

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Evaluación *in vitro* de Diferentes Ingredientes Activos para el Control de
Neopestalotiopsis sp. en el Cultivo de Fresa (*Fragaria × ananassa*)

Por:

ALEJANDRA ZAVALA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Evaluación *in vitro* de Diferentes Ingredientes Activos para el Control de
Neopestalotiopsis sp. en el Cultivo de Fresa (*Fragaria × ananassa*)

Por:


ALEJANDRA ZAVALA ZAVALA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Asesor Principal




Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz
Asesor Principal Externo



Dra. Mariana Beltrán Beaché
Coasesor



Dr. Ernesto Cerna Chávez
Coasesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2024.

Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante:



Alejandra Zavala Zavala

AGRADECIMIENTOS

A Dios que me ha guiado por hacerme fuerte para superar las dificultades y me ha dado sabiduría e inteligencia para alcanzar esta meta también le agradezco toda la salud que me ha traído para que pueda culminar en esta etapa tan importante de mi vida.

A mis padres quienes han sido mi mayor fuente de apoyo y motivación durante todo este proceso, les agradezco desde lo más profundo de mi corazón por su amor incondicional, sacrificio y confianza en mí en cada etapa de mi vida. Sin su apoyo no habría sido posible llegar hasta aquí.

A la UAAAN que durante mi tiempo aquí, no solo adquirí los conocimientos necesarios para mi desarrollo profesional, sino que también aprendí el valor de la dedicación, la perseverancia y la búsqueda constante de la excelencia.

Mi más profundo agradecimiento al Dr. Juan Carlos por su paciencia y dedicación infinita, su apoyo constante para la elaboración del proyecto, gracias por brindarme sus conocimientos, apoyo y la confianza. Gracias por su generosidad en el tiempo y los esfuerzos que ha invertido en mi formación.

Quiero agradecer a todos los profesores que me acompañaron a lo largo de la carrera por su incansable orientación, compromiso y confianza, que hicieron posible este sueño tan especial.

A mis amigos de Michoacán que han creído en mí y me han motivado a seguir adelante y me ayudaron siempre que los necesite a lo largo de estos años.

A hermanas mi hermana adoptiva y su familia gracias por su apoyo incondicional en todo momento. Gracias por estar siempre a mi lado, por brindarme su amor y compañía por cada risa compartida que han sido un impulso constante para seguir adelante. Sin ustedes, este camino habría sido mucho más difícil.

A mis amigos Rubén Ortega y Daniel Castillo quienes han sido un apoyo invaluable a lo largo de este proceso. Su paciencia, gracias por estar siempre ahí para

escucharme, por las risas que me hicieron olvidar el estrés. Cada conversación, cada gesto de apoyo y cada momento compartido me motivaron a seguir adelante, y sin ustedes, este logro no habría sido el mismo, esta tesis es tan suya como mía.

DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón a las mis papas que han sido mi mayor in inspiración y apoyo por todo su amor y sacrificio incondicional, por siempre creer en mí, sin su apoyo incondicional este no habría sido posible, gracias por darme las herramientas necesarias para alcanzar mis sueños.

A mi papa esta tesis es un reconocimiento a tu apoyo incondicional, a tu amor y a tus sabios consejos, los cuales han sido fundamentales en mi formación. Gracias por ser mi guía, mi fortaleza y mi ejemplo a seguir en cada paso que doy. Sin ti, este logro no habría sido posible.

A mi mama que, con tu amor incondicional, tu dedicación me has dado la fuerza para alcanzar mis sueños. Gracias por enseñarme, con tu ejemplo, el significado de la perseverancia y la paciencia. Eres mi inspiración y la razón por la que sigo adelante con tu apoyo todo puede posible.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	IV
DEDICATORIA.....	VI
INDICE DE TABLAS	IX
INDICE DE FIGURAS	X
RESUMEN	XI
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Producción mundial de fresa	4
Importancia de la fresa en México	4
Cultivo de fresa	5
Origen	5
Requerimientos climáticos del cultivo de fresa	6
Morfología del cultivo de fresa	6
Raíz	6
Corona	6
Estolones	7
Flores	7
Hojas	7
Fruto	7
Etapas de desarrollo del cultivo	8
Principales plagas del cultivo de fresa	9
Principales enfermedades de la fresa	9
Enfermedad de la mancha purpura, pudrición de raíz y corona (<i>Neopestalotiopsis clavispora</i>)	10
Taxonomía.....	10
<i>Neopestalotiopsis rosae</i> se encuentra clasificado taxonómicamente de la siguiente manera (EPPO, 2021)	10
Morfología de <i>Neopestalotiopsis</i>	11
Morfología de <i>Neopestalotiopsis rosae</i>	11
Morfología de <i>Neopestalotiopsis clavispora</i>	12
Sintomatología <i>Neopestalotiopsis</i> sp.	13

Epidemiología.....	14
Control.....	16
Control biológico	16
Control Biorracional	17
Control cultural.....	17
Control químico.....	17
METODOLOGÍA	19
Muestreo	19
Aislamiento y purificación	19
Identificación	20
Producción de inóculo	20
Evaluación <i>in vitro</i> de la efectividad biológica de fungicidas (técnica de microplaca) en el control de <i>Neopestalotiopsis</i> sp.	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
CONCLUSIÓN	35
BIBLIOGRAFIA.....	36

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción mundial de fresa (Ramirez, 2021)	4
Tabla 2. Producción nacional de fresa (SIAP, 2024).....	5
Tabla 3. Principales plagas del cultivo de fresa.....	9
Tabla 4. Fungicidas implementados en el control de <i>Neopestalotiopsis sp.</i>	17
Tabla 5. Efecto inhibitorio de los fungicidas en <i>Neopestalotiopsis sp.</i>	28
Tabla 6. Efecto inhibitorio de los fungicidas en <i>Neopestalotiopsis sp.</i>	32
Tabla 7. Concentración letal media de los fungicidas evaluados en <i>Neopestalotiopsis sp.</i>	33
Tabla 8. Comparación de la DE ₅₀ determinadas para en <i>Neopestalotiopsis sp.</i> con las reportadas en la literatura.	34

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología <i>Neopestalotiopsis rosae</i>	12
Figura 2. Morfología <i>Neopestalotiopsis clavispora</i>	13
Figura 3. Sintomatología de <i>Neopestalotiopsis sp.</i>	14
Figura 4. Ciclo de vida de <i>Pestalotiopsis sp.= Neopestalotiopsis sp.</i>	16
Figura 5. Evaluación de fungicidas por medio de la técnica de microplaca...21	
Figura 6. Sintomatología, crecimiento micelial y morfología de <i>Neopestalotiopsis sp.</i>	23

RESUMEN

La fresa (*Fragaria ananassa*) es un cultivo de gran importancia en México por su gran aportación económica; una de las principales enfermedades por las que se ve afectado este cultivo es la enfermedad conocida como mancha purpura, pudrición de raíz y corona causada por *Neopestalotiopsis* sp., generando grandes pérdidas que pueden llegar a afectar hasta el 70% de la producción. Una alternativa para combatir esta enfermedad es el control químico una de las mejores opciones. Por lo cual, en este trabajo se evaluó la sensibilidad e inhibición *in vitro* de *Neopestalotiopsis* sp. de 12 diferentes ingredientes activos por la técnica de microplaca a concentraciones de 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.812, 3.906 ppm; obteniendo que los ingredientes activos metalaxil-M, extracto de gobernadora, carbendazim, ciprodinil + Fludioxonil y sulfato de cobre pentahidratado presentaron una DE₅₀ que oscila de entre 0.40 – 168 ppm, presentando un control superior al 70% de inhibición de crecimiento micelial de *Neopestalotiopsis* sp.

Palabras claves: *Neopestalotiopsis* sp., pudrición de corona y raíz, fungicidas, ciprodinil + fludioxonil, inhibición.

INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria ananassa*) es cultivada en todo el mundo, muy apreciada por el color y su sabor. Por esta razón se han desarrollado variedades que se adaptan a todos los climas y regiones del mundo. Hasta el año 2019 Estados Unidos fue el mayor productor de fresa abarcando un tercio de la producción mundial, pero también existen otros países con gran producción a nivel mundial como Corea del Sur, Japón, España, Polonia, y Rusia. En la actualidad China, Estados Unidos, España y México lideran la producción mundial de fresa (Acosta, 2022).

En los últimos años, las enfermedades causadas por hongos han ocasionado fuertes pérdidas económicas en la producción de fresa. Estas pérdidas son variables año con año; estando en función con las condiciones climáticas y el manejo del cultivo, llegando en algunos casos a alcanzar pérdidas del 50% de su producción. Las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos se han incrementado en casi todas las zonas productoras de México, convirtiéndose en uno de los problemas más importantes de los diversos cultivos, siendo la región del Bajío una de las zonas con fuerte incidencia de enfermedades de origen fúngico (Pérez *et al.*, 2019).

En México se ha reportado que los problemas fitosanitarios que limitan el cultivo de fresa son los hongos y pseudohongos causando enfermedades entre las cuales encontramos la mancha angular (*Xanthomonas fragariae*), antracnosis (*Colletotrichum* spp.), moho gris (*Botrytis cinérea*), peca de la hoja (*Ramularia tulasnei*), cenicilla (*Spharotheca macularia*), oidio (*Podosphaera aphanis*), mildiu (*Peronospora rubi*), pudrición de la corona (*Rhizoctonia solani*), pudrición de la raíz

(*Phytophthora* spp.) y la enfermedad conocida como mancha púrpura, pudrición de raíz y corona (*Neopestalotiopsis clavispora*) (Valencia, 2024).

Neopestalotiopsis sp. en los últimos años ha producido grandes pérdidas en México, especialmente en el estado de Michoacán ocasionado hasta una 50 %, esta enfermedad se presenta principalmente en cultivos de fresa a campo abierto ya que están expuestos a lluvias y largos periodos de humedad; siendo estas las condiciones favorables para dicha enfermedad, los síntomas que se presentan son manchas en hojas que comienzan como puntos cafés en anillos concéntricos, frutos de coloración dorada y pudrición blanda, corona con necrosis color marrón, raíces con necrosis marrón oscuro y marchitamiento en el follaje. Esta enfermedad es difícil de controlar una vez que se introduce en un campo, porque puede sobrevivir en suelo, residuos vegetales y hospedantes alternos (CESAVEM , 2022).

JUSTIFICACIÓN

Siendo que en los últimos años la enfermedad de la pudrición de la corona y del raíz (*Neopestalotiopsis* sp.) ha tomado mayor relevancia en el cultivo de fresa, colocándose como una de las principales enfermedades en el cultivo en la zonas productoras de Michoacán. Por lo que evaluar la sensibilidad a los fungicidas de cepas de *Neopestalotiopsis* sp. aisladas de muestras de la región se vuelve esencial para el manejo de la enfermedad.

OBJETIVOS GENERAL

Evaluar el efecto de ingredientes activos perteneciente a los grupos químicos de los triazoles, fenilaminas, estrobirulinas+triazoles, cloronitrilos, anilino pirimidinas + fenilpirroles, cobres, carboximidazoles, benzimidazoles, ditiocarbamatos y un extracto vegetal en *Neopestalotiopsis* sp. bajo condiciones *in vitro* por la técnica de microplaca.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de Rango 520EW®, Ridomil Gold 480SL®, Amistar Gold®, Estrocelo 250 SC®, DELTANIL 720 SC®, PROGRANIC Mega®, Switch®, DELTA AZUL®, Captan 50 WP®, Tlaloc 50 P.H.®, THIRAM GRANUFLO®, Sanatil 25 ce® sobre *Neopestalotiopsis* sp. en condiciones *in vitro*.

Determinar la Concentración Efectiva media (DE₅₀) de Rango 520EW®, Ridomil Gold 480SL®, Amistar Gold®, Estrocelo 250 SC®, DELTANIL 720 SC®, PROGRANIC Mega®, Switch®, DELTA AZUL®, Captan 50 WP®, Tlaloc 50 P.H.®, THIRAM GRANUFLO®, Sanatil 25 ce® sobre *Neopestalotiopsis* sp. en condiciones *in vitro*.

HIPOTESIS

Se espera que al menos uno de los ingredientes activos muestre una eficiencia superior al 85 por ciento en la inhibición micelial de *Neopestaolliopsis* sp. en las evaluaciones con la técnica de la microplaca

REVISIÓN DE LITERATURA

Producción mundial de fresa

Entre los principales países productores de fresa, en primer lugar esta china con una producción de 3.4 millones de toneladas representado el 35% de la producción mundial, siguiendo de Estados Unidos y México- La producción mundial total para el 2020 fue de 8,861,381 toneladas disminuyendo en 1.6% con relación al año anterior (SIAP, 2020).

Tabla 1. Producción mundial de fresa (Ramirez, 2021)

País	Producción (Ton)
China	3,779,831
Estados Unidos	1,431,050
México	415,150
Turquía	415,150

Importancia de la fresa en México

La producción de fresa en México ha crecido en los últimos diez años en un 35.55% con una superficie de 15,267 hectáreas y una producción de 642 mil toneladas, colocándolo en quinto productor a nivel mundial; siendo Michoacán el estado con mayor producción con 401,800 toneladas, representando el 58.7 % de la producción nacional. Baja California ocupa el segundo lugar con una producción de 108,154 toneladas con 25.4% de la producción nacional; mientras que Guanajuato aporta

100,971 toneladas ocupando la tercera posición como productor nacional, siendo los principales estados productores aportan el 97% de la producción nacional de fresa, de los cuales el 52.21 % de la producción es para la exportación, representado el 87.79% en Estados Unidos y cumpliendo con los requerimientos nacionales (SIAP, 2024).

Tabla 2. Producción nacional de fresa (SIAP, 2024)

Estado	Producción (Ton)	Valor de la producción (Millones de dólares)
Michoacán	401,800	9'689,513.3
Baja California	108,154	2'608,162.3
Guanajuato	100,971	2'434,942.4
Jalisco	18,395	443,600.2
México	7,446	179,562.2
Aguascalientes	3,190	76,927.6
Tlaxcala	361	8,705.6
Sinaloa	302	7,282.8
Oaxaca	289	6,969.3

Cultivo de fresa

Origen

La fresa silvestre es originaria de Europa de la región de los Alpes, comenzó a ser cultivada a principios del siglo XV, después los españoles descubrieron una nueva especie *F. chiñonensis* de donde se obtuvo el fresón que es más dulce y resistente (MAPA, 2021)

La fresa que se cultiva actualmente *Fragaria* × *ananassa* fue descrita por G. Darrow en su libro "The Strawberry" (1966), relatando que *F. x ananassa* fue la especie que revolucionó la producción de fresa para el mundo, realizando cruces para así obtener

una especie hermafrodita y de mayor calidad a las ya conocidas, resultando *F. x ananassa* con las características hortícolas que durante 300 años permitió la expansión global de la producción de fresa y, contrariamente al principio de que la diversidad genética es limitada en la fresa cultivada, se ha comprobado que *F. x ananassa* alberga tanta diversidad alélica como cualquiera de sus parentales silvestres (Kirschbaum, 2022).

Requerimientos climáticos del cultivo de fresa

La fresa necesita una altitud de entre 800 a 2500 metros sobre el nivel del mar, días cálidos y largos ayudan al crecimiento de las hojas y la formación de estolones, mientras que los días cortos le favorecen para la floración, la planta prefiere una iluminación media, la orientación de las hileras ayuda para optimizar mejor la interpretación de la luz y tener un mejor rendimiento y tamaño de fruta (Sønsteby *et al.*, 2009). Para la inducción floral las temperaturas óptimas van de 10°- 20° C con un fotoperiodo de 12 horas. La temperatura es muy importante para la absorción de nutrientes, ya que a altas temperaturas se reduce la formación de flores y la calidad de la fruta (INIFAP, 2013)

Morfología del cultivo de fresa

Raíz

Las fresas cuentan con un sistema radicular fasciculado, caracterizándose por componerse de raíces y raicillas múltiples, por lo general, es fibroso y de desarrollo superficial, alcanzando una distribución lateral de 30 cm aproximadamente y hasta 50 cm de profundidad dependiendo de las condiciones del suelo, humedad y variedad. (Kirschbaum, 2022).

Corona

Tiene forma de roseta de hasta tres centímetros cubierta de hojas llamadas estipulas. Produciendo hojas en intervalos muy pequeños, en el crecimiento

vegetativo es por donde se desplaza la inflorescencia. La lignificación es la causante de su apariencia leñosa (Benavides & Moran, 2022)

Estolones

Son tallos rastreros, originados de las yemas de la corona. Una planta puede llegar a producir de 8 a 40 estolones en una temporada de crecimiento, cada estolón puede producir de 6-8 plantas. El desarrollo de los estolones está influido por las horas luz y por una temperatura relativa alta (Larson y Shaw, 2000).

Flores

Se forman a partir de meristemas terminales de las coronas. El número y tipo de flores es variable de acuerdo con la variedad y dependiendo del clima. Cada flor está formada por un pedúnculo floral, sépalos, pétalos, pistilos y estambres. La diferenciación floral en variedades de día corto se da a partir de fines de verano y en el otoño cuando las horas luz son menores de 13 o 14 horas y cuando disminuye la temperatura, en variedades de día neutro pueden producir flores en cualquier momento del año, pero teniendo como limitante temperaturas altas (Garcia, 2024).

Hojas

Son pinnadas y trifoliadas con filotaxia espiralada. Tienen epidermis, palizada y mesófilo típicas de las dicotiledóneas y estomas en el envés. Las hojas viejas van reemplazadas por nuevas, que están presentes como primordios foliares. En una yema vegetativa generalmente hay de 5 a 10 primordios foliares (Kirschbaum D. , 2022) .

Fruto

Es una infrutescencia de frutos aquenios (fruto falso) con receptáculo de color rojo, carnoso y similar al de una baya, los frutos verdaderos son las semillas; en la planta se encuentra frutos primarios, secundario y terciarios, el periodo de la fructificación va de 20-50 días (Benavides & Moran, 2022).

A continuación, se presenta la clasificación taxonomía de la fresa (USDA, 2024)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Rosales

Familia: Rosaceae

Subfamilia: Potentillaea

Subtribu: Fragariinae

Género: *Fragaria*

Especie: *Fragaria* x
ananassa.

Etapas de desarrollo del cultivo

El cultivo de fresa presenta las etapas de desarrollo vegetativa, reproductiva y productiva; donde en la etapa vegetativa presentan los brotes, las yemas principales comienzan a crecer, desarrollo de las hojas (de las primeras hojas emergentes hasta nueve o más hojas desplegadas), comenzando de la formación de estolones. La etapa reproductiva comienza con la aparición de órgano floral primeras yemas florales salidas. primeras flores abiertas, plena floración y caída de pétalos. Mientras la etapa productiva representa la formación y maduración de fruto, senescencia y comienzo del reposo vegetativo (Rodríguez, 2023).

Principales plagas del cultivo de fresa

Existen gran variedad de plagas que atacan al cultivo de fresa que pueden llegar a causar grandes pérdidas económicas en el cultivo (Tamba, 2015).

Tabla 3. Principales plagas del cultivo de fresa

Nombre común	Nombre científico
Araña ciclamen	<i>Phytonemus pallidus</i>
Araña roja	<i>Tetranychus urticae</i>
Hormiga cortadora	<i>Acromyrmex octospinosus</i>
Pulgon de la fresa	<i>Chaetosiphon fragaefolii</i>
Chinche	<i>Lygus</i>
Mosquita blanca	<i>Bemisia tabaci</i>
Trips	<i>Frankliniella occidentalis</i>
Trips	<i>Thrips tabaci</i>
Gusano falso medidor	<i>Trichoplusia ni</i>
Gusano del fruto	<i>Heliothis spp</i>
Gusano soldado	<i>Spodoptera exigua</i>
Minador de la hoja	<i>Liriomyza spp</i>
Gallina ciega	<i>Phyllophaga spp</i>
Chicharrita	<i>Dalbulus maidis</i>

Principales enfermedades de la fresa

La fresa es muy susceptible a contraer enfermedades bacterianas y fúngicas siendo estas las que más lo dañan. Ocasionalmente grandes pérdidas encontramos la mancha angular (*Xanthomonas fragariae*), antracnosis (*Colletotrichum spp.*), moho gris (*Botrytis cinérea*), peca de la hoja (*Ramularia tulasnei*), cenicilla (*Spherotheca macularia*), oidio (*Podosphaera aphanis*), mildiu (*Peronospora rubi*), pudrición de la corona (*Rhizoctonia solani*), pudrición de la raíz (*Phytophthora spp.*) y mancha

purpura, pudrición de raíz y corona (*Neopestalotiopsis clavispora*) siendo esta última una de las más importantes en los últimos años (Valencia, 2024).

Enfermedad de la mancha purpura, pudrición de raíz y corona (*Neopestalotiopsis clavispora*)

Neopestalotiopsis sp. infecta un gran número de huéspedes en todo el mundo, los síntomas principales de este hongo son la pudrición de fruta y tallo, mancha en la hoja y pudrición postcosecha. Las especies más importantes son *Neopestalotiopsis piceana*, *N. samarangensis*, *Pseudopestalotiopsis camelliae sinensis* y *Ps. Indica*. Las enfermedades causadas por este género se vuelven cada vez más graves (Darapanit *et al.*, 2021).

El primer reporte en el mundo de *Neopestalotiopsis clavispora* fue en 2016 en España (Chamorro *et al.*, 2016), en México *Neopestalotiopsis rosae* en el cultivo de fresa fue en 2017 en Michoacán en los municipios de Zamora y valle de Michoacán (Rebollar *et al.*, 2020) y para *Neopestalotiopsis clavispora* el primer reporte fue en 2018 en el estado de Puebla en el municipio de Atlixco (Moreles, 2019). En México la *Neopestalotiopsis rosae* y otras especies son de suma importancia para el cultivo de fresa ya que desde el 2018 la producción ha sufrido grandes pérdidas de más del 50% en producción y hasta del 30 % en trasplante, mientras que en Ecuador este género ha causado pérdidas de hasta el 70 %. Esta enfermedad es un gran problema para el cultivo de fresa causando grandes pérdidas económicas reduciendo la producción, el control de ésta puede llegar a ser muy difícil (Aguilera, 2023) ya que una vez que la enfermedad es introducida al campo puede sobrevivir por mucho tiempo en suelo, residuos vegetales y hospederos alternos (SENASICA, 2022).

Taxonomía

Neopestalotiopsis rosae se encuentra clasificado taxonómicamente de la siguiente manera (EPPO, 2021)

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Amphisphaeriales

Familia: Sporocadaceae

Género: *Neopestalotiopsis*

Morfología de *Neopestalotiopsis*

Morfología de *Neopestalotiopsis rosae*

Neopestalotiopsis rosae produce acérvulos conidiales de cinco células filiformes y elipsoidales, las conidios de dos células con de color marrón del centro y hialinas con pared fina obconica, con un tamaño de entre 22-37 μm de longitud y 7-9 μm de ancho. Ostiolo prominente rodeado por un collar de células hialinas, el micelio liso de color oscuro con ascas y ascosporas cilíndricas de 14-23 μm de largo y 4-6 μm de ancho con una sola septa y apéndices basales no ramificado, en PDA es de color blanco con borde lobulado, el micelio se eleva moderado en la superficie, presentando conidiomas concéntricos negros, alcanzando de 30-40 mm de diámetro después de 7 días a 25 °C (Maharachchikumbura *et al.*, 2014).

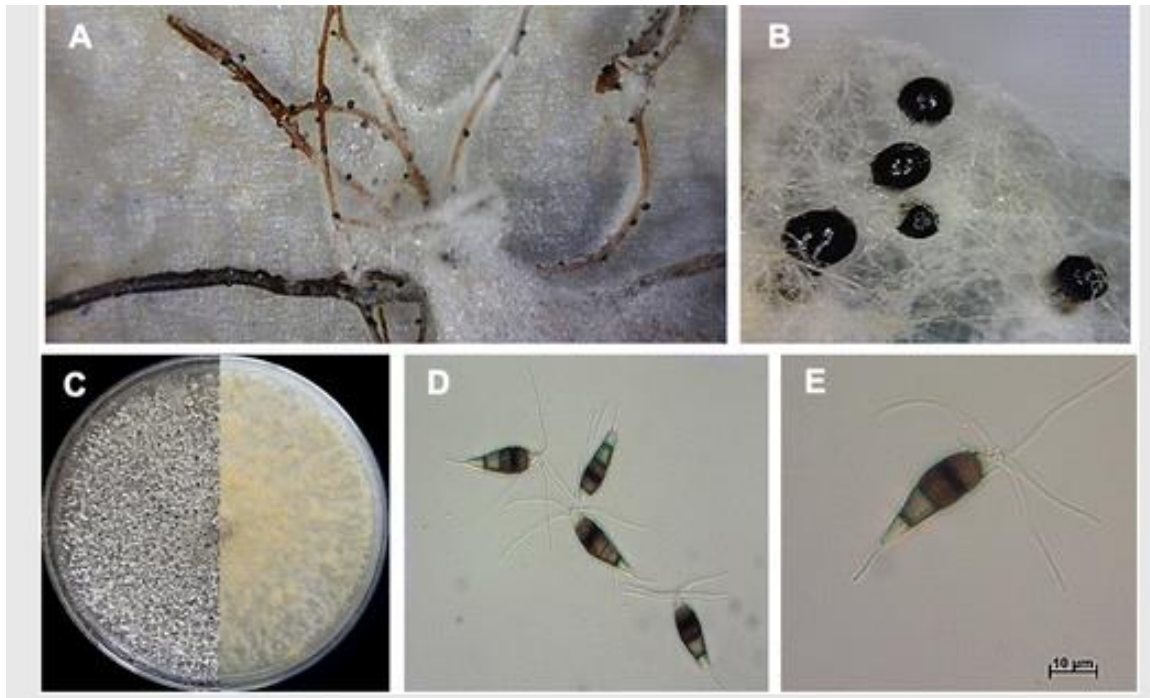


Figura 1. Morfología *Neopestalotiopsis rosae*.

A. acérvulos en raíces de fresa formados en una cámara húmeda, **B.** primer plano de los acérvulos, **C.** *Neopestalotiopsis rosae* en medio de cultivo PDA, **D y E.** conidios de *Neopestalotiopsis rosae* tomada de (CESAVEM , 2022)

Morfología de *Neopestalotiopsis clavispora*

La principal característica de *Neopestalotiopsis clavispora* es que presenta acérvulos de aproximadamente 100 µm de ancho, conidios fusiformes y elipsoides de 8-24 µm con cinco células hialinas y marrones con un apéndice basal y 2-4 apéndices apicales en conidios (Obregon *et al.*, 2018), en PDA presenta micelio algodonoso aéreo conidios fusiformes o claviformes de 23 × 6 µm , curvos, con cuatro septos, células basales hialinas cónicas de tres a cuatro apéndices hialinos de 24 µm, células centrales versicoloreadas siendo más oscuras a las basales. Estas especies a nivel morfológico no se pueden diferenciar ya que comparten características, por lo que su identificación es mediante pruebas moleculares (Gilardi *et al.*, 2019).

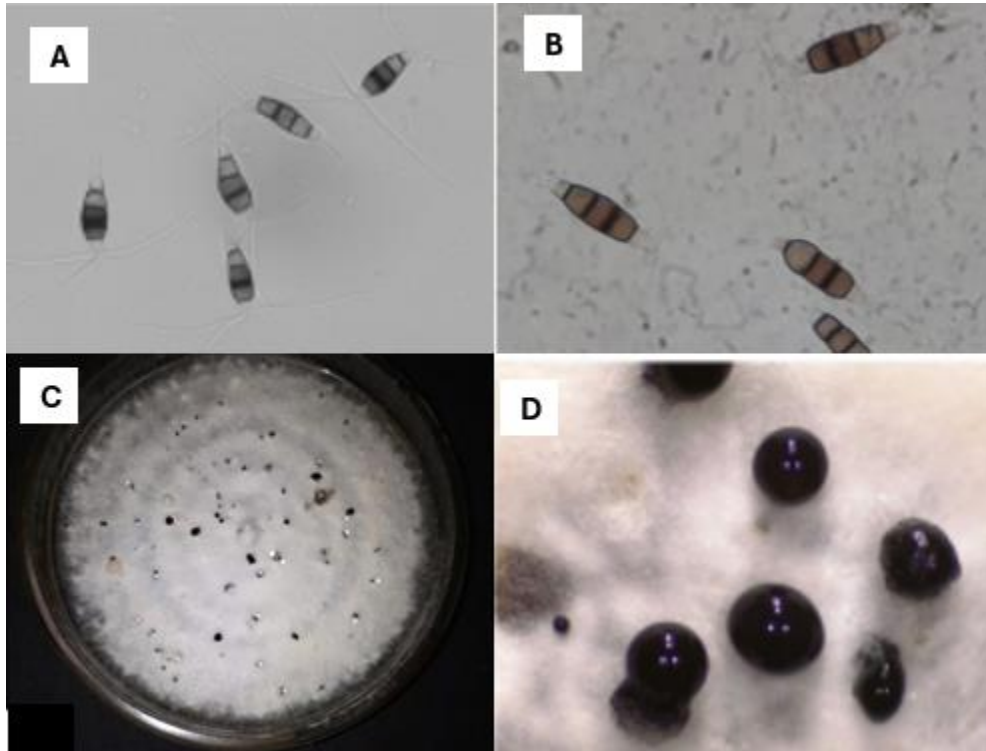


Figura 2. Morfología *Neopestalotiopsis clavispora*.

A y B. conidios de *Neopestalotiopsis clavispora* **C.** *Neopestalotiopsis clavispora* en medio de cultivo PDA, **D.** primer plano de los acérvulos, tomada de: Ibañez *et al.*, 2023, y Zhang, 2024.

Sintomatología *Neopestalotiopsis* sp.

Los síntomas se presentan en todas las partes de la planta, el principal síntoma que se puede observar es en las hojas con los márgenes necróticos rojizos llegando a cubrir la hoja conforme avanza la enfermedad, en la corona la necrosis puede ser en la parte superior o inferior y en los frutos aparece en lesiones necróticas circulares hundidas que van desde los sépalos hasta el interior del fruto, en los estolones con lesiones hundidas marrones hacia el peciolo llegando hasta la corona, el interior de las raíces se puede ver de color marrón al realizar un corte longitudinal (Ibañez *et al.*, 2023).

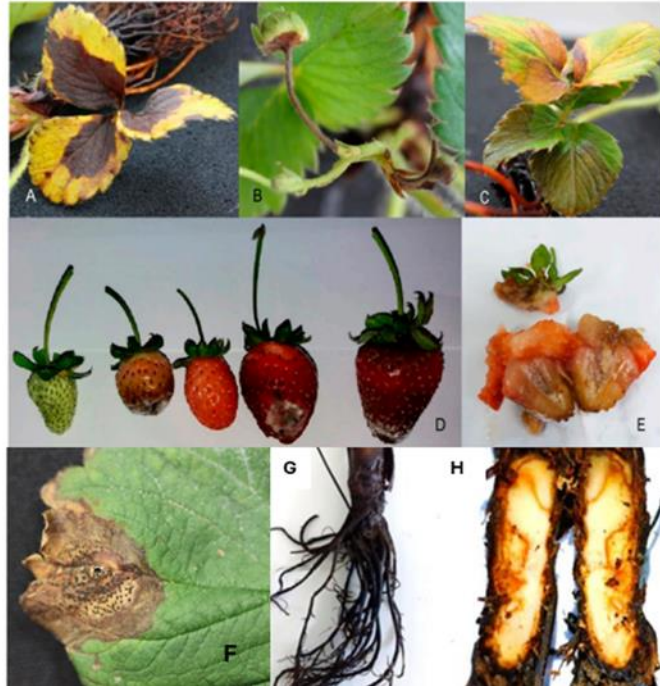


Figura 3. Sintomatología de *Neopestalotiopsis* sp.

A. Necrosis en la parte central de las hojas, **B.** Botón floral con necrosis en las brácteas y el pecíolo, **C.** Hoja con síntomas de clorosis y manchas verdosas, **D.** Frutos con antracnosis en diferentes estados de maduración, **E.** Pudrición de frutos maduros y daño en los sépalos, **F.** manchas en las hojas que contienen signos del hongo. **G y H.** Pudrición de la raíz y corona. Autoría de las imágenes: González, 2023; CESAVEM , 2022;

Epidemiología

El genero *Neopestalotiopsis* es considerado un hongo oportunista ya que se presenta en plantas con heridas, su fuente de inóculo muchas veces viene de plantas silvestres o malezas, restos de algunos cultivos, sustratos o herramientas contaminadas, salpicaduras de aguas, acercamiento por el viento , actividades agrícolas del cultivo, sucediendo cuando los acervolos se rompen y así liberan los conidios sobre la superficie de la hoja o algún otro órgano- Para que su desarrollo necesita de periodos largos de humedad y lluvias, la temperatura óptima para su

desarrollo va de entre 20-27 °C, una humedad relativa de 95-100%. Pero puede llegar a desarrollarse en temperaturas de hasta 5 °C después de más de 48 horas de humedad en la planta, los largos periodos de humedad y lluvias ayudan mucho a la propagación, tiende a desarrollarse a plantaciones a campo abierto (CESAVEM, 2022).

Las estructuras infectivas son los conidios que entran en contacto con tejido germinativo penetrando a través de la cutícula infectando el tejido, formando lesiones en condiciones de mucha humedad relativa, este proceso comienza a las 48 hr después de la Inoculación, a las 72 horas presenta los tubos germinativos, a 96 horas las hifas invaden las células formando los acévalos; después de 144 horas completa su ciclo con la liberación de conidios (figura 4), sin embargo, el inoculo secundario puede causar infecciones secundarias incrementando la intensidad de la enfermedad, hasta puede llegar a actuar como endófito durante algún periodo determinado (Acosta, 2022).

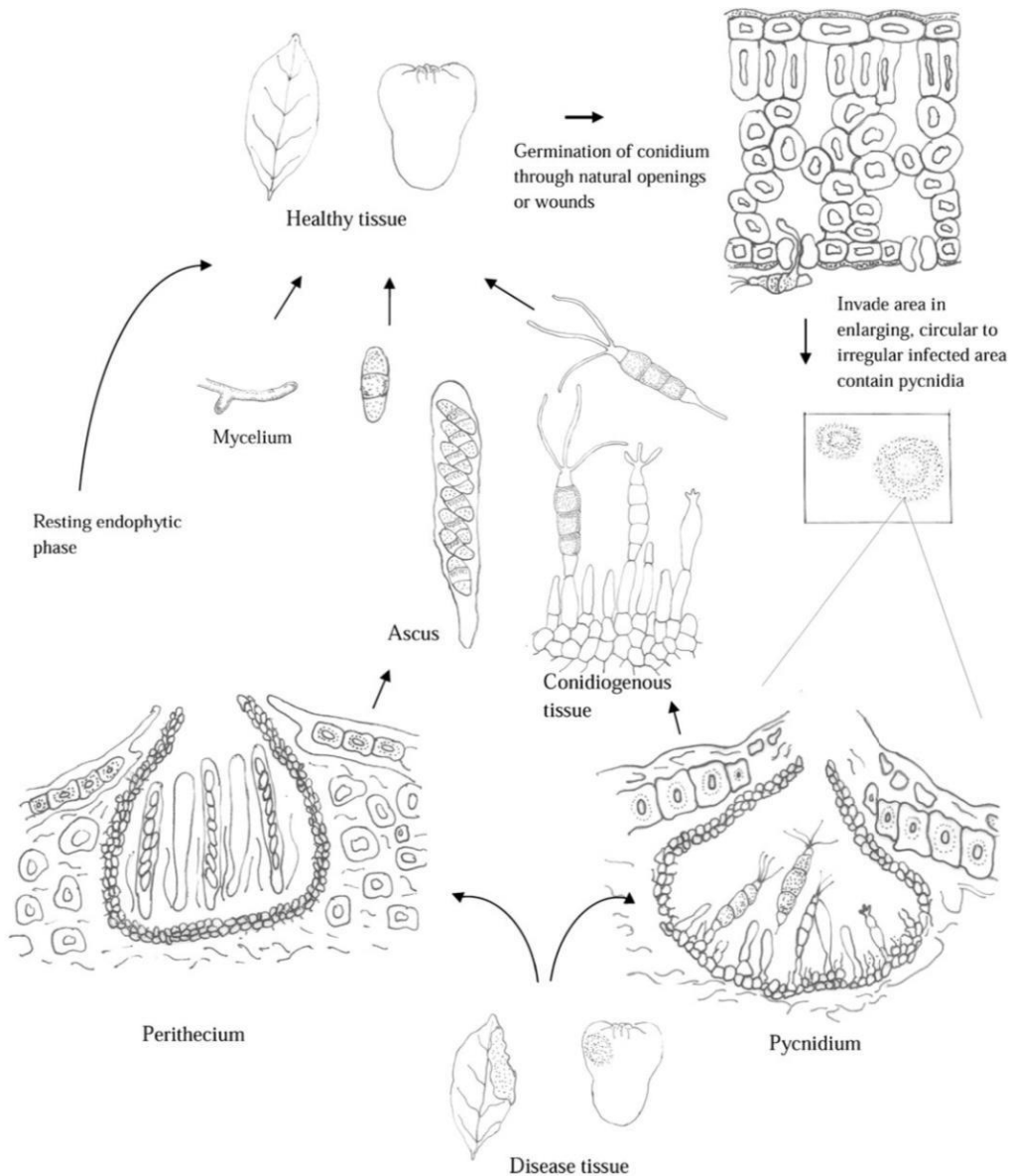


Figura 4. Ciclo de vida de *Pestalotiopsis* sp.= *Neopestalotiopsis* sp. (Acosta, 2022).

Control

Control biológico

Como alternativas biológicas para el control el agente causal de la podredumbre de raíces y corona en fresa (*Neopestalotiopsis clavispora*) se ha utilizado *Trichoderma* sp. (cepa: INTA) y *Trichoderma Asperellum*, *Bacillus methylotrophicus* donde se

obtuvieron inhibiciones de 61,1 % por *B. methylotrophicus*; mientras que para *Trichoderma* se presentaron inhibiciones para *T. asperellum* 89.7 % y *Trichoderma* sp. (INTA) 86.8% respectivamente (Kirschbaum, 2023). Otro estudio en campo menciona que *Bacillus cereus* también ayuda a la inhibición significativa de la enfermedad aumentando la actividad enzimática (Zhang, 2024).

Control Biorracional

En el estudio en laboratorio para la inhibición de *Neopestalotiopsis* sp. con extractos vegetales de jengibre, jamaica, zacate limón, clavo y cúrcuma; se demostró que extractos de clavo y cúrcuma; registraron una inhibición mayor al 80% a los 14 días; mientras que los extractos de jengibre, jamaica y zacate limón presentan una inhibición menor al 50% en una concentración de 1000 mg/L (Darapanit *et al.*, 2021).

Control cultural

Para el control cultural se recomienda adquirir plántulas libres del patógeno, realizar un tratamiento antifúngico en la raíz antes del trasplante, colocar acolchado con el suelo húmedo para realizar una solarización, eliminación de hojas y frutos, realizar riego solo por goteo y evitar encharcamiento, tener un buen control de malezas ya que pueden ser un hospedero de la enfermedad, evitar las operaciones en campo cuando las plantas están mojadas para evitar la propagación (CESAVEM, 2022).

Control químico

Hasta el momento no se cuenta con ningún fungicida registrado para el control de esta enfermedad; La efectividad de fungicidas para *Neopestalotiopsis* se ha probado en laboratorio y campo, con resultados prometedores del más de 50% de inhibición, en los cuales podemos aplicar Fluazinam, Chlorothalonil, Fludioxonil, Ciprodinil, Thiram, Captan, Flutriafol, Propiconazol y Difenconazol, gracias a estos se ha notado un aumento del rendimiento de frutos (CESAVEM, 2022).

Tabla 4. Fungicidas implementados en el control de *Neopestalotiopsis* sp.

Grupo Químico	I.A.	Código FRAC
Benzimidazoles	Benomilo	1
Benzimidazoles	Tiofanato de metilo	1
Carboximidias	Iprodione	2
Imidazoles	Procloraz	3
Triazoles	Difenoconazol	3
Triazoles	Tebuconazole	3
Triazoles	Flutriafol	3
Triazoles	Myclobutanil	3
Triazoles	Propiconazol	3
Triazoles	Tetraconazol	3
Triazoles	Triflumizol	3
Carbiximidias	Benzovindiflupyr	7
Piridiniletibenzamidias	Fluopyram	7
Carbiximidias	Isofetamida	7
Carbiximidias	Penthiopyrad	7
Carbiximidias	Pydiflumetofen	7
Carbiximidias	Piraziflumid	7
Anilino pirimidinas	Cyprodinil	9
Metoxiacrilatos	Azoxystrobin	11
Fenilpirroles	Fludioxonil	12
Quinolinas	Quinoxifeno	13
Hidroxianilidas	Fenhexamid	17
Hidroxianilidas	Fenpirazamina	17
Dinitroanilinas	Fluazinam	29
Fenilacetamidias	Cyflufenamid	U06
Ditiocarbamatos	Thiram	M03
Ftalimidias	Captan	M04
Cloronitrilos	Chlorothalonil	M05

Fuentes: CESAVEM (2022); Darapanit *et al.*, (2021) y Baggio *et al.*, (2022).

METODOLOGÍA

Muestreo

Las plantas fueron colectadas en enero del 2024 en Tiripetío, Morelia, Michoacán; las plantas presentaban la sintomatología característica de la enfermedad conocida como Neopestalotiopsis, hojas con manchas color marrón a púrpura, bordes oscuros, necrosis en la corona y un lento desarrollo, en los frutos tonalidad dorada a bronceada depositándolas en una bolsa de plástico para posteriormente trasladarlas al laboratorio de fitopatología de la universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Aislamiento y purificación

Las plantas se lavaron con agua simple y se seccionaron en pequeños trozos de tejido de un centímetro cuadrado con secciones sanas y enfermas; separando hojas, tallo y raíz, desinfectando con hipoclorito de sodio al 3 % durante un minuto, posteriormente se realizan tres lavados con agua estéril y se colocaron sobre papel absorbente, una vez secos se colocaron en la caja Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar PDA (MCD LAB®) (preparado según las recomendaciones del fabricante) y colocadas dentro de la incubadora a 35 °C. Para la purificación, a las 48 horas se tomó un explante de cada uno de los hongos que presentaron crecimiento en el agar, colocando en cajas Petri con medio de cultivo PDA y estas se llevaron nuevamente a la incubadora a una temperatura de 35° por 72 horas.

Identificación

Para la identificación morfológica se realizaron montas para posteriormente observar en el microscopio óptico las características microscópicas de las conidias (células basales, célula apical y la presencia de apéndices) (Maharachchikumbura *et al.*, 2012; 2014).

Producción de inóculo

Se preparó caldo nutritivo peptona de gelatina y extracto de carne (MCD LAB); en un matraz se colocaron 8 gr del polvo en un litro de agua esteril dejando reposar por cinco minutos y calentando con agitación constante hasta disolverse, esterilizando en el autoclave a 120° C durante 20 minutos; dejando enfriar para posteriormente incorporar la muestra directamente con la ayuda de la aguja de disección, enseguida el matraz fue colocado en agitación constante durante siete días a 150 rpm, para posteriormente ajustar la concentración de esporas con ayuda de un hematocitómetro a una concentración de 1×10^8 UFC/mL.

Evaluación *in vitro* de la efectividad biológica de fungicidas (técnica de microplaca) en el control de *Neopestalotiopsis* sp.

La metodología utilizada fue mediante la técnica de microdilución en placa, adaptada de las técnicas propuestas por Masoko *et al.*, (2005) y Gabrielson *et al.*, (2002). Los productos para evaluar fueron los siguientes: Rango 520EW® (Tebuconazole, UPL®), Ridomil Gold 480SL® (Metalaxil-M, Syngenta®), Amistar Gold® (Azoxistrobin+Difeconazol, Syngenta®), Estrocelo 250 SC® (Azoxistrobin, KOOR AGRO®), DELTANIL 720 SC® (Clorotalonil, DELTA®), PROGRANIC Mega (Extracto de gobernadora, Celuz AGRO®), Switch® (cyprodinil+fludioxonil, Syngenta®), DELTA AZUL® (Sulfato de cobre pentahidratado, DELTA®), Captan 50 WP® (Captan, ADAMA®), Tlaloc 50 P.H.® (Carbendazim, UPL®), THIRAM GRANUFLO® (Thiram, EASTMAN CHEMICAL®), Sanatil 25 ce® (Propiconazole, DELTA®) en placas de polietileno de 96 pozos con el siguiente procedimiento:

1. Se agrego 100 μL de caldo nutritivo a cada cavidad de la microplaca.
2. Se preparó una solución de cada tratamiento a una concentración de 2000 mg/L, usando como solvente agua; posteriormente se colocaron 100 μL de las preparaciones a 2000 mg/L a partir de la columna cuatro, se mezclaron y se volvió a tomar 100 μL , y se transfirieron a la columna seis, siete y así sucesivamente realizando diluciones seriadas al 50 % hasta la columna 12. teniendo como resultado concentraciones de 1000 mg/L, 500 mg/L y 250 mg/L, 125 mg/L, 62.5 mg/L, 31.2 mg/L, 15.6 mg/L, 7.8 mg/L y 3.9 mg/L.
3. El siguiente paso fue agregar 40 μL de CCT agente revelador de crecimiento a todas las cavidades.
4. Finalmente, de la columna dos se agregó 10 μL de la solución de esporas de *Neopestalotiopsis* a 1×10^8 UFC/mL.

Las microplacas s incubaron por 24 horas y se realizó una lectura de absorbancia a 490 nm en un espectro fotómetro Multiskan Go (Thermo Scientific). Se consideró crecimiento positivo del hongo a los tratamientos donde el pozo presentó un color rosado y negativo a los que no presentaron ningún color, además de sus respectivos valores de absorbancia.

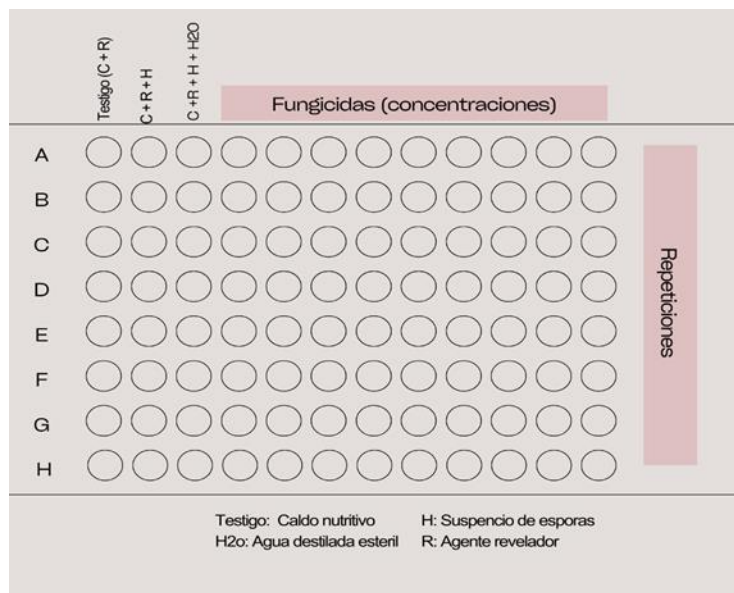


Figura 5. Evaluación de fungicidas por medio de la técnica de microplaca

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación. Los síntomas que se presentaron en las plantas muestreadas fueron los siguientes: las hojas presentaron manchas en hojas de color café, coloraciones rojizas a morado, marchitamiento, necrosis en el follaje, en la corona se presentó necrosis y reblandecimiento del tejido, reducción del sistema radicular y raíces de color marrón; lo anterior concuerda con lo reportado por Chamorro *et al.*, (2016); Shi *et al.*, (2021) y Juliana *et al.*, (2021).

La cepas aisladas de fresa mostraron las siguientes características: las colonias de hongos presentaron un crecimiento en el medio PDA de color blanco y algodonoso, con bordes ondulados, circulares (Figura 6F). Los acérvulos presentaron un color negro, concéntricos, con crecimiento en toda la placa después de 15 días (Figura 6G). Los conidios eran septados fusiformes a elipsoides y de cinco células. Las células apicales y basales eran hialinas, mientras que la segunda, tercera y cuarta célula eran de color marrón con septos y paredes periclinales más oscuras al resto. Las conidias presentaban un apéndice en la célula a basal alargada hialina, mientras que la célula apical presentó tres apéndices apicales filiformes las características antes mencionadas corresponden a *Neopestalotiopsis clavispora* (Figura 6E) (Chamorro *et al.*, 2016; Maharachchikumbura *et al.*, 2014).



Figura 6. Sintomatología, crecimiento micelial y morfología de *Neopestalotiopsis* sp.

A. Necrosis de raíz y corona de tallo, **B.** Plantas muertas, **C.** Necrosis de la corona, **D.** Manchas rojizas moradas en las hojas **E.** Acérvolos en frutos **F.** Conidia de cinco células y apéndices en células basales y apicales de *Neopestalotiopsis clavispora*, **G** y **H.** Crecimiento micelial de *Neopestalotiopsis clavispora* en medio de cultivo PDA.

Evaluación *in vitro* de los fungicidas en *Neopestalotiopsis clavispora*. Las tablas 5 y 6 muestra los rangos de inhibición de crecimiento del hongo con los fungicidas evaluados, donde el rango de inhibición oscila entre 3.661 - 100 %. El tebuconazole muestra un rango de inhibición de 9.97 – 54.49 %, donde las concentraciones de 1000 y 500 ppm mostraron la mayor inhibición 54.490 y 49.92, sin mostrar diferencia significativa ($p > 0.001$). Mientras que metalaxil-M demostró un control de entre 27.4 - 78.4 %, siendo las concentraciones de 1000 – 500 ppm las más eficientes con 78.4 – 72.9 %; sin mostrar diferencia significativa. La mezcla de azoxistrobin + difecoanazol mostró una eficiencia de 10.4 – 56.2 % siendo las concentraciones de 125 – 1000 ppm las más eficientes con control de 45.2- 56.9 %, sin mostrar diferencias significativas; mientras que el azoxistrobin presentó una inhibición de 29.1 – 51.6 %, la concentración de 1000 ppm fue la más eficiente con 51.6%. El clorotalonil mostró rango de inhibición que oscila entre 6.5 – 51.1 %, siendo 1000 - 500 ppm las concentraciones más eficientes con 51.1 42.4 % de inhibición sin presentar diferencia significativa. En tanto el extracto de gobernadora mostró una inhibición de 18.3 - 74.1 %, donde la concentración de 1000 ppm fe la que mostró el mayor control (74.1 %). Mientras que la mezcla de ciprodinil + fludioxonil mostró una inhibición desde 34.0 – 100 %, donde los rangos de 125 - 1000 ppm generaron un 100 % de inhibición, el sulfato de cobre pentahidratado promovió una inhibición de 8.9 - 88.7 %, donde la concentración de 1000 ppm fue la más eficiente con 88 % de inhibición en *Neopestalotiopsis* sp. El ingrediente activo (i.a.) captan registró un control de hasta el 57.6 %, donde las concentraciones de 1000-500 ppm no mostraron diferencia significativa en la inhibición (57.6 - 55.6 %). El i.a. carbendazim generó inhibición de entre 5.4 - 44.4 %, siendo las concentraciones de 1000 - 500 ppm donde se mostraron los mayores porcentajes de inhibición (44.4 - 41.1 %). Mientras que en i.a. thiram generó un rango de inhibición de 3.6 - 72.1 %, donde las concentraciones de 500 - 1000 ppm no mostraron deferencias significativas (con 62.3 - 72.1 % de inhibición). El propiconazole generó una inhibición de 3.6 -72.1 %, donde las concentraciones de 1000 – 500 ppm fueron las más eficientes mostrando una inhibición 72.1 – 62.3 % (sin diferencias significativas).

Tabla 5. Efecto inhibitorio de los fungicidas en *Neopestalotiopsis* sp.

Concentración	Inhibición del crecimiento \pm desviación estándar					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
1000	54.490 \pm 8.802a	78.462 \pm 4.637a	56.293 \pm 4.833 ^a	51.695 \pm 6.854a	51.133 \pm 6.492a	74.169 \pm 1.343a
500	49.929 \pm 5.664ba	72.930 \pm 4.638a	55.033 \pm 5.799ba	40.699 \pm 5.383b	42.106 \pm 7.718a	58.639 \pm 2.168b
250	44.689 \pm 2.781bac	52.793 \pm 8.540B	52.752 \pm 8.094bac	40.153 \pm 7.242b	28.127 \pm 11.907b	45.362 \pm 9.497c
125	43.087 \pm 2.202bc	46.009 \pm 4.271B	45.298 \pm 13.449bdac	35.723 \pm 2.92cb	17.903 \pm 7.994cb	44.242 \pm 6.110dc
62.5	42.268 \pm 3.365bc	47.670 \pm 2.480B	42.194 \pm 4.574bdc	35.307 \pm 11.062cb	17.094 \pm 6.507cb	37.038 \pm 4.233dce
31.25	34.799 \pm 11.347dc	43.043 \pm 2.681cb	41.243 \pm 13.698dc	33.789 \pm 7.633cb	16.609 \pm 7.219c	38.462 \pm 5.995dc
15.625	27.959 \pm 8.9195d	34.640 \pm 11.409cd	33.445 \pm 4.985de	33.818 \pm 3.479cb	11.410 \pm 3.873c	33.149 \pm 7.164de
7.812	27.033 \pm 4.391d	28.170 \pm 10.153d	25.690 \pm 9.770e	29.472 \pm 5.071c	9.710 \pm 5.794c	25.749 \pm 9.862fe
3.906	9.971 \pm 7.092e	27.199 \pm 7.040d	10.421 \pm 5.434f	29.137 \pm 5.648c	6.591 \pm 3.231c	18.348 \pm 13.233f
p-valor	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Las medias en la misma columna seguidas de la misma letra no presentan diferencia significativa (Tukey $\alpha=0.05$) F1: Tebuconazol, F2: Metalaxil-M, F3: Azoxistrobin+ Difecoanazol, F4: Azoxistrobin, F5: Clorotalonil, F6: Extracto de gobernadora

Vishwas *et al.*, (2023) mencionan que evaluaron tebuconazole para el control de *Pestalotiopsis sp.* obteniendo como resultado la inhibición de 70.14% a una concentración de 05 %, mientras que en este trabajo se obtuvo una inhibición de 44.6 – 54.4 % con las concentraciones de 250 – 1000 ppm. Siendo que el modo de acción de los triazoles se encarga de inhibir biosíntesis de esteroides en las membranas e inhibición de la demetilación (DMI) (FRAC, 2024). Baggio *et al.*, (2023) evaluaron la aplicación *in vitro* de ciprodinil + fludioxonil en cepas de *Neopestalotiopsis sp* y *N. rosae* donde el rango de inhibición fue de 13.7 – 100 %; lo anterior concuerda con lo obtenido en esta investigación ya que el rango de inhibición oscila entre 37-100 %, considerando que la concentración más elevada que evaluó Baggio *et al.*, (2023) fue de 100 µg/mL. Estos fungicidas pertenecen a los grupo de anilino pirimidinas + fenilpirroles que actúan en los anilino pirimidinas son Inhibidores de la síntesis de aminoácidos y proteínas que afecta la biosíntesis de metionina, Los fenilpirroles actúan en el sistema de transducción de señales afectando la división celular, la síntesis del ADN, ARN y el metabolismo (FRAC, 2024); En el caso de azoxistrobin para determinar la inhibición en *Neopestalotiopsis clavispora* se obtuvo un rango de 29 - 51.6 % de inhibición, siendo que Baggio *et al.*, (2023) reporta inhibición de 3.2 – 43.3 %, estos valores son inferiores a los resultados obtenidos en esta investigación, cabe señalar que el mayor efecto inhibitorio que se obtuvo (51.6 %) fue obtenido a 1000 ppm. Baggio *et al.*, (2023) mencionan que la aplicación de azoxistrobin + difeconazol para el control de *Neopestalotiopsis clavispora* genero una inhibición de 86.3 - 100 %, estos resultados son superiores a los obtenidos en esta investigación (10.4 - 56.2 % de inhibición). El azoxistrobin pertenece al grupo de las estrubirulinas que son fungicidas que actúan alterando la respiración, resistencia y acción tipo estrobirulina (ATAR): Inhibición a nivel mitocondrial bloqueando el paso de electrones en el Complejo III de la cadena respiratoria para la formación de ATP (FRAC, 2019).

En clorotalonil, Baggio *et al.*, (2023) reportan rangos de inhibición de 97.2 – 100 % para el control de *Neopestalotiopsis spp.*, resultados superiores a los reportados en esta investigación (6.9 – 51.6 %). El clorotalonil pertenece al grupo de los clorotalonilos que se encarga de inhibir la respiración de las células y las enzimas

que afectan al ciclo de Krebs se desactivan y no se produce ATP del hongo. Tienen acción protectora actuando de contacto y siendo de multi sitio (FRAC, 2019).

El oxiclóruo de cobre para inhibir el crecimiento micelial en *Pestalotiopsis sp.* mostro un resultado de 35.6 – 72.5 % en concentración de 50 hasta 500 ppm según (Adhikari *et al.*, 2023), en comparación del sulfato de cobre pentahidratado que se utilizó en este trabajo donde se obtuvo una inhibición de 88.7 % a las concentraciones máxima 1000 ppm. Y Baggio *et al.*, (2023) menciona que con el cobre obtuvieron un control de 9.6 – 100 % a la concentración de 100 - 1000 ppm. El cobre Pertenece al grupo químico inorgánico y actúa por contacto multi sitio (FRAC, 2019). Inhibiendo la germinación de esporas, intoxicación y bloqueo de procesos respiración, disminuye la biosíntesis de proteínas de los hongos (Alburqueque & Gusqui, 2018)

Baggio *et al.*, (2023) mencionan que en captan y thiram, obtuvieron resultados de inhibición de entre 86.7 – 100 %; mientras que en este trabajo se reportó una inhibición máxima de 57.6 y 44 %, destacando que en ambas evaluaciones la concentración máxima evaluada fue de 1000 ppm. El captan pertenece al grupo químico de las carboximidazidas que inhiben la respiración de los hongos al actuar sobre la succinato deshidrogenasa (SDHI) y el thiram pertenece al grupo de los ditiocarbamatos que actúan como fungicidas de contacto, alterando las funciones de la membrana celular de los hongos e inhibiendo su respiración (FRAC, 2019).

Baggio *et al.*, (2023) realizaron evaluaciones para *Neopestalotiopsis sp* y *N. rosae* con Propiconazol obteniendo resultados que oscilan entre 50.0 – 100 % mientras que en esta investigación se obtuvo una inhibición máxima de 72.1% en una concentración de 1000 ppm. Perteneciendo al grupo químico de los triazoles que actúan como inhibidores de la desmetilación (DMI) que se dirigen al esteroil desmetilasa una enzima reguladora importante en la vía biosintética del ergosterol, lo que lleva a la inhibición en la biosíntesis de este compuesto (Aguilera, 2023).

En caso del carbendazim, Adhikari *et al.*, (2023) mencionan una eficiencia del 85 % a las concentraciones desde 50 – 500 ppm para el control de *Pestalotiopsis sp.* mientras que en este trabajo se obtuvo una inhibición del 53.6 – 88.9 % siendo una

concentración menor. El carbendazim pertenece al grupo de los benzimidazoles e Inhibe el ensamble de la Beta-tubulina en la mitosis la formación del apresorio, el crecimiento y desarrollo del micelio de (Alburqueque & Gusqui, 2018). El metalaxil-m en esta investigación mostro una inhibición máxima de 54.4% a una concentración de 1000 ppm; mientras que Adhikari *et al.*, (2023), realizaron evaluaciones en *Pestalotiopsis* sp. obteniendo como resultados una inhibición de oscila entre 64.5 – 100 % en concentraciones de 50 – 500 ppm con una combinación de Metalaxil + mancozeb. Perteneciendo al grupo químico de las fenilaminas que su actividad antifúngica se basa en impedir la síntesis de ácidos nucleicos, que afectan la síntesis del ARN (FRAC,2019).

Tabla 6. Efecto inhibitorio de los fungicidas en *Neopestalotiopsis* sp.

Concentración	Inhibición del crecimiento \pm desviación estándar					
	F7	F8	F9	F10	F11	F12
1000	100.000 \pm 0.000a	88.758 \pm 0.827 ^a	57.614 \pm 3.688a	88.9680 \pm 4.265a	44.4755 \pm 2.590 ^a	72.133 \pm 10.380a
500	100.000 \pm 0.000a	72.556 \pm 1.7466b	55.661 \pm 8.988a	84.342 \pm 3.758ba	41.198 \pm 8.712 ^a	62.390 \pm 6.907a
250	100.000 \pm 0.000a	72.843 \pm 4.467b	32.281 \pm 6.630b	83.290 \pm 3.917ba	25.050 \pm 11.832b	38.992 \pm 13.640b
125	100.000 \pm 0.000a	40.059 \pm 1.702c	30.612 \pm 10.091b	82.791 \pm 4.160ba	24.756 \pm 7.889b	10.863 \pm 6.790c
62.5	60.343 \pm 7.9118b	34.488 \pm 4.011dc	27.165 \pm 7.743b	79.617 \pm 4.647bc	24.740 \pm 3.462b	5.830 \pm 3.280c
31.25	46.680 \pm 9.624c	22.183 \pm 9.587d	25.980 \pm 4.221b	79.470 \pm 3.560bc	22.566 \pm 4.815b	6.5737 \pm 2.480c
15.625	42.718 \pm 12.014dc	8.750 \pm 9.294e	23.840 \pm 3.309b	78.493 \pm 7.164bc	8.252 \pm 1.984c	6.922 \pm 2.894c
7.812	35.472 \pm 6.221dc	8.631 \pm 15.385e	23.628 \pm 3.645b	71.538 \pm 4.3169c	7.680 \pm 3.202c	3.080 \pm 1.7242c
3.906	34.087 \pm 10.761d	8.909 \pm 9.839e	25.008 \pm 2.423b	53.617 \pm 9.317d	5.4917 \pm 3.861c	3.661 \pm 1.828c
p-valor	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Las medias en la misma columna seguidas de la misma letra no presentan diferencia significativa (Tukey $\alpha=0.05$). F7: Ciprodinil + fludioxonil, F8: Sulfato de cobre pentahidratado, F9: Captan, F10: Carbendazim, F11: Thiram, F12: Propiconazol

La tabla 7 muestra las DE₅₀ obtenidas de las evaluaciones *in vitro* con los fungicidas, donde se puede observar que los ingredientes activos metalaxil-M, extracto de gobernadora, carbendazim, ciprodinil + fludioxonil y sulfato de cobre pentahidratado, en los cuales se obtuvo la menor DE₅₀; posteriormente los ingredientes activos azoxistrobin + difecoanazol, propiconazole y tebuconazol; siendo los ingredientes activos con la mayor DE₅₀ el azoxistrobin, clorotalonil, captan y thiram.

Tabla 7. Concentración letal media de los fungicidas evaluados en *Neopestalotiopsis* sp.

Trat.	DE ₅₀	Limites fiduciales		Ec. Predicción	R ²
		LFI-LFS			
F1	576.307 ppm	339.764-1229		y= -635.505+26.071x	0.5133
F2	118.426 ppm	83.282- 171.539		y= -866.370+25.042x	0.8154
F3	227.491 ppm	145.580- 407.980		y= -378.230+14.902x	0.4515
F4	3039 ppm	655.629-274953		y= -1461.241+45.930x	0.9045
F5	1448 ppm	826.153-3233		y= -243.455+20.864x	0.9093
F6	168.647 ppm	114.445-270.600		y= -540.852+18.295x	0.8517
F7	16.549 ppm	6.440-32.347		y= -299.610+7.578x	0.4803
F8	127.994 ppm	88.256-194.363		y= -145.646 +9.258x	0.749
F9	899.296 ppm	274.296-22309		y= -558.914+23.282x	0.8776
F10	0.40750 ppm	0.035-1.470		y= -1245.645+18.810x	0.3388
F11	1608 ppm	877.382-3916		y= -237.642+20.248x	0.7185
F12	437.113 ppm	236.780-1199		y= -46.809+11.487x	0.8832

F1: Tebuconazol, F2: Metalaxil-M, F3:Azoxistrobin+ Difecoanazol, F4: Azoxistrobin, F5: Clorotalonil, F6: Extracto de gobernadora, F7: Cyprodinil+fludioxonil, F8: Sulfato de cobre pentahidratado, F9: Captan, F10: Carbendazim, F11: Thiram, F12: Propiconazole.

La tabla 8 muestra una comparación de las DE₅₀ obtenidas en esta investigación y las reportadas en la literatura. Siendo la DE₅₀ de ciprodinil similar a las ya reportadas. Mientras que la DE₅₀ de azoxistrobin, tebuconazol, difeconazol, thiram, captan y clorotalonil obtenida en esta investigación superior a la reportada por Baggio *et al.*, (2023), Wen *et al.*, (2019) y Moyolema (2022).

Tabla 8. Comparación de la DE₅₀ determinadas para en *Neopestalotiopsis* sp. con las reportadas en la literatura.

i.a.	DE ₅₀ ¹	DE ₅₀ ²	Autor
Tebuconazol	576.307 ppm	0.331 µg/mL,	Wen <i>et al.</i> , (2019)
Metalaxil- M	118.426 ppm	NR	
Difeconazol	227.491 ppm	0.32 µg/mL, 0.39 µg/mL	Baggio <i>et al.</i> , (2023), Wen <i>et al.</i> , (2019)
Azoxistrobin	3039 ppm	100 µg/MI	Baggio <i>et al.</i> , (2023)
Clorotalonil	1448 ppm	8.13 µg/mL	Wen <i>et al.</i> , (2019)
Ex. gobernadora	168.647 ppm	NR	
Ciprodinil	16.549 ppm	18.7 µg/mL	Baggio <i>et al.</i> , (2023)
Sulfato de cobre pentahidratado	127.994 ppm	NR	
Captan	899.296 ppm	0.162 µg/mL	Moyolema (2022)
Carbendazim	0.40750 ppm	NR	
Thiram	1608 ppm	0.0173 µg/mL	Moyolema (2022)
Propiconazol	437.113 ppm	158 µg/MI	Baggio <i>et al.</i> , (2023)

¹ Dosis efectiva obtenida en esta investigación.

² Dosis efectiva publicadas por diversos autores. NR: no reportada

CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos, los ingredientes activos que mostraron mayor porcentaje de inhibición (74-100 % a una concentración de 1000 ppm) en las evaluaciones *in vitro* sobre *Neopestaotlopsis* sp. mediante el método de microplaca, fueron el Metalaxil-M, extracto de gobernadora, carbendazim, ciprodinil + Fludioxonil y sulfato de cobre pentahidratado, en los cuales se obtuvieron las menores DE_{50} 0.407 – 168 ppm.

BIBLIOGRAFIA

- Acosta, U. (2022). Caracterización de aislamientos de *Neopestalotiopsis* spp. y efecto de fungicidas en pre y post-infección en el cultivo de fresa. Obtenido de repositorio.chapingo:
<https://repositorio.chapingo.edu.mx/server/api/core/bitstreams/ef236028-2016-4924-a261-d0006c1a2754/content>
- Adhikari, K., & Khadka, A. y. (2023). Antagonismo *in vitro* de aislados de *Trichoderma* y eficacia de fungicidas químicos contra el crecimiento micelial de *Pestalotiopsis theae*. *Journal of the Institute of Agriculture and Animal Science*. doi:
<https://doi.org/10.3126/jjaas.v37i1.56968>
- Aguilera, A. (2023). Sensibilidad de aislados de *Neopestalotiopsis* spp. obtenidos de fresa a fungicidas de diferente modo de acción. Obtenido de <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/5fbff569-60c9-480d-a2e2-b8685f14582c>.
- Alburquerque, D. Y. (2018). Eficacia de fungicidas químicos para el control *in vitro* de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas. *SciELO Analytics*. doi:
<http://dx.doi.org/http://doi.org/10.22497/arnaldoa.252.25209>
- Baggio, J. S., Forcelini, B., Yi, W., Ruschel, R., & Mertely, J. y. (2021). Brote de mancha foliar y podredumbre del fruto en fresas de Florida causado por *Neopestalotiopsis* spp. *apsnet*. doi:
<https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1290-RE>
- Baggio, J., Rebello, C., Morais, M., Marin, M., Gama, A., Forcelini, B., & Mertely, J. Y. (2022). Efficacy of Single- and Multi-Site Fungicides Against *Neopestalotiopsis* spp. of Strawberry. *apsenet*. doi:
<https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1929-RE>
- Baggio, J., Rebollo, C., Morais, M., Marin, M., Gama, A., Forcelini, B., & Mertely J Y Perz, N. (2023). Efficacy of Single- and Multi-site Fungicides Against *Neopestalotiopsis* spp. os Strawberry. *Plant Disease*. doi:
<http://doi.org/10.1034/PDIS-08-22-1923-RE>
- Benavides, A. C., & Moran, J. Y. (2022). *cenida.una.edu.ni*. Obtenido de PRODUCCIÓN ORGÁNICA DE FRESA (*Fragaria* spp.), LAS SABANAS, MADRIZ, NICARAGUA:
<https://cenida.una.edu.ni/documentos/NF62B456.pdf>
- CESAVEM . (julio de 2022). *cesavem.mx*. Obtenido de MEDIDAS DE MANEJO CONTRA *Neopestalotiopsis rosae*.:
<https://cesavem.mx/images/Berries/Manejo%20de%20Neopestalotiopsis.pdf>

- CESAVEM. (Agosto de 2022). *cesavem.mx*. Obtenido de Pudrición de la raíz y corona en fresa: <https://cesavem.mx/images/Berries/Neopestalotiopsis%20rosae.pdf>
- Chamorro, A., & Agudo y De los Santos, B. (2016). Primer informe de podredumbre de raíz y corona causada por *Pestalotiopsis clavispora* (*Neopestalotiopsis clavispora*) en fresa en España. *apsnet*. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-11-15-1308-PDN>
- Darapanit, A., Boonyuen, N., Leesutthiphonchai, W., & Nuankaew, S. &. (19 de Noviembre de 2021). Identification, pathogenicity and effects of plant extracts on *Neopestalotiopsis* and *Pseudopestalotiopsis* causing fruit diseases. *Scientific Reports*. Obtenido de <https://www.nature.com/articles/s41598-021-02113-5>
- EPPO. (2021). Obtenido de <https://gd.eppo.int/taxon/NPESRS>
- FRAC . (2024). Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). Obtenido de Fungicide Resistance Management: <https://www.frac.info/fungicide-resistance-management/background>
- FRAC Argentina. (2019). *FRAC-ARGENTINA.ORG*. Obtenido de MODOS DE ACCION: <https://frac-argentina.org/modos-de-accion/#:~:text=El%20modo%20de%20acci%C3%B3n%20se,manera%20espec%C3%ADfica%20con%20el%20hongo.>
- Garcia, M. (Junio de 2024). patogenicidad de neopestalotiopsis rosae en fresa cultivada en villa guerrero, estado de. Obtenido de <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/141037/Tesis%20Ma.%20Lourdes%20Garc%c3%ada%20Fuentes19062024.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Gilardi, g., Bergeretti, f., & Gullino, M. y. (13 de Septiembre de 2019). First Report of *Neopestalotiopsis clavispora* Causing Root and Crown Rot on Strawberry in Italy. *apsnet*. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-03-19-0673-PDN>
- González, A. (2023). *cesavemich*. Obtenido de Sintomas-Fusarium-y-Neopestalotiopsis-en-Frutillas: <https://cesavemich.org.mx/wp-content/uploads/2023/02/Sintomas-Fusarium-y-Neopestalotiopsis-en-Frutillas.pdf>
- Ibañez, J., Lattar, T., & Obregón, V. (2023). *Neopestalotiopsis clavispora*: patógeno asociado al cultivo de frutilla. *Asociación Argentina de Fitopatología*. Obtenido de <https://aafitopatologos.com.ar/wp/wp->

content/uploads/2023/04/Bolet%C3%ADn-N%C2%B013-Neopestalotiopsis-frutilla-AAF-2023.pdf

- INIFAP. (2013). Requerimientos agroecológicos de cultivos. *researchgate.net*.
Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/343047223_REQUERIMIENTOS_AGROECOLOGICOS_DE_CULTIVOS_2da_Edicion
- Kirschbaum, D. (2022). Cultivo de la fresa. *INTA*. Obtenido de https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/12068/INTA_CRTucuman-Santiago_EEAFamaila_Kirschbaum_DS_Fresa_Caracteristicas_botanicas_variedades
- Kirschbaum, D. (Octubre de 2023). *www.researchgate.net*. Obtenido de Control biológico de *Neopestalotiopsis clavispora*, agente causal de la podredumbre de raíces y corona de la frutilla. (Biological control of *Neopestalotiopsis clavispora*, causal agent of strawberry root and crown rot): <https://www.researchgate.net/publication/375028020>
- Larson, K. y. (2000). Soil fumigation and runner plant production: Asynthesis of four years of strawberry nursery field trials. *Horticultural*. doi:<https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.4.642>
- Maharachchikumbura, N., H. D., Groenewald, Z., & Xu, J. &. (2014). *Pestalotiopsis* revisited. *Studies in Mycology*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.005>
- Maharachchikumbura, S., & Dong Guo, L. Y. (2012). A multi-locus backbone tree for *Pestalotiopsis*, with a polyphasic characterization of 14 new species. *Fungal Diversity*. doi:<https://doi.org/10.1007/s13225-012-0198-1>
- MAPA. (2021). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Obtenido de [mapa.gob.es: https://www.mapa.gob.es/fr/ministerio/servicios/informacion/Fresa_tcm36-102645.pdf](https://www.mapa.gob.es/fr/ministerio/servicios/informacion/Fresa_tcm36-102645.pdf)
- Moreles, L. (2019). Primer reporte de mancha foliar y antracnosis causada por *Pestalotiopsis* sp. en fresa en Puebla, México. *apsnet*. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-05-19-1010-PDN>
- Moyolema, I. (2022). *dspace.esPOCH.edu.ec*. Obtenido de “Sensibilidad in vitro de *neopestalotiopsis* spp. agente causal de la pudrición de la corona de frutilla

afungicidas de diferentes modos de acción”:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17415/1/13T01008.pdf>

Obregon, V., Meneguzzi, N., Ibañez, J., & Lattar, K. Y. (23 de Julio de 2018). First Report of *Neopestalotiopsis clavispora* Causing Root and Crown Rot on Strawberry Plants in Argentina. *apsnet*. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0330-PDN>

Pérez, L., Pérez, L., Guzmán, R., & Sanzón y Belmonte, J. (2019). *In vitro* sensitivity of phytopathological fungi causing diseases in strawberry agents to biological control and fungicides, in the state of Guanajuato, Mexico. *SciELO Analytics*.

Ramirez, L. C. (2021). Analisis de los indicadores de competitividad de las exportaciones de fresa mexicana. *revista mexicana de ciencias agricolas*. Recuperado el 21 de Noviembre de 2024, de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342020000400815#B11

Rebollar, A., Silva, H., Fuentes, D., Acosta, U., & Martínez, M. y. (9 de Junio de 2020). Una enfermedad fúngica emergente de la fresa asociada con la pudrición de la raíz, la pudrición de la corona y la mancha foliar causada por *Neopestalotiopsis rosae* en México. *apsnet*. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2493-SC>

Rodriguez, M. (Marzo de 2023). <https://rinacional.tecnm.mx>. Obtenido de <https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/5758/1/Tesis%20Final%20HazelGomezVergara.pdf>

Ruiz, J., Medina, G., Gonzalez, J., Flores, H., Ramirez, G., & Ortiz, C. (2013). SAGARPA . Obtenido de file:///C:/Users/alezv/Downloads/REQUERIMIENTOS_AGROECOLOGICOS_DE_CULTIVO.pdf

SENASICA. (2022). cesavem.mx. Obtenido de <https://cesavem.mx/images/Berries/Neopestalotiopsis%20rosae.pdf>

Shi, J., Zhang, X., Ye, L., Zhang, Z., Zhigang, R., Chunshengxue, & Yue, M. y. (2022). Primer informe sobre *Neopestalotiopsis clavispora*, causante de la plaga del cáliz y del receptáculo en la fresa en China. *apsnet*. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-07-21-1376-PDN>

SIAP . (02 de Agosto de 2024). *Gobierno de Mexico* . Obtenido de <https://www.gob.mx/siap/es/articulos/panorama-agroalimentario-2018-2024-la-herramienta-basica-de-consulta-estadistica-del-sector-agropecuario-y-pesquero?idiom=es>

- SIAP. (24 de Febrero de 2020). *Gobierno de Mexico*. Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura/morelos/articulos/busca-la-iniciativa-privada-invertir-en-el-cultivo-de-fresa-en-el-estado?idiom=es#:~:text=En%20el%20a%C3%B1o%202012%20se,menor%20rentabilidad%20para%20los%20productores>
- SIAP. (2024). SERVICIO DE INFORMACIÓN AGROALIMENTARIA Y PESQUERA. Obtenido de Panorama Agroalimentario 2024: https://drive.google.com/file/d/1NXcDhaB63Z94wjRUVF6f_FK0Urv6cgvJ/view
- Sønsteby, A., Opstad, U., & Myrheim, a. O. (2009). Interaction of short day and timing of nitrogen fertilization on growth and flowering of ‘Korona’ strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.). *Scientia Horticulture* .
- Tamba, J. (2015). *dspace.ueb.edu.ec*. Obtenido de “Identificación de las principales plagas que afectan al cultivo de fresa (*fragaria vesca*) en tres zonas agroecológicas del cantón quito, provincia de pichincha.”: <https://dspace.ueb.edu.ec/server/api/core/bitstreams/7034f519-8145-45f1-bb42-bcb06ac22cab/content>
- USDA. (28 de Septiembre de 2024). <https://npgsweb.ars-grin.gov/>. Obtenido de United States Department of Agriculture: <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomygenus?id=4744>
- Valencia, M. (15 de Marzo de 2024). www.hydroenv.com.mx. Obtenido de https://www.hydroenv.com.mx/catalogo/index.php?main_page=page&id=507
- Vishwas, G., Ekabote, S., & Onkarappa, S. y. (2023). In vitro evaluation of chemicals against *pestalotiopsis* sp. *connectjournals*. doi:<https://connectjournals.com/03896.2023.23.391>
- Wu, Q., Ni, M., Dou, Tang, J., Ren, J., & Yu y Chen, J. (2018). Co-culture of *Bacillus amyloliquefaciens* ACCC11060 and *Trichoderma asperellum* GDFS1009 enhanced pathogen-inhibition and amino acid yield. *Microbial Cell Factories*. Obtenido de <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-018-1004-x>
- Zhang, S. (Marzo de 2024). Efecto de control biológico de *Bacillus cereus* sobre la enfermedad de la mancha foliar de la fresa causada por *Neopestalotiopsis clavispora*. *Ciencia Horticulturae*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.112841>

