



Artículo Científico

Control *in vitro* de *Neopestalotiopsis* sp. aislada de fresa empleando *Trichoderma* y fungicidas comerciales

Gabriela Olivares-Rodríguez¹, Juan Gabriel Angeles-Núñez², Francisco Mondragón-Rojas¹, Patricia Rivas-Valencia³, José Luis Zárate-Castrejón⁴, Luis Antonio Mariscal-Amaro², Luis Febronio Díaz-Espino², Talina Olivia Martínez-Martínez^{2*}, ¹Universidad Politécnica de Guanajuato. Ingeniería Agroindustrial. Avenida Universidad Sur # 1001, Comunidad Juan Alonso. C.P. 38496. Cortázar, Guanajuato. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Bajío. Carretera San Miguel de Allende-Celaya, km. 6.5. C.P. 38110. Celaya, Guanajuato. ³INIFAP, Campo Experimental Valle de México. Carretera Los Reyes-Textcoco, km 13.5, C.P. 56120. Coatlinchan, Textcoco, México. ⁴Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Prolongación Río Lerma s/n, Col. Suiza. C.P. 38060. Celaya, Guanajuato.

*Autor de

Correspondencia:

Talina Olivia Martínez

Martínez

martinez.talina@inifap.gob.mx

Sección:

Número Especial

Recibido:

10 Julio, 2024

Aceptado:

23 Diciembre, 2024

Publicado:

31 Diciembre, 2024

Cita:

Olivares-Rodríguez G,

Angeles-Núñez JG,

Mondragón-Rojas F, Rivas-

Valencia P, et al., 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.](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2024-28)

MEX.FIT.2024-28

RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. El hongo *Neopestalotiopsis* sp. es un patógeno emergente que puede ocasionar pérdidas superiores al 70 % en el cultivo de fresa. Debido a esta situación, se busca implementar métodos de control de bajo impacto ecológico. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto inhibitorio de cepas de *Trichoderma* sp. y de fungicidas empleados en el Bajío de Guanajuato, México, sobre el crecimiento de *Neopestalotiopsis* sp.

Materiales y Métodos. El patógeno se aisló de plantas de fresa sintomáticas. Se realizó la caracterización morfológica y de patogenicidad del aislado. Las cepas de *Trichoderma* se obtuvieron de la colección biológica del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Campo Experimental Bajío (CEBAJ) y se confrontaron en cultivos duales con el patógeno, se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) a las 120 h. Además, se evaluó el efecto de cinco fungicidas comerciales, que se agregaron al medio de crecimiento, sobre el diámetro de crecimiento del hongo.

Resultados. Se obtuvo PICR en un intervalo de 63 al 70 %. El mecanismo de parasitismo de *Trichoderma* fue por enrollamiento, adhesión y lisis a las hifas del patógeno. La cepa T1 fue la que presentó mayor potencial para el control del patógeno, seguido de T5 y T7. Tres fungicidas comerciales, Tebuconazol (100 mL 100 L⁻¹), Extracto de Canela y Neem (500 mL 100 L⁻¹), y el Ácido Peracético (25 mL 100 L⁻¹) inhibieron completamente el crecimiento del hongo.

Conclusión. Estos resultados contribuyen al conocimiento sobre el control de *Neopestalotiopsis* sp. con la aplicación de *Trichoderma* y los productos autorizados en México.

Palabras Clave: Inhibición de crecimiento fúngico, microorganismos benéficos, patógenos de fresa, Extracto de Canela-Neem, Ácido Peracético



INTRODUCCIÓN

El cultivo de fresa (*Fragaria x ananasa*) tiene gran importancia económica para México y actualmente ocupa el tercer lugar como proveedor de fresa en el mundo, con un valor de la producción mayor de 15,400 millones de pesos (SIAP, 2024). No obstante, existen patógenos que pueden disminuir la producción y ocasionar pérdidas económicas como la enfermedad de la secadera ocasionada por especies del género *Neopestalotiopsis*, una de ellas de reciente introducción y que puede ocasionar mermas superiores al 70 % de la producción. La sintomatología incluye pudrición de raíz, corona y manchas foliares (Rebollar-Alviter *et al.*, 2020), y en los frutos se presentan lesiones de aproximadamente 2-4 mm que se extienden hasta causar pudrición y momificación (Goldenhar y Pate, 2021). Debido a la escasa información del patógeno, se han estudiado estrategias de control en campo como prácticas culturales, control químico y biológico (Rebollar-Alviter *et al.*, 2020). Se ha indicado que para el control de este patógeno se pueden emplear agentes antagonistas de los géneros *Trichoderma*, *Bacillus* y *Pseudomonas* (Zhang *et al.*, 2024; Amrutha y Vijayaraghavan, 2018). En particular el efecto antagonista de *Trichoderma* se debe a la acción de enzimas, que pueden degradar la pared celular, quitina, proteínas y lípidos (Pandey *et al.* 2022). Además, produce metabolitos secundarios como policétidos, péptidos no ribosomales, terpenoides, pironas, antibiótico entre otros, los cuales funcionan como inhibidores del crecimiento; además, puede actuar como micoparásito, competir por espacio o por nutrientes (Mukherjee *et al.*, 2012). En el caso del control con agroquímicos, aunque existen productos autorizados para emplearse en fresa (COFEPRIS, 2024), ya sea como molécula sintética o extractos vegetales, no es precisa la información para el control de *Neopestalotiopsis*. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto inhibitorio de cepas de *Trichoderma* sp. sobre el crecimiento de este *Neopestalotiopsis* sp. aislada de fresa, y el control con fungicidas comerciales que se emplean en algunas localidades del Bajío de Guanajuato. La información que se generó muestra la importancia del uso de *Trichoderma* y fungicidas comerciales efectivos para reducir el crecimiento de este patógeno en la producción de fresa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las cepas de *Trichoderma* sp. fueron proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología Agrícola del Área de Transformación del Campo Experimental Bajío (CEBAJ) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias y previamente aisladas de diferentes sustratos y lugares de México (Cuadro 1). La reactivación se realizó en Papa Dextrosa Agar (PDA) a 26±2 °C.

Cuadro 1. Datos de identificación, sustrato de aislamiento y procedencia de cepas de *Trichoderma* sp. empleadas en el control biológico de *Neopestalotiopsis* sp.

Nombre de la cepa	Sustrato	Lugar de procedencia
8L9	Lixiviado	Talea de Castro, Oaxaca, México
1752	Suelo agrícola	Santiago Coltzingo, Puebla, México
1S1	Composta	Palma Sola, Veracruz
THP	Suelo agrícola	San José de Pantoja, Valle de Santiago, Guanajuato, México
675, T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7	Suelo agrícola, cultivo de plátano	Piedra Parada, Veracruz

Aislamiento de *Neopestalotiopsis* sp. en fresa y caracterización morfológica

En julio de 2022 se aisló *Neopestalotiopsis* sp. de plantas sintomáticas de fresa var. San Andrés del invernadero de hortalizas del CEBAJ. Se colectaron hojas, frutos y tallos que se depositaron en bolsas de plástico para su traslado al laboratorio. Se cortaron trozos de tejido de aproximadamente 1 cm² y se desinfectaron con NaClO 5 % durante 60 segundos. Se lavaron tres veces con agua estéril, el material vegetal se dejó secar sobre una toalla de papel estéril. Posteriormente se sembró en cajas Petri desechables que contenían PDA y amoxicilina (30 mg 1000 µL⁻¹), se incubaron a 26±2 °C. Una vez que el patógeno esporuló, se tomó un acérvulo con una aguja de disección y se suspendió en 1000 µL de agua estéril, a continuación, la solución se homogenizó en vórtex y se tomaron 100 µL para sembrar por extensión en placa. La incubación se realizó a 26±2 °C por 24 h. Pasado este tiempo y bajo el microscopio estereoscópico se tomaron conidios germinados y se llevaron a medio PDA para la obtención de colonias monospóricas, las que se incubaron a 26±2 °C. La caracterización morfológica de *Neopestalotiopsis* sp. se realizó basándose en la descripción a nivel género con las características descritas por Maharachchikumbura *et al.* (2012) y Maharachchikumbura *et al.* (2014).

Pruebas de patogenicidad

Para comprobar la patogenicidad del aislado, se sembró el hongo y se dejó crecer por cinco días. Con ayuda de un sacabocado se tomaron cinco discos de 5 mm de medio invadido y se colocaron en la corona de la fresa. Este procedimiento se realizó en 15 macetas con plantas sanas de fresa var. San Andrés. Adicionalmente, se colocaron dos discos en hojas y tallos para corroborar la patogenicidad del hongo. Las plantas se regaron cada 48 h y se cubrieron con una bolsa de polietileno para alcanzar una humedad relativa > 90 %. Se observó la sintomatología que se presentó después de la inoculación (di).

Actividad antagonista de *Trichoderma* sobre *Neopestalotiopsis* sp.

Para determinar la actividad antagonista se empleó la metodología de cultivo dual descrita por Correa *et al.* (2007), que indica colocar un disco del patógeno y otro del hongo antagonista en lados opuestos, a 1 cm del borde de la caja Petri (90 x 15 mm). La prueba se realizó con ocho repeticiones en medio PDA libre de antibiótico. Se emplearon discos de 5 mm de diámetro de cultivo con micelio del patógeno y de las cepas de *Trichoderma* sp. previamente crecidos en PDA por cinco días, al patógeno se le dio ventaja de crecimiento de tres días. La incubación se realizó a 26±2 °C. Cada ocho horas se midió el crecimiento radial del patógeno hasta llegar a las 120 h. El porcentaje de

inhibición del crecimiento radial (PICR) se obtuvo a partir del crecimiento de cada patógeno en el cultivo dual, junto con sus respectivos testigos, empleando la fórmula utilizada por Suárez *et al.* (2008):

$$PICR = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

Donde PICR=porcentaje de inhibición de crecimiento radial; R1=crecimiento radial (mm) del patógeno sin *Trichoderma*, R2=crecimiento radial (mm) del patógeno con *Trichoderma*.

Adicionalmente, se evaluó la capacidad antagónica de los aislados seleccionados según la escala de Bell *et al.* (1982), donde Clase 1: el agente antagónico coloniza completamente al fitopatógeno y cubre totalmente la superficie del medio; Clase 2: el agente antagónico coloniza las dos terceras partes de medio de cultivo, limitando el crecimiento del fitopatógeno; Clase 3: el agente antagónico y el patógeno colonizan cada uno la mitad de la superficie, el crecimiento es similar, Clase 4: el fitopatógeno coloniza las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo y limita el crecimiento del agente antagónico, y Clase 5: el fitopatógeno coloniza completamente el medio del cultivo y crece sobre el agente antagónico. Se analizó el PICR mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un diseño completamente al azar. La comparación múltiple de medias se realizó con el método de Tukey ($p \leq 0.05$). Los datos se analizaron con el Programa R versión 4.4.0.

Micoparasitismo

Para observar la presencia de parasitismo de las cepas de *Trichoderma* hacia *Neopestalotiopsis* se usó la técnica de microcultivos duales. En los ensayos se evaluaron 15 cepas de *Trichoderma* contrapuestas con el patógeno *Neopestalotiopsis*, se realizaron tres repeticiones. Los microcultivos se prepararon con un portaobjetos a los que se les aplicó una capa de medio (16 g agar bacteriológico + 10 g PDA para 1 L), libre de antibiótico, para las confrontaciones se emplearon discos de 5 mm de diámetro del micelio del patógeno y de *Trichoderma* previamente crecidos en PDA por cinco días. En un extremo del portaobjetos se colocó un disco del patógeno, con una diferencia de 24 h, esto debido a que el crecimiento del patógeno presentó un crecimiento más lento en comparación con *Trichoderma*. En el extremo equidistante se colocó un disco de *Trichoderma*. Las preparaciones se incubaron a 26 ± 2 °C. Cuando ambos hongos entraron en contacto (aproximadamente 24 h), se retiró el portaobjetos de la caja Petri y con ayuda de una tira de cinta adhesiva transparente se tomó una muestra de micelio, se agregó una gota de azul de algodón para poder observar bajo el microscopio y determinar el tipo de parasitismo de las cepas de *Trichoderma*.

Pruebas de inhibición de crecimiento de *Neopestalotiopsis* con fungicidas comerciales

Se determinó el efecto de inhibición sobre crecimiento del patógeno de cinco productos comerciales: el fungicida de contacto Captan (Captan 50®), el fungicida sistémico Tebuconazol (Folicur®), el fungicida sistémico Carbendazim (Agrosys®), Extracto de Canela y Neem (Nymeria®), Ácido Peracético (Microclean®) y un fungicida orgánico a base de cítricos de venta local. Cada fungicida se evaluó en tres concentraciones (Cuadro 2), que se eligieron considerando las recomendaciones de

fabricante en la ficha técnica, se utilizó en una concentración mínima, una intermedia y la máxima recomendada. Se realizaron cinco repeticiones por cada concentración más un control. Las pruebas se realizaron en cajas Petri con PDA libre de antibióticos. Los fungicidas se incorporaron al medio cuando presentó una temperatura de 45-50 °C. Al centro de cada caja se colocó un disco de 5 mm del medio de crecimiento de *Neopestalotiopsis*, crecido previamente por cinco días en PDA. Cada 8 h se determinó el diámetro de crecimiento hasta llegar a las 120 h. El control se estableció en PDA sin fungicida. Las pruebas se realizaron con cinco repeticiones. Para el análisis estadístico los datos se acomodaron en un diseño completamente al azar. Estos datos se analizaron en un ANOVA utilizando el Programa de R versión 4.4.0. Se realizó la comparación múltiple de medias con el método de Tukey ($p \leq 0.05$).

Cuadro 2. Fungicidas evaluados en la inhibición del crecimiento de *Neopestalotiopsis* sp.

Fungicida	Dosis (L ⁻¹)		
Captan	2 g (A)	3 g (B)	4 g (C)
Tebuconazol	1 mL (D)	2.5 mL (E)	3.75 mL (F)
Carbendazim	4 mL (G)	5 mL (H)	6 mL (I)
Extracto de Canela y Neem	5 mL (J)	10 mL (K)	15 mL (L)
Ácido Peracético	0.25 mL (M)	0.50 mL (N)	0.75 mL (O)
Fungicida orgánico a base de cítricos	5 mL (P)	7.5 mL (Q)	10 mL (R)

Nota: Las letras en el paréntesis se usarán para referir el tratamiento aplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de síntomas en plantas de fresa

Se observaron síntomas en plantas según lo documentado por Rebollar-Alviter *et al.* (2020): tizón en hojas, muerte regresiva de los brotes, pudrición y deformación de frutos, achaparramiento de plantas, así como pudrición de la raíz y la corona (Figura 1). Estos síntomas son similares entre especies de *Neopestalotiopsis*. Al respecto, Baggio *et al.* (2021) menciona que los tejidos más afectados por *N. rosae* son la raíz y cuello de la raíz, aunque tienen una baja incidencia en frutos y hojas. De la misma forma, autores como Obregón *et al.* (2018) indicaron que *N. clavispota* muestra síntomas en hojas en las que manifiestan zonas intervenales necróticas de color rojizo que comienzan en los márgenes y van avanzando conforme se hace senescente el tejido. Según los autores, la raíz y el cuello de esta también se ve afectado lo que finalmente provoca la muerte de la planta. La especie *N. clavispota* causa tizón en el cáliz y en el receptáculo de fresa (Shi *et al.*, 2022).



Figura 1. Síntomas en plantas de fresa infectadas por *Neopestaloptiosis* sp. A) Achaparramiento de plantas, B) Tizón en hojas, C y D) Deformación en frutos maduros e inmaduros.

Identificación del agente causal

Después de ocho días de crecimiento, las colonias en medio PDA presentaron textura algodonosa, micelio color blanco que fue tornándose a salmón y márgenes concéntricos. Cuando el cultivo tuvo seis días se formaron masas negras de esporas (Figura 2). A los 12 días se produjeron acérvulos globosos de color negro en el medio de crecimiento y sobre el tejido los estromas presentaron forma irregular (Figura 2). Los conidios presentaron tres células centrales de color oscuro y dos basales hialinas, con tres apéndices apicales (Figura 2). La morfología del patógeno coincidió con las características de género descritas por Maharachchikumbura *et al.* (2014); sin embargo, de acuerdo con algunas características señaladas por Maharachchikumbura *et al.* (2012), el aislado de *Neopestaloptiosis* de este estudio podría tratarse de *N. rosae*, especie que fue confirmada presente en cultivo de fresa en México (Rebollar-Alviter *et al.*, 2020).

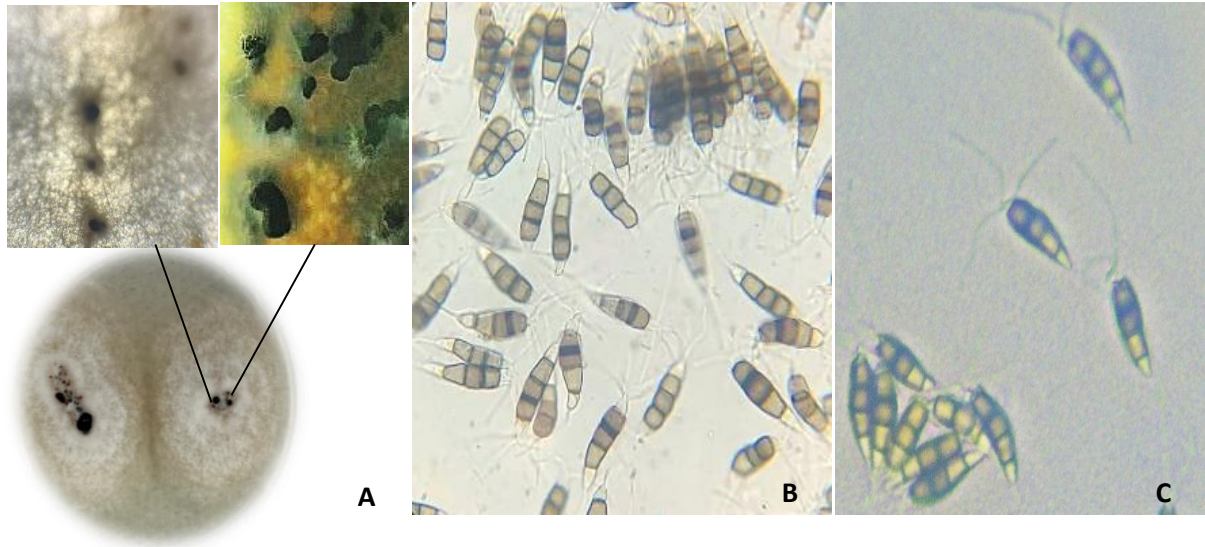


Figura 2. Crecimiento de *Neopestalotiopsis* sp. en medio PDA después de dos semanas de la inoculación. A) Desarrollo de colonias en medio de cultivo con acérvulos negros, B y C) Conidios del hongo.

Patogenicidad de *Neopestalotiopsis* sp.

Las plantas inoculadas con el aislado presentaron síntomas 24 h di (Figura 3), donde inicialmente se observaron pequeñas manchas marrones de 2 mm en hojas, después de 56 h di se observó tizón de hojas, necrosis en tallo y debilitamiento de la planta (Figura 3). Después de 168 h di los daños se encontraron muy avanzados, el tallo presentó necrosis en aproximadamente 70 % del tallo y ablandamiento total. Las manchas presentes en las hojas abarcaron más del 80 % de la superficie foliar (Figura 3). La sintomatología coincidió con la documentada por Rebollar Alviter *et al.* (2020) y Gilardi *et al.* (2019) en cultivo de fresa, tanto en hojas como en fruto.

Actividad antagónica de *Trichoderma* sobre *Neopestalotiopsis*

El análisis estadístico indicó que existieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la inhibición del crecimiento entre las cepas evaluadas. De acuerdo con la comparación de medias se encontraron tres grupos de inhibición, la cepa T1 fue la que presentó el mayor PICR (70 %), mientras que las cepas T675, T2 y T10 fueron las que exhibieron menor inhibición (Figura 4). En general el PICR se mantuvo entre el 60 al 70 %, por lo que las cepas pueden considerarse con potencial para el control del patógeno. Al respecto Yao *et al.* (2023) tras un análisis de diferentes estudios indica que una cepa de *Trichoderma* puede considerarse con potencial en el control efectivo de la enfermedad cuando la inhibición de crecimiento supera el 50 %.



Figura 3. Síntomas en plantas de fresa causadas por *Neopestalotiopsis* sp. A) Tizón en hojas, B) Necrosis en tallo y C) Necrosis en cuello y raíz.

Algunos autores han evaluado el efecto de *Trichoderma* para el control de *Neopestalotiopsis*. Uno de los primeros trabajos fue el de Mora-Morales *et al.* (2020) quienes evaluaron *in vitro* el efecto antagónico de *T. harzianum* sobre *Pestalotiopsis* (*Neopestalotiopsis* sp.), sus resultados mostraron una PICR del 71.11 %. Otros autores como Amrutha y Vijayaraghavan (2018) evaluaron el efecto antagónico de *T. asperellum* contra *Neopestalotiopsis clavispora* aislada de fresa, determinaron en promedio 66 % de inhibición en el crecimiento del patógeno en pruebas *in vitro*; y una reducción de la enfermedad del 74 %. Los autores indicaron que para el manejo de la enfermedad con productos biológicos y químicos es necesario considerar las condiciones agroclimáticas para tener una mayor eficiencia en el control. En otro estudio realizado por Liu *et al.* (2024) en el que evaluaron el efecto antagónico de metabolitos volátiles y metabolitos de fermentación producidos por *T. asperellum* sobre el crecimiento de *N. clavispora*, determinaron inhibición de 79.67 y 69.84 %, respectivamente. También identificaron que, el efecto antagónico se debió a la competencia por el sustrato, producción de antimicrobicos y parasitismo. Adicionalmente, indicaron que la aplicación de *T. asperellum* promovió el crecimiento de la fresa, la altura de la planta, la longitud de la raíz, el peso fresco total, el peso de la raíz, el peso fresco del tallo y el peso seco de la raíz. Por otra parte, Pandey *et al.* (2022) determinaron que *T. reesei* incidió en el crecimiento *in vitro* de *Pseudopestalotiopsis theae*, sus resultados mostraron una inhibición del 81.2 %. Cuando llevaron el experimento a plantas en condiciones de vivero la severidad de la enfermedad fue de entre 67.5 y 75 %. En este sentido los autores indicaron que *T. reesei* fue capaz de producir metabolitos volátiles y no volátiles con efecto inhibitorio, además en las plantas inoculadas con el antagonista encontraron acumulación de enzimas de defensa como polifenol oxidasa, peroxidasa, fenilalanina amonio liasa, β -1, 3-glucanasa, y quitinasa. De la misma forma, a los 45 di estas plantas mostraron aumento en la altura, diámetro del tallo, peso brotes y raíces.

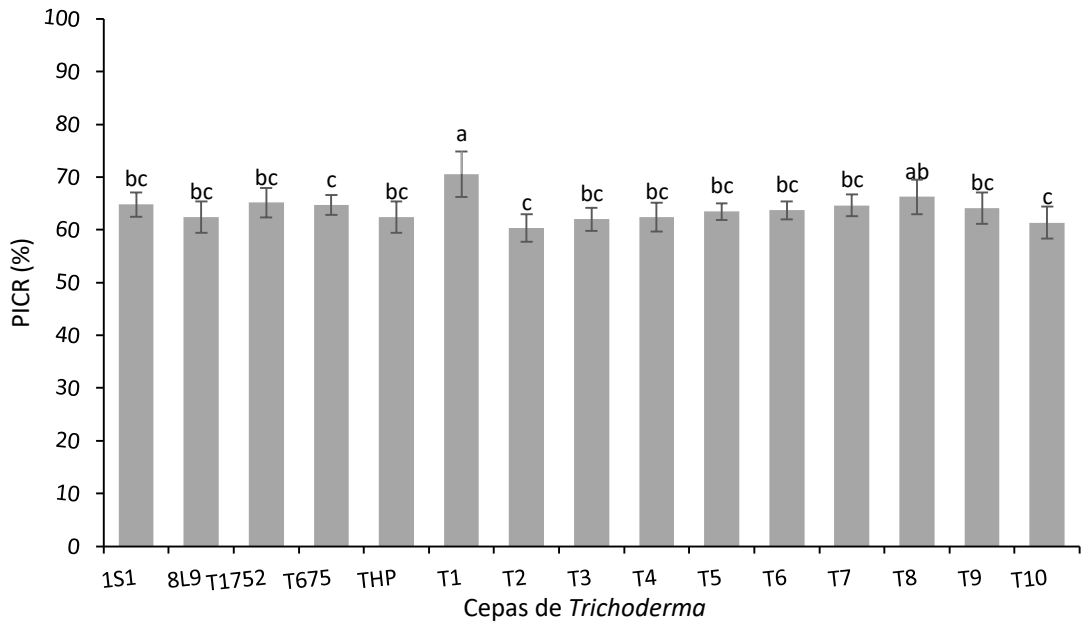


Figura 4. Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial de *Neopestalotiopsis* sp. obtenidos por confrontación con cepas de *Trichoderma* ($p \leq 0.05$).

Antagonismo de las cepas de *Trichoderma*

Según la escala de Bell *et al.* (1982), se encontraron niveles de antagonismos II y III (Cuadro 3, Figura 5), es decir en el tipo II las cepas de *Trichoderma* colonizaron las dos terceras partes de medio de cultivo, limitando el crecimiento del fitopatógeno; en el III, *Trichoderma* y el patógeno colonizaron cada uno la mitad de la superficie, el crecimiento fue similar entre las cepas (Cuadro 3). Diversos autores han indicado que *Trichoderma* posee diferentes mecanismos de antagonismo, destacando el micoparasitismo, competencia por espacio y alimento y la antibiosis (Álvarez *et al.*, 2022). Uno de los principales es el micoparasitismo, pueden presentar estructuras en forma de ganchos, enrollamientos o apresorios alrededor del hospedante que le permiten penetrar al interior del patógeno y degradarlo (Mukherjee *et al.*, 2022; Álvarez *et al.*, 2022). Este mecanismo está acompañado por la secreción de enzimas como la quitina para degradar la pared celular del patógeno (Yao *et al.*, 2023; Companioni-González *et al.*, 2019).

En este estudio se encontraron los mecanismos de micoparasitismo: adhesión y enrollamiento de las cepas de *Trichoderma* a la hifa del patógeno, además de lisis de hifa, formación de ganchos y penetración del antagonista al patógeno (Figura 6).

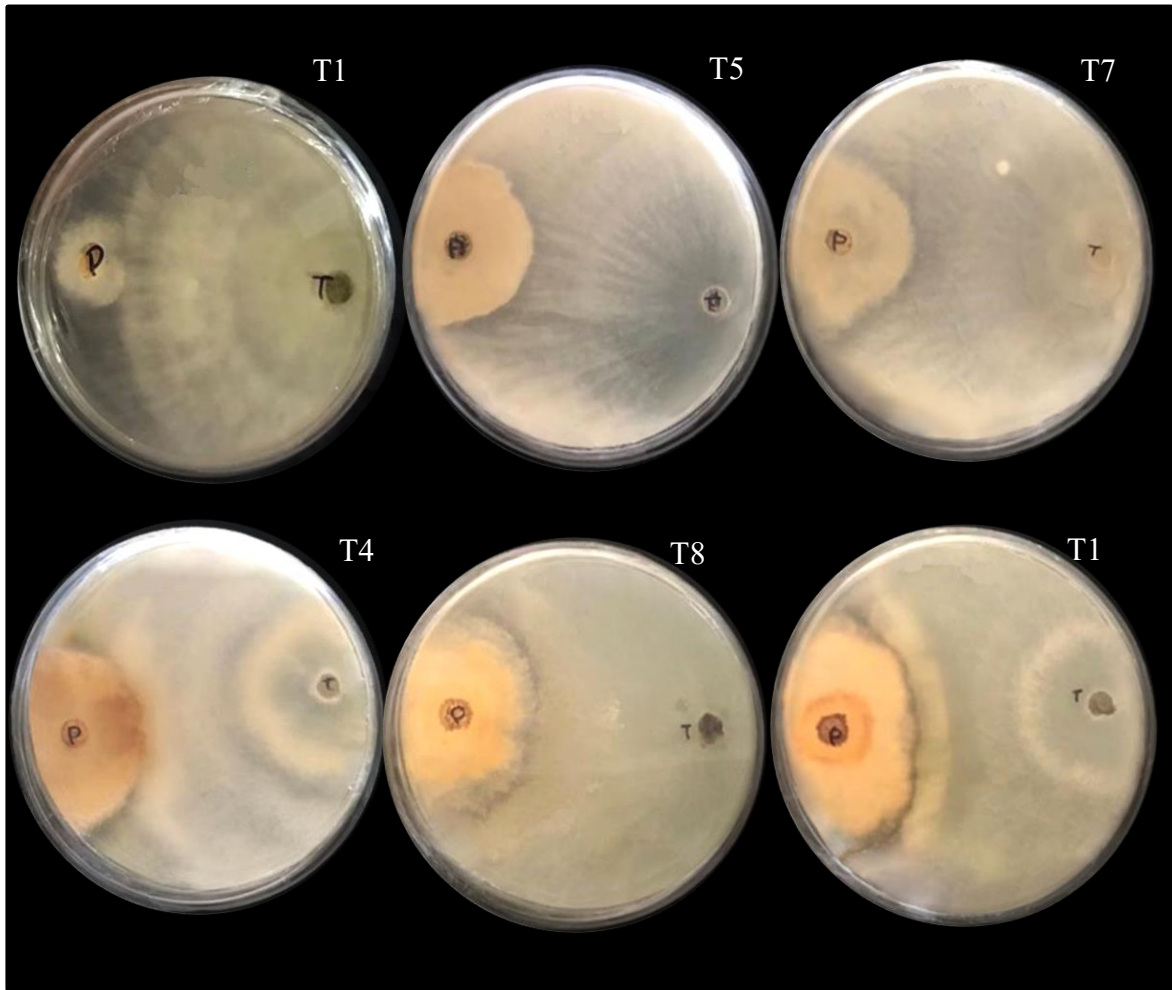


Figura 5. Confrontaciones de cepas de *Trichoderma* contra *Neopestalotiopsis* sp. Donde T = *Trichoderma* y P = patógeno. El número que se encuentra en la parte superior derecha corresponde a la identificación de la cepa de *Trichoderma*. Se observa que T1, T5 y T7 mantiene un nivel de antagonismo de II, mientras que T4, T8 y T10 un nivel III.

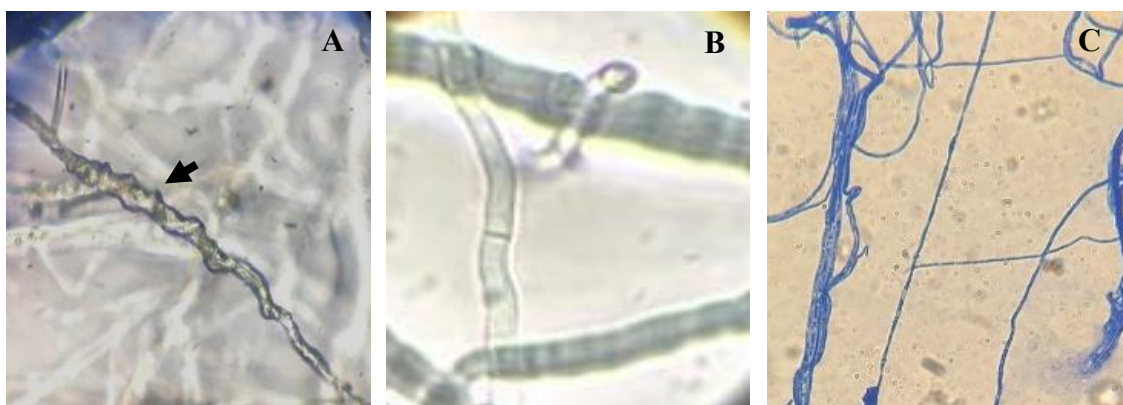


Figura 6. Mecanismos de parasitismo de *Trichoderma* sp frente a *Neopestalotiopsis* sp. A) Enrollamiento, B) Formación de ganchos y C) Adhesión y lisis.

Cuadro 3. Nivel de antagonismo según Bell *et al.* (1982) y mecanismos de micoparasitismo.

Nivel de antagonismo	Cepa	Mecanismo del micoparasitismo
II	1S1, T175, T675, T5	Adhesión, enrollamiento
II	8L9, T3	Enrollamiento, formación de ganchos
II	THP	Lisis, enrollamiento
II	T1, T2	Adhesión
II	T3	Enrollamiento, formación de ganchos
II	T6	Adhesión, enrollamiento, formación de ganchos
II	T7	Adhesión, penetración a hifa
III	T4, T8	Enrollamiento
III	T9, T10	Enrollamiento, formación de ganchos

Evaluación de control de *Neopestalotiopsis* sp. empleando fungicidas comerciales

De acuerdo con el análisis estadístico, se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. La comparación de medias indicó que el fungicida sistémico Tebuconazol, el Extracto de Canela y Neem, y el Ácido Peracético, en todas las concentraciones empleadas, fueron los productos que inhibieron el crecimiento de *Neopestalotiopsis* sp. en 100 % (Figura 7). El fungicida de contacto Captan inhibió el crecimiento del patógeno en 81, 83 y 86 %, siguiéndole el fungicida orgánico a base de cítricos con 52, 60 y 63 %; y el fungicida sistémico Carbendazim inhibió en un 28, 42 y 52 % con respecto al testigo.

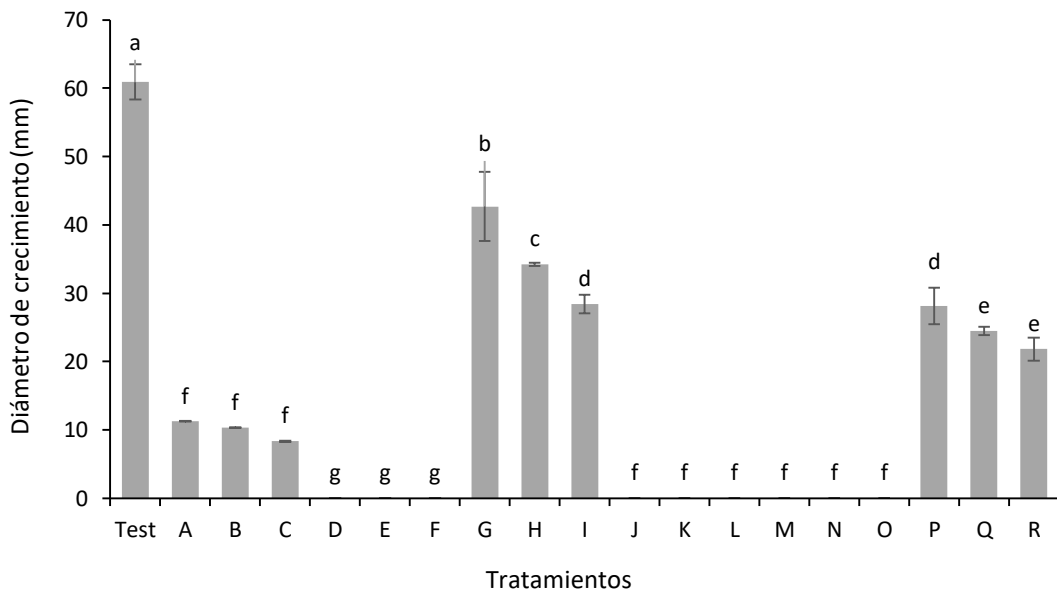


Figura 7. Crecimiento de *Neopestalotiopsis* sp en medio PDA con fungicidas comerciales. Test: testigo sin producto; A-C: Captán 200, 300 y 400 g 100 L⁻¹; D-F: Tebuconazol 100, 250 y 375 mL 100 L⁻¹; G-I: Carbendazim 400, 500 y 600 mL 100 L⁻¹; J-L: Extracto de Canela y Neem 500, 1000 y 1500 mL 100 L⁻¹; M-O: Ácido Peracético 25, 50 y 75 mL 100 L⁻¹; P-R: Fungicida orgánico a base de cítricos 500, 750 y 1000 mL 100 L⁻¹. 400 g y 600 mL 100 L⁻¹ (p≤0.05).

Debido a las grandes pérdidas económicas que ha generado *Neopestalotiopsis* se han realizado estudios para determinar el manejo de la enfermedad, al respecto Rebollar-Alviter *et al.* (2020) evaluaron el control *in vitro* de *Neopestaloptiosis rosae* empleando Captan y otros productos como Azoxistrobin, Fenopyroxad + Piraclostrobina, Piraclostrobina + Boscalid, Iprodiona, Difenoconazol, Prochloraz, Cyprodinil +

Fludioxonil. Los resultados en cuanto a la inhibición en el crecimiento del patógenos sugirieron que Captan, Fludioxonil + Cyprodinil, Difenconazol e Iprodion tuvieron el mayor efecto para el control de *Neopestalotiopsis*. De la misma forma, Baggio *et al.* (2023) realizaron estudios para determinar la sensibilidad de patógeno frente a fungicidas comerciales, sus resultados indicaron que Captan, Thiram y Clorotalonil tuvieron mayor efectividad. Autores como Acosta-González *et al.* (2024) señalaron que, al aplicar fungicidas, principalmente Pidiflumetofen + Fludioxonil, Ciprodinil + Fludioxonil y Procloraz de forma preventiva, lograron la disminución de la incidencia y severidad de la enfermedad, también disminuyó la mortalidad de las plantas. Los autores indicaron que cuando los fungicidas se aplicaron de forma preventiva se consiguió una eficiencia del 99 al 100 %; sin embargo, cuando se usaron de forma curativa, es decir después que se expresaron los síntomas, la eficiencia fue de 0 al 37 %.

Por otro lado, productos a base de extractos vegetales como ajo, manzanilla, ruda, canela, tagetes, acacia, neem, chile, pimienta, agave, ruda, ricino, chicalote, pino, cítricos, gobernadora y otros, están autorizados en México como plaguicidas para el cultivo de fresa (COFEPRIS, 2024). Por lo tanto, son una alternativa importante para el manejo orgánico en este cultivo. Los resultados que se obtuvieron en este trabajo con el Extracto de Canela y Neem demostraron que puede aplicarse para inhibir el crecimiento del patógeno sin causar estragos ambientales a largo plazo. Otros autores como Darapanit *et al.* (2021) demostraron que extractos etanólicos a base de cúrcuma (*Curcuma longa*), jengibre (*Zingiber officinale*), zacate limón (*Cymbopogon citratus*), jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) inhibieron el crecimiento de cepas de *Neopestalotiopsis* y *Pseudopestalotiopsis*, principalmente los extractos de Cúrcuma y clavo de olor en concentraciones de 10,000 mg L⁻¹. En general los extractos a base de plantas producen metabolitos secundarios como esteroides, alcaloides, taninos, terpenos, fenoles, flavonoides y resinas que presentan propiedades antimicrobianas (Lengai *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

El control *in vitro* obtenido con las 15 cepas de *Trichoderma* evaluadas se determinó por el PICR en un intervalo de 63 al 70 %. La cepa T1 fue la que presentó mayor porcentaje de inhibición en el crecimiento radial del patógeno. El nivel de antagonismo que se encontró fue clase II y clase III, con mecanismos de parasitismo de enrollamiento, adhesión a la hifa del patógeno y lisis. En el caso del control de crecimiento del patógeno con los fungicidas, se determinó 100 % de inhibición con Tebuconazol, Extracto de Canela y Neem y Ácido Peracético; los ingredientes activos Captan y Carbendazim tuvieron una inhibición del crecimiento del 86 y 52 % con las dosis 400 g y 600 mL 100 L⁻¹, respectivamente. Los resultados de este estudio son referencia para el desarrollo de un manejo integral con aplicaciones preventivas y de control con *Trichoderma* sp. y productos orgánicos como alternativa a moléculas químicas, que contribuyen en la reducción de inóculo primario proporcionando una protección a las plantas una vez establecidas en campo.

REFERENCIAS

- Acosta-González U, Leyva-Mir SG, Silva-Rojas HV and Rebolgar-Alviter A. 2022. Preventive and Curative Effects of Treatments to Manage Strawberry Root and Crown Rot Caused by *Neopestalotiopsis rosae*. Plant Disease 108:1278-1288. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-23-0958-RE>
- Álvarez P, Román A, Tamayo L, Guerra L and Tubercia A. 2022. Efeito de *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma longibrachiaum* no crescimento de *Chionanthus pubescens*, *Eucalyptus cinerea* e *Cupressus macrocarpa* em viveiro. Revista Agraria Acadêmica 5(5):62-71. doi: 10.32406/v5n5/2022/62-71/agrariacad
- Amrutha P and Vijayaraghavan R. 2018. Evaluation of Fungicides and Biocontrol Agents against *Neopestalotiopsis clavispora* causing leaf blight of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 7(8):622-628. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.708.067>
- Baggio JS, Forcelini BB, Wang NY, Ruschel RG, Mertely JC and Peres NA. 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>
- Baggio SJ, Rebello SC, de Moraes BM, Marin VM, Gama BA, Forcelini BB, Mertely CJ and Peres AN. 2023. Efficacy of Single- and Multi-Site Fungicides Against *Neopestalotiopsis* spp. of strawberry. Plant Disease 107(7). <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1929-RE>
- Bell D, Well H and Markham C. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology 72:379-382. <https://doi.org/10.1094/Phyto-72-379>
- COFEPRIS, Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. 2024. Consulta de Registros Sanitarios de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y LMR. <https://siipris03.cofepris.gob.mx/Resoluciones/Consultas/ConWebRegPlaguicida.asp>. (consulta, enero 2024).
- Companioni-González B, Domínguez-Arizmendi G and García-Velasco R. 2019. *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. Biotecnología Vegetal 19(4), 237-248.
- Correa S, Mello M, Ávila Z, Minare L, Pádua R y Gomes D. 2007. Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* SAAC. Fitosanidad 11(1): 3 -9.
- Darapanit A, Boonyuen N, Leesutthiphonchai W, Nuankaew S and Piasai O. 2021. Identification, pathogenicity and effects of plant extracts on *Neopestalotiopsis* and *Pseudopestalotiopsis* causing fruit diseases. Scientific Reports 11(1):22606. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02113-5>
- Gilardi G, Bergeretti F, Gullino ML and Garibaldi A. 2019. First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing root and crown rot on strawberry in Italy. Plant Disease 103: 2959. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-19-0673-PDN>
- Goldenhar K and Pate E. 2021. Pest Alert: *Neopestalotiopsis* – an emerging strawberry disease in North America. <https://onfruit.ca/wp-content/uploads/2021/03/Pest-Alert-Neopestalotiopsis-.pdf>. (consulta, agosto 2023).
- Lengai GMW, Muthomi JW and Mbega ER. 2020. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. Scientific African 7: e00239. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00239>
- Liu P, Yang R, Wang Z, Ma Y, Ren W, Wei D and Ye W. 2024. Biocontrol Potential of *Trichoderma asperellum* CMT10 against Strawberry Root Rot Disease. Horticulturae 10:246. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10030246>
- Maharachchikumbura SSN, Guo LD, Cai L, Chukeatirote E, Wu WP, Sun X, Crous PW, Bhat DJ, McKenzie EHC, Bahkali AH and Hyde KD. 2012. A multi-locus backbone tree for *Pestalotiopsis*, with a polyphasic characterization of 14 new species. Fungal Diversity 56: 95-129. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0198-1>
- Maharachchikumbura SSN, Hyde KD, Groenewald JZ, Xu J and Crous PW. 2014. Pestalotiopsis revisited. Studies Mycology 79: 121–186. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.005>
- Morales-Mora LA, Andrade-Hoyos P, Valencia-de Ita MA, Romero-Arenas O, Silva-Rojas HV, and Contreras-Paredes CA. 2020. Characterization of strawberry associated fungi and *in vitro* antagonistic effect of *Trichoderma harzianum*. Revista Mexicana de Fitopatología 38(3):434-449. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2005-7>
- Mukherjee M, Mukherjee PK, Horwitz BA, Zachow C, Berg G and Zeilinger S. 2012. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions: advances in genetics of biological control. Indian Journal Microbiology 52(4):522-9. <https://doi.org/10.1007/s12088-012-0308-5>
- Mukherjee PK, Mendoza-Mendoza A, Zeilinger S and Horwitz BA. 2022. Mycoparasitism as a mechanism of *Trichoderma*-mediated suppression of plant diseases. Fungal Biology Reviews 39:15–33. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.11.00>

- Obregón VF, Meneguzzi NG, Ibañez JM, Lattar TE and Kirschbaum DS. 2018. First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing root and crown rot on strawberry plants in Argentina. Plant Disease 102(9):1856. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0330-PDN>
- Pandey AK, Kumar A, Samota MK and Tanti A. 2022. *Trichoderma reesei* as an elicitor triggers defense responses in tea plant and delays gray blight symptoms, Pesticide Biochemistry and Physiology 188:105279. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105279>
- Rebollar-Alviter A, Silva-Rojas HV, Fuentes-Aragón D, Acosta-González U, Martínez-Ruiz M and Parra-Robles BE. 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>
- Shi J, Zhang X, Liu Y, Zhang Z, Wang Z, Xue C, Ma Y and 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>
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera Acciones y Programas. 2024. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. En línea: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. (consulta, enero 2024).
- Suárez C, Fernández R, Valero N, Gámez R. and Páez A. 2008. Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. asociado a la marchitez en maracuyá. Revista Colombiana de Biotecnología 10(3): 35-43
- Yao X, Guo H, Zhang K, Zhao M, Ruan J and Chen J. 2023. *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. Frontiers in Microbiology 14:1160551. doi: 10.3389/fmicb.2023.1160551
- Zhang S, Wu J, Chen J, Jun S, Yuan Y, Dai X, Wang F and Ma Y. 2024. The biological control effect of *Bacillus cereus* on strawberry leaf spot disease caused by *Neopestalotiopsis clavispora*. Scientia Horticulturae 327(1):112841. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.112841>