J., & Chen, X. (2012). Selectivity by host plants affects the distribution of arbuscular mycorrhizal fungi: Evidence from ITS rDNA sequence metadata. *BMC Evolutionary Biology*, 12, 50. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-50>
- Zafar, U. B., Rana, I. A., Khan, S. H. U., & Atif, R. M. 2025. Molecular characterization of shisham dieback-associated fungal isolates across the Punjab Province, Pakistan. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 2025, 2024153. <https://doi.org/10.35495/ajab.2024.153>
- Zhang, S., Wu, J., Chen, J., Jun, S., Yuan, Y., Dai, X., ... & Ma, Y. (2024). The biological control effect of *Bacillus cereus* on strawberry leaf spot disease caused by

Neopestalotiopsis clavispora. *Scientia Horticulturae*, 327, 112841.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.112841>

Zhang, Y.-Z., Li, Z., Man, J., Xu, D., Wen, L., Yang, C., Xu, Q., Jiang, Q.-T., Chen, G.-Y., Deng, M., Peng, Y.-L., Zhong, K., Qi, P.-F., & Wei, Y.-M. (2023). Genetic diversity of field isolates of *Fusarium asiaticum* and *Fusarium graminearum* increases the risk of fungicide resistance. *Phytopathology Research*, 5(51).
<https://doi.org/10.1186/s42483-023-00206-9>

Zhang, Y., Song, M., Zhu, S., & Si, Y. (2025). Comprehensive analysis of *Fusarium* spp. associated with red stele root rot of strawberry (*Fragaria x ananassa*) in northern Zhejiang, China. *Biological Control*, 105876.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2025.105876>