



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

“Enseñar la explotación de la tierra, no la del hombre”

FUENTE DE INÓCULO PRIMARIO Y DISTRIBUCIÓN REGIONAL DE LA INTENSIDAD DE LA MARCHITEZ Y TIZÓN DE LA HOJA DE LA FRESA EN EL VALLE DE ZAMORA, MICHOACÁN

Que como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en
Protección Vegetal

Merari Martínez Ruiz

Bajo la supervisión de

DR. ÁNGEL REBOLLAR ALVITER



APROBADA



**FUENTE DE INÓCULO PRIMARIO Y DISTRIBUCIÓN REGIONAL DE LA
INTENSIDAD DE LA MARCHITEZ Y TIZÓN DE LA HOJA DE LA FRESA EN
EL VALLE DE ZAMORA, MICHOACÁN**

Tesis realizada por **MERARI MARTÍNEZ RUÍZ**, bajo la supervisión del comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

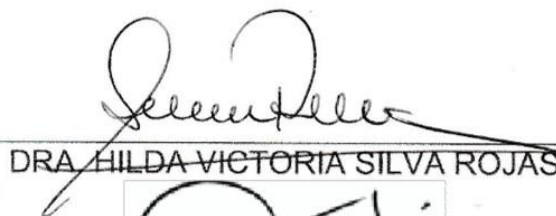
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR:



DR. ÁNGEL REBOLLAR ALVITER

ASESORA:



DRA. HILDA VICTORIA SILVA ROJAS

ASESOR:



DR. JOSÉ LUIS ZÁRATE VALDEZ

ASESOR:



DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

CONTENIDO GENERAL

CONTENIDO GENERAL	III
LISTA DE CUADROS	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
DEDICATORIA	XI
AGRADECIMIENTOS	XII
DATOS BIOGRÁFICOS	XIII
RESUMEN	14
ABSTRACT	15
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	16
2. OBJETIVO GENERAL	17
3. OBJETIVOS PARTICULARES	17
CAPÍTULO I	18
4. REVISIÓN DE LITERATURA	18
4.1 Origen, historia y distribución	18

4.2	Descripción botánica-----	18
4.3	Variedades comerciales -----	19
4.4	Cultivo comercial en México -----	20
4.5	Importancia de la fresa en México y Michoacán -----	20
4.6	Plagas de mayor importancia en México -----	21
4.7	Enfermedades de mayor importancia en Fresa -----	22
4.7.1	Enfermedades causadas por bacterias y fitoplasmas -----	22
4.7.2	Enfermedades causadas por virus-----	23
4.7.3	Enfermedades causadas por nematodos -----	23
4.7.4	Enfermedades causadas por hongos -----	24
4.8	Pudriciones de raíz y corona en fresa-----	25
4.8.1	Hongos causantes de marchitez en fresa-----	26
	<i>Fusarium</i> sp. -----	26
	<i>Phytophthora cactorum</i> -----	27
	<i>Macrophomina phaseolina</i> -----	28
	<i>Neopestalotiopsis</i> sp. -----	29
4.9	Control de marchitez de fresa -----	31
5.	LITERATURA CITADA -----	32
CAPÍTULO II: FUENTE DE INÓCULO PRIMARIO Y DISTRIBUCIÓN		
REGIONAL DE LA INTENSIDAD DE LA MARCHITEZ Y TIZÓN DE LA HOJA		
DE LA FRESA EN EL VALLE DE ZAMORA, MICHOACÁN -----		
		40

6. INTRODUCCIÓN	40
7. MATERIALES Y MÉTODOS	41
7.1 Zona de estudio	41
7.2 Muestreo de Viveros de fresa	42
7.3 Muestreo de plantas de fresa en pre-trasplante	43
7.4 Muestreo de plantas en parcelas comerciales	44
7.5 Procesamiento de material vegetal	44
7.6 Densidad de inóculo en suelo	45
7.7 Caracterización morfológica e identificación filogenética	46
7.7.1 Reconstrucción filogenética mediante inferencia bayesiana	48
7.8 Análisis regional de la pudrición de corona y del tizón de la hoja de la fresa	49
7.8.1 Muestreo	49
7.9 Procesamiento de información y análisis de datos	51
8. RESULTADOS	52
8.1 Hongos y oomycetes asociados a pudrición de corona de la fresa y síntomas asociados	52
8.2 Filogenia del género <i>Neopestalotiopsis</i> y <i>Fusarium</i> sp. asociados en viveros y parcelas comerciales de fresa	56

8.3	Mapeo regional de la marchitez y pudrición de corona-----	60
8.4	Intensidad de la marchitez y mancha foliar de la fresa -----	62
8.5	Análisis de pérdidas económica -----	68
9.	DISCUSIÓN -----	68
10.	CONCLUSIONES-----	72
11.	LITERATURA CITADA -----	74
12.	ANEXOS -----	78
	Anexo 1.-----	78
	Anexo 2-----	80
	Anexo 2-----	81

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1 Superficie de viveros en hectáreas (ha) muestreados por municipio -----	43
Cuadro 2 Frecuencia de hongos y oomycetes asociados a raíz y corona en vivero, pre-trasplante y parcelas comerciales. -----	54
Cuadro 3. Especie de hongos asociados y etapas en los que se aisló-----	57
Cuadro 4. Análisis de pérdidas económica por pérdida de planta de fresa asociada a la pudrición de raíz y corona causada por la asociación de hongos. -----	68
Cuadro 5. Encuesta realizada a productores de fresa en muestreo de viveros	78
Cuadro 6. Encuesta realizada a productores en muestreo pre-trasplante. -----	79
Cuadro 7. Encuesta realizada a productores en parcelas comerciales establecidas. -----	79
Cuadro 8. Escala utilizada para la medición de la severidad en planta. -----	80
Cuadro 9 Datos colectados en el recorrido de regionalización de marchitez y tizón de la hoja-----	81

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Síntomas de marchitez en plantas de fresa observados en campo a) planta con marchitez avanzada, b) planta marchitez inicial, c) y d) Planta con hojas externas secas.-----42
- Figura 2.** Puntos de muestreo de la marchitez de la fresa en zonas productoras del Valle de Zamora, Michoacán. Los puntos amarillos representan la zona del valle de Zamora. -----50
- Figura 3.** a) Crecimiento micelial de *Fusarium* sp. en medio papa dextrosa agar (PDA), b) morfología conidial, c) crecimiento micelial de *N. rosae* en medio PDA y d) conidios típicos del género, e) crecimiento de *Macrophomina* sp. en medio PDA y f) esclerocios formados en A.A., g) crecimiento de *Cylindrocarpon* sp. en medio PDA y h) conidios, i) cepa de *Alternaria alternata* en medio PDA y j) conidios, k) crecimiento de oomycetes en medio PDA y l) hifa desarrollada en agua destilada estéril. -----53
- Figura 4.** a) Síntomas de tizón asociados a *Neopestalotiopsis rosae*, b) y c) síntomas típicos en corona d), e) inicio y avance de tizón de la hoja y f) daño en peciolo causado por *N. rosae* en peciolo. -----55
- Figura 5.** Variación de síntomas asociados a corona de fresa observados en las tres etapas (vivero, pre-transplante y parcela comercial) donde a, b y c) síntomas de *Neopestalotiopsis* sp., d, e y f) síntomas de ataque de *Fusarium* sp., g, h e i) síntomas de la asociación de *Fusarium* y *Neopestalotiopsis* sp., j, k y l) síntomas de *Fusarium* sp. con *Cylindrocarpon* sp., m, n y ñ) síntomas de la asociación de *Fusarium* sp. y *Macrophomina* sp. y o, p y q) síntomas de *Fusarium* sp. con oomycetes. -----56
- Figura 6.** Árboles filogenéticos generados mediante inferencia bayesiana a) *Fusarium* sp. construido con secuencias parciales del gen *rpb2* y b) *Neopestalotiopsis* sp. construido con secuencias parciales del gen β -tubulina. 58

Figura 7. Distribución de la densidad de inóculo (UFC g-1) de Fusarium sp. en suelo de viveros y parcela comercial previo al trasplante. Vivero= 33 y Comercial, n= 18 parcelas muestreados en los municipios de Angamacutiro, Ixtlán de los Hervores, Tangancícuaro y Chilchota en 2019. -----60

Figura 8. Mapas de interpolación de la intensidad de la marchitez y tizón de la hoja de la fresa en el Valle de Zamora Michoacán a) Mortalidad de plantas, b) severidad de la enfermedad en plantas. c) severidad del tizón de la hoja causado por Neopestalotiopsis rosae en el Valle de Zamora, Michoacán.-----61

Figura 9. Distribución de la mortalidad de plantas (%) de fresa sin considerar el origen. (N=50) parcelas muestreadas distribuidas de manera proporcional en los municipios de Tangancícuaro, Zamora, Jacona, Ixtlán, Panindícuaro, Puruándiro, Angamacutiro, Chilchota en noviembre 2019. -----62

Figura 10. Ajuste de la ecuación de regresión entre Severidad en hoja (Sev-Ho) y la mortalidad (en Logits). n=50 parcelas de fresa.-----63

Figura 11. Distribución de la mortalidad de plantas de fresa según su tecnología de producción. CEP= Cepellón, RD=Raíz desnuda. -----64

Figura 12. Distribución de la mortalidad por origen de la planta de fresa, independientemente del municipio. ANG= Angamacutiro, CHIL= Chilchota, IXT=Ixtlán de los Hervores, JAC= Jacona de Pancarte, PAN= Panindicuaro, PUR= Puruandiro, TANG= Tangancícuaro, ZAM= Zamora. CEP= Cepellón y RD=Raíz desnuda. -----65

Figura 13. Distribución de la mortalidad de plantas por variedad de fresa. n= 50 parcelas por municipio y origen de la planta.-----65

Figura 14 Relación de días a la colocación del plástico y la mortalidad de las plantas -----66

Figura 15. Mortalidad de planta según su tecnología de producción y las realización o no de tratamiento pre y post trasplante donde a) Fumigación y tratamiento pre-trasplante por origen de la planta de fresa y b) Fumigación,

aplicación post-trasplante por origen de la planta. puntos rojos= no hubo
tratamiento, azul= se realizó tratamiento -----67

DEDICATORIA

A DIOS

Por darme la vida, su amor y la oportunidad de formarme, por fortalecerme y hacerme cada vez una mejor persona.

A MIS PADRES

Por todo su amor y confianza que han puesto en mí, por ser mis sabios consejeros y darme su apoyo incondicional.

A MIS HERMANAS

Rachel, Eliasid, Rosalía, Noemí, Sandra, Yazmin y Priscila por su apoyo brindado y la fe que pusieron en mí para lograr mis sueños.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por la beca otorgada para el financiamiento de mis estudios de maestría.

A la **Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola** en especial al posgrado **Maestría en Ciencias en Protección Vegetal** por darme la oportunidad de seguir con mi formación académica en mi alma mater.

Al **Centro Regional Centro Occidente de la Universidad Autónoma Chapingo** por su apoyo en instalaciones de laboratorio.

A la empresa **AGRANA Fruit y HACHER FRESH** por su disponibilidad y apoyo brindado durante el desarrollo de la tesis

Al **Dr. Ángel Rebollar Alviter**, por su dedicación, compromiso y empeño en el desarrollo de la investigación.

A la **Dra. Hilda Victoria Silva Rojas** por su disponibilidad y apoyo en la investigación, especialmente en la identificación molecular y análisis filogenético.

Al **Dr. José Luis Zárate Valdez** por su disponibilidad en la enseñanza de programas utilizados en el desarrollo de la investigación y su trabajo dedicado.

Al **Dr. Santos Gerardo Leyva Mir** por los conocimientos brindados durante el desarrollo de esta investigación.

Al **Ing. Emiliano Zarco Perello**, al **Ing. Edgar Guzmán Lara** y su **equipo de colaboración**, por su tiempo disponibilidad y apoyo en la etapa de toma de muestras.

A **Uriel Acosta** y **Sarahi Alvarado** por su apoyo en la toma de muestras durante el desarrollo de la investigación

DATOS BIOGRÁFICOS

DATOS PERSONALES

Nombre: MERARI MARTÍNEZ RUÍZ

Fecha de nacimiento: 13 DE DICIEMBRE 1991

Lugar de nacimiento: SANTO DOMINGO TEOJOMULCO,
SOLA DE VEGA, OAXACA

CURP: MARM911213MOCRZR05

Profesión: INGENIERO AGRÓNOMO ESPECIALISTA EN FITOTECNIA

Cédula profesional: 09308109



DESARROLLO ACADÉMICO

PREPARATORIA AGRÍCOLA (2007-2010) UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
CHAPINGO, Texcoco de Mora, México.

Licenciatura en INGENIERO AGRÓNOMO ESPECIALISTA EN FITOTECNIA,
Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Estado
de México

FUENTE DE INÓCULO PRIMARIO Y DISTRIBUCIÓN REGIONAL DE LA INTENSIDAD DE LA MARCHITEZ Y TIZÓN DE LA HOJA DE LA FRESA EN EL VALLE DE ZAMORA, MICHOACÁN

RESUMEN GENERAL

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch) es un cultivo de gran importancia en la zona de Zamora, Mich. La marchitez por hongos asociados a raíz y corona es el principal problema en el cultivo causando hasta un 80% de pérdidas, sumando que la fuente de inóculo de dichos patógenos es desconocida. Por tanto, se planteó definir la fuente de inóculo primario y así como la distribución regional de marchitez y tizón de la hoja causado por *Neopestalotiopsis rosae*. Se muestrearon y procesaron plantas de parcelas de vivero, pre-transplante, comerciales y muestras de suelo en el ciclo 2019-2020. En la distribución regional (n=50 parcelas) se determinó la mortalidad, severidad en planta y hoja. Los análisis correspondientes se realizaron con el programa R, se hizo una interpolación mediante Krigging ordinario y se generó el mapa interpolativo correspondiente. Se obtuvieron aislamientos de *F. oxysporum*, *Neopestalotiopsis rosae*, *Cylindrocarpon* y *Alternaria* principalmente, con diferencia en porcentaje de frecuencia en las etapas muestreadas. Definiendo como fuente de inóculo primario plantas de vivero confirmado por los análisis filogenéticos realizados. En suelo se encontró que existe inóculo suficiente (UFC gr⁻¹) de *F. oxysporum* para el inicio de la enfermedad. Se identificó también a *Pestalotiopsis paeoniicola*, *F. graminearum*, y *Parastagonospora nodorum* en planta y suelo. Se comprobó que la intensidad del marchitamiento de la planta estaba principalmente asociada a la planta (raíz desnuda/cepellón) y a la variedad establecida. El análisis del semivariograma y el kriging ordinario evidenciaron que la enfermedad se agregaba en los alrededores de los municipios de Zamora y Jacona. Estos resultados sentarán las bases para diseñar un plan regional de manejo de enfermedades en la zona de producción de fresas en Michoacán, México.

Palabras claves: fresa, marchitez, tizón de la hoja, *Neopestalotiopsis rosae*.

PRIMARY SOURCE OF INOCULUM AND REGIONAL DISTRIBUTION OF THE INTENSITY OF WILT AND LEAF SPOT ON STRAWBERRY OF THE VALLEY OF ZAMORA, MICHOACAN

ABSTRACT

The strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch) is a very important crop in Zamora, Michoacan region. The principal problem is the wilting associated by fungi in their roots and the corona, which causes 80% of loss, considering that the source of its pathogens is unknown. That is why the definition of the source of primary inoculum and the regional distribution of the wilting and the leaf spot caused by *Neopestalotiopsis rosae*. Nursery plots were used to make samples, pre transplant, commercial and soil samples of the 2019- 2020 cycle. In the regional distribution (n: 50 plots) mortality, severity of the plant and leaf were determined. The respective analysis were realized with the R program, interpolation through ordinary kriging was done and generated an interpolate map. Isolations of *F. oxysporum*, *Neopestalotiopsis rosae*, *Cylindrocarpon* and *Alternaria* were obtain primarily, with a difference in the percentage of frequency in the sample stages, defining the source of the primary inoculum the plants from the nursery, confirmed by the crop scientific studies that were realized. In the soil enough inoculum was found (UFC gr-1) from *F. oxysporum* to the start of the illness. *Pestalotiopsis paeoniicola*, *F. graminearum*, y *Parastagonospora nodorum* was identified in the plant and soil. The severity and the mortality have a positive correlation meanwhile the intensity of the wilt is primarily associated with the production technology. Analysis of the semivariogram and ordinary kriging showed that the disease was aggregating around the municipalities of Zamora and Jacona. These results will lay the foundation for designing a regional disease management plan in the strawberry production zone in Michoacan, Mexico

Key words: strawberry, wilt, leaf spot, *Neopestalotiopsis rosae*

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch) es una de las frutillas de mayor consumo y aceptación a nivel mundial. China es el principal productor y cuenta con 133, 114 ha, además consume el 43% de la producción mundial, Estados Unidos se encuentra en segundo lugar con 49, 642 ha y 16% del consumo mundial. México se posicionó en tercer lugar en 2014, con una superficie de producción de 26, 565 ha, dicha producción representa 658, 436 toneladas al año (SIAP 2018). El cultivo cobra importancia en el país por su participación al PIB agrícola (1.14%) (SIAVI 2018). El 52.21% de la producción se destina para mercado externo, siendo Estados Unidos y Canadá los países de mayor demanda (FOASTAT 2017).

En México los principales estados productores son Michoacán, Guanajuato, Baja California y Estado de México tan solo Michoacán contribuye con el 68.7% del volumen total de producción nacional (SIAP-SAGARPA 2017). Los municipios Zapotlán el Grande, Zamora, Huamantla, Ixtlán y Jacona (SIAP 2018) son los que presentan mayor producción dentro del estado.

La mayor limitante de la producción de fresa en estos municipios es la enfermedad llamada `secadera` o `marchitez`, causada por una asociación de hongos de suelo (Ceja-Torres et al. 2008), de los cuales destacan *Fusarium* sp., *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* sp. (Ceja et. al. 1998), *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum* sp. (Pastrana et al. 2016) y en el 2015 se reportó *Neopestalotiopsis* sp. (Ayoubi y Soleimani 2016). Los síntomas pos-infección se caracterizan por presentar marchitez de follaje, reducción de altura de la planta, secado y muerte de hojas, los tejidos vasculares y de la corteza en la corona y raíz se vuelven oscuros, después se tornan de un color marrón anaranjado, finalizando con la muerte de la planta la enfermedad suele ser más grave si la planta está sujeta a estrés. En zonas donde se ha presentado la enfermedad, los focos de infección suelen ser grandes y aparecen en áreas expandidas. El diagnóstico en campo de las enfermedades causadas por hongos de suelo se hace difícil, debido a la superposición de síntomas causados por los

hongos asociados (Koike et al. 2013), por lo que la identificación de patógenos causantes, y la fuente de inóculo primario de dichos hongos son las estrategias más importantes para el manejo y control de enfermedades (Capote et al. 2012).

2. Objetivo general

Determinar la fuente de inóculo primario de hongos e identificar los que se encuentran asociados a la marchitez y pudrición de corona de la fresa en el Valle de Zamora, Michoacán.

3. Objetivos particulares

1. Determinar la fuente de inóculo primario de hongos con énfasis en *Neopestalotiopsis rosae*, causantes del tizón de hoja, pudrición de raíz y corona en el valle de Zamora, Michoacán.
2. Establecer la distribución regional de del tizón de las hojas y pudrición de corona de la fresa en el valle de Zamora, Michoacán.

CAPÍTULO I

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Origen, historia y distribución

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch) es el resultado de la cruce de *Fragaria chiloensis* L. nativa de Chile y *Fragaria virginiana* Mill, llevadas a Francia en 1712 y 1624, respectivamente. Cuando se cultivaban en huertos y jardines europeos a manera de exhibición, se dieron una serie de hibridaciones llegando hasta la planta de fresa que hoy conocemos. Desde ese entonces la especie empezó a esparcirse por todos los países, llegando a existir más de 100 variedades cultivables alrededor del mundo (Muñoz y Navarro 1998; Warmund 2012). Fue hasta finales del siglo XVIII en que *Fragaria x ananassa* llegó a América y en 1825 su producción ya estaba bien establecida en Estados Unidos. La variedad 'Hovey' fue una de las primeras en producirse, introducida en 1838 por Charles Hovey, desde entonces se han desarrollado nuevas variedades buscando mejorar la calidad y el rendimiento (Warmund 2012). En México fue introducida en los 40's en el estado de Guanajuato, donde empezó a cobrar importancia y hasta 1950 cuando la demanda de Estados Unidos aumentó y la enfermedad de marchitez arrasó con las zonas productoras de fresa en Guanajuato, lo que propició que el cultivo se extendiera hacia los estados de Michoacán y Baja California (León et al. 2014).

4.2 Descripción botánica

Fragaria x ananassa pertenece a la familia de las *Rosaceas*, subfamilia *Rosoidea*, tribu *Potentilla* y género *Fragaria*. Es una planta herbácea que mide de 10 a 30 cm de altura, puede vivir varios años en las condiciones adecuadas, sin embargo, comercialmente solo se preservan hasta dos años por la calidad del fruto. Presenta rizomas muy ramificados, su forma de reproducción es por medio de estolones, aunque los frutos presentan pequeñas semillas superficiales poco utilizadas para propagación. Tiene hojas compuestas generalmente trifoliadas, el haz es de color verde oscuro con pilosidad y en el envés tiene un color verde

opaco. Las flores son hermafroditas, polígamos o unisexuales, se pueden encontrar solitarias o en racimos, corola de 5 pétalos, ya sea blancos o rosados dependiendo de la variedad, estambres numerosos y uniseriados. El tallo es corto y se encuentran agrupados formando una corona en la base de la planta, de donde surgen los estolones. Las raíces son fibrosas y poco profundas. El fruto comercial, es producto del engrosamiento del receptáculo floral, sobre este se encuentran los frutos verdaderos denominados aquenios (poli aquenio), su forma es variable y su color varía en escalas de rojo. Por su lugar de origen se describe que la fresa requiere de climas fríos para su desarrollo, aunque se cultiva en lugares con clima templado, los requerimientos de temperatura oscilan entre 10-25 °C con un óptimo de 12-18 °C, siendo afectada por heladas. La humedad relativa entre 65 a 70%, en cuanto al suelo requiere que tenga un contenido rico en materia orgánica, buen drenaje y aireación, suelos franco-arenosos con pH entre 5.5 a 6.5, no tolera altos niveles de salinidad (Benacchio 1982).

4.3 Variedades comerciales

Alrededor del mundo se cultiva una gran cantidad de variedades de fresa seleccionadas por su rendimiento, tamaño, color y sabor de fruto. Tiene aceptación a nivel mundial por sus múltiples usos en el consumo en fresco y la industria alimenticia. Se ha comprobado que la composición química del fruto depende mucho de la variedad y de las condiciones climáticas en el que se desarrolla (Kallio et al. 2000; Faedi et al. 2002).

Las variedades son mejoradas año con año, en México se encuentra a Camino real, Camarosa, Frontera, Oso grande, Sayulita, Festival, Frontera, entre otras, como variedades de mayor producción. En su mayoría estas variedades son seleccionadas por su rendimiento y/o tolerancia a ciertas enfermedades en planta y pos-cosecha como *Botrytis* sp., pero sobre todo la calidad del fruto, tamaño, color, grados brix y firmeza (Kallio et al. 2000; Rosana et al. 2002).

4.4 Cultivo comercial en México

Desde los inicios de la producción de fresa en México, se ha realizado con fines de exportación usando variedades comerciales que cumplan con la calidad requerida para el comercio internacional. Las variedades más comerciales son Festival, Camino Real, Frontera y Sayulita, también existen variedades a las cuales los productores le llaman variedades de 'código' por pertenecer a empresas privadas como Driscoll's, las cuales son comercializadas por la misma empresa. En cambio, las variedades comerciales ya mencionadas son provistas por empresas como Planasa (Innovation in Plant Varieties) o Plant Sciences, cuyos viveros son establecidos en los estados de Puebla, Guanajuato, Jalisco, Chihuahua y Baja California, proporcionando la planta en cepellón y raíz desnuda. En algunas zonas productoras de Michoacán como es el caso de Zamora y alrededores, los productores establecen viveros para la multiplicación de plantas a partir de plantas provistas por empresas estadounidenses. La densidad de plantación en el Valle de Zamora Michoacán es de 60,000 a 65,000 plantas ha⁻¹ en plantaciones comerciales y en vivero es de 12,000 a 15,000 plantas ha⁻¹, el sistema de producción consta de acolchado, riego por goteo y macro túneles.

4.5 Importancia de la fresa en México y Michoacán

La fresa se encuentra distribuida en varios países en nivel mundial, México ocupa el tercer lugar como productor donde el mayor porcentaje de su producción es para exportación a Canadá, Estados Unidos como principal mercado, aunque también la fresa mexicana llega a Hong Kong, Belice, Países Bajos, Rusia, Irlanda, Japón, Australia, entre otros. En el país la producción se concentra en el estado de Jalisco, Guanajuato, Baja California y Michoacán, este último contribuye con el 68.7% del volumen total. Veracruz, Puebla, Oaxaca, Estado de México producen en un bajo porcentaje (SIAP-SAGARPA 2018).

El estado de Baja California se caracteriza por sus altos rendimientos en el cultivo según cifras del SIAP 2018, la superficie sembrada en el estado es solo

2,667 ha y tiene un rendimiento de 74.705 t ha⁻¹, además de tener la comercialización como punto a favor por la cercanía con Estados Unidos. Sin embargo, Michoacán hoy en día es el principal productor de fresa en México, dentro del estado se considera al Valle de Zamora como la mejor zona de producción, seguido de Zapotlán el Grande, Jacona, Tangancicuaro, entre otros. En el estado se ha implementado la producción de plantas en viveros propios de productores, siendo California, EUA, el proveedor de estas plantas. Sin embargo aún existen muchos productores que dependen de las grandes empresas proveedoras de planta como PLANASA, Plant Sciences y viveros establecidos en Guanajuato, Puebla, Jalisco y Chihuahua para abastecer a parcelas comerciales.

4.6 Plagas de mayor importancia en México

Los principales problemas fitosanitarios que enfrenta la producción de fresa son enfermedades causadas por hongos, aunque no se deja atrás el daño causado por plagas. Entre las principales plagas se encuentran la arañita roja (*Tetranychus urticae*), gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) (Navajas et al. 2000), *Duponchelia fovealis* (reportado recientemente) (Efil et al. 2014), Fungus gnat (Nam et al. 2017) y araña ciclamina (*Steneotarsonemus pallidus*), este último es un ácaro cuarentenado para producto de exportación a Estados Unidos establecido en la NOM-008-FITO-1995, que regula los productos vegetales de importación. Además, establece que el certificado de exportación de fresa mexicana debe especificar que está libre de mosca de la fruta y de *Anthonomus signatus* y *Steneotarsonemus pallidus* en el requerimiento F024 publicado en marzo de 2011 (SENASICA 2018). El control de plagas en el cultivo, se basa principalmente en el uso de productos químicos, aunque el manejo integrado de plagas debe ser tomado como punto principal. Ejemplos del control integrado son el uso de *Neoseiulus californicus* en plantaciones comerciales, uno de los depredadores principales de la arañita roja (Yuan y Osakabe 2019), la aplicación de *Metarhizium* sp., en edades tempranas y antes de la aparición de la araña ayuda al control de la población, que además estimula el crecimiento de

la planta (Canassa et al. 2019). En algunos cultivos se ha comprobado que la aplicación de vermicompostas disminuye las poblaciones de *Tetranychus urticae*, áfidos (*Myzus persicae*) y cochinilla harinosa (*Pseudococcus* sp.) (Arancon et al. 2007). Como última opción debe considerarse aplicaciones de acaricidas autorizados como etoxazol, clorfenapir, abamectina, entre otros (Castro et al. 2016; Wang et al. 2018) enlistados en ANEBERRIES A.C.

4.7 Enfermedades de mayor importancia en Fresa

4.7.1 Enfermedades causadas por bacterias y fitoplasmas

Respecto a las enfermedades causadas por bacterias, se encuentra la mancha angular causada por *Xanthomonas fragariae*, fue reportada por primera vez en 1960 en Estados Unidos, causa el 10% de pérdidas, y se encuentra cuarentenada para material de propagación en varios países. Los síntomas son manchas que aparecen de color rojo en el haz, con el tiempo las manchas crecen en forma de V y se forma un halo clorótico alrededor de la misma (Janse et al. 2014). El único manejo posible en las enfermedades causadas por bacterias, es la prevención. Debido a la falta de control, el material vegetal a establecer debe estar libre del patógeno. Asimismo, las enfermedades causadas por fitoplasmas son cada vez más frecuentes, en 1998 se reportó en California dos fitoplasmas causando la reducción de porte de la planta y producción de hojas pequeñas (Jomantiene et al. 1998). Alrededor del mundo se han reportado el amarillamiento letal de la fresa (SYL) enfermedad de la hoja roja (StrawRL) y el pétalo verde (SbGP), esta última se reportó por primera vez en Canadá asociada con fitoplasmas del grupo del Amarillamiento del Áster ('*Candidatus* Phytoplasma asteris' 16SrI) (Pérez y Dumonceaux 2016). En México se ha reportado el fitoplasma Mexican periwinkle virescence phytoplasma (= *Candidatus* Phytoplasma hispanicum) causando virescencia y filodia del subgrupo 16SrXIII-(A/I) (Avendaño-Benequen et al. 2017). Los fitoplasmas por la ausencia de pared celular y su presencia en el floema de la planta, son transmitidos por insectos chupadores que se alimentan de la savia, observándose los síntomas en flores y frutos verdes (Pérez y Dumonceaux 2016; Pérez et al. 2017, Melo et al. 2018)

por lo tanto, aunque no hay un estudio profundo de cuáles son los insectos vectores de dichos fitoplasmas, es necesario evitar daños por fitoplasma realizando un control de posibles vectores tales como trips, chinches y algunos hemípteros (Melo et al. 2018).

4.7.2 Enfermedades causadas por virus

Dentro de los virus reportados afectando el cultivo de fresa, se encuentra el Virus del choque necrótico de la fresa (SNSV), Virus latente de *Fragaria chiloensis* (FCILV), Virus asociado a la palidosis de la fresa (SPaV), Virus críptico de *Fragaria chiloensis* (FCICV), Virus moteado de la fresa [SMoV, Virus del arrugamiento de la fresa (SCV)] y el Virus del amarillamiento marginal tenue de la fresa (SMYEV), reportándose como infecciones simples o mixtas, estos virus son transmitidos principalmente por áfidos. En México se ha reportado la presencia de Virus moteado de la fresa (SMoV), Virus de las arrugas de la fresa (SCV) y Virus latente de la mancha anular de fresa (SLRSV) en Guanajuato (Contreras et al. 2014; Silva-Rosales et al. 2013), como medida de prevención, México establece por medio de SENASICA en la NOM-008-1995 la limitación de la entrada de material vegetal para propagación o establecimiento, de material vegetal libre de virus no presentes en el país.

4.7.3 Enfermedades causadas por nematodos

Los nematodos se encuentran presentes en todos los suelos, ya que son parte de la cadena de la descomposición de materia orgánica y el ciclo de los nutrientes (Li et al. 2016). Algunos se comportan como parasitarios afectando el crecimiento de la planta o las condiciones de suelo (Seigies y Pritts 2006; Li et al. 2016). Los nematodos de mayor importancia en el cultivo de fresa son *Meloidogyne hapla* y *M. incognita* nematodos de suelo y *Aphelenchoides* sp., nematodo de hoja que se encuentra en la parte aérea provocando amarillamiento o enchinamiento de hojas y enanismo de la planta (Qiu et al. 1993; Lamondia 1999; Oliveira et al. 2019). *Meloidogyne* ataca las raíces de la fresa favoreciendo el ingreso de hongos de suelo, provoca agallas dificultando el paso de los

nutrientes, de esta manera causa daños indirectos a flores y hojas (Lamondia 2002). Para la prevención al ataque de nematodos es necesario llevar a cabo la desinfección de suelo con solarización, incorporación de residuos de cosecha de trigo y rotación de cultivos (Piedrabuena et al. 2006; Seigies y Pritts 2006) de esta manera se disminuye el nivel de población de los mismos, además de evitar el exceso de agua en la parcela.

4.7.4 Enfermedades causadas por hongos

Entre las enfermedades más frecuentes causadas por hongos se encuentra el moho gris cuyo agente causal es *Botrytis cinerea*, afecta principalmente el fruto, disminuyendo rendimiento y calidad, aunque también afecta las flores y hojas. Se ve favorecido por condiciones de humedad, los síntomas más graves aparecen cuando el fruto empieza su maduración. Es necesario que se tomen acciones preventivas para evitar el ataque del hongo, se ha comprobado que aplicaciones preventivas de *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum* y el manejo de riego disminuye considerablemente el ataque de *B. cinerea* (Hang et al. 2005; Shafir et al. 2006; Terry et al. 2007) haciendo una aplicación de fungicida antes de corte para su protección en almacén, además del manejo de la cadena de frío.

La enfermedad conocida como Mildiu polvoriento es causada por *Sphaerotheca macularis*, el ataque de este hongo se observa como un polvo blanquecino en el envés de las hojas. Si las flores llegan a infectarse se producen frutos deformes y si la incidencia es muy fuerte, las flores llegan a morir, si no se controla a tiempo las esporas pueden llegar a infectar también los frutos disminuyendo su calidad. También puede afectar estolones y peciolos. Los periodos cortos de humedad y temperaturas altas (25 °C) propician la incidencia del hongo y su expansión favorecido por el viento (Xiao et al. 2001; Miller et al. 2003; Blanco et al. 2004; Sargent et al. 2019). Para el control de la enfermedad se recomienda la selección de variedades resistentes, manejo de humedad y

temperaturas dentro de macro túneles, además del uso de fungicidas en el momento que este sea detectado (Blanco et al. 2004; David y Honne 2005).

Antracnosis es la enfermedad causada por *Colletotrichum gloeosporoides* s.l. y *C. acutatum* s.l., son hongos que atacan frutos, hojas, tallos, peciolo y corona. Se ve favorecido por temperaturas y humedad alta, así como cantidades excesivas de nitrógeno en el suelo. Cuando existe una temperatura de 26 °C y humedad constante, forma estructuras de sobrevivencia quedándose en los residuos de cosecha (Leandro et al. 2003; Karimi et al. 2019). Los síntomas típicos en frutos y hojas son manchas café con círculos concéntricos, en los tallos y peciolos se presentan manchas oscuras circulares profundas, cuando los síntomas se observan en la corona inicia con un marchitamiento general de la planta hasta un colapso del follaje. Este hongo es parte del complejo causante de la marchitez o secamiento de la planta (Leandro et al. 2001; Jacobs et al. 2019). Los residuos de cosecha y plantas hospedantes sirven como fuente de inóculo en nuevas plantaciones, incluso las plantas de vivero pueden estar infectadas sin presentar síntomas. Las pérdidas estimadas en vivero son de hasta 50% y en parcelas comerciales de hasta el 80% en rendimiento, por lo que la prevención es el manejo más importante de la enfermedad junto con la desinfección de suelo con solarización, eliminación de residuos de cosecha y tratamiento de plantas pre-trasplante sumegiéndolas en una solución con fungicidas como azoxistrobin y/o piraclostrobin. De manera curativa se ha comprobado la efectividad de ciprodinil + fludioxinil, azoxystrobin y/o piraclostrobin (MacKenzie et al. 2009).

4.8 Pudriciones de raíz y corona en fresa

La pudrición de raíz y corona es la enfermedad más importante en el cultivo, se distribuye en todo el mundo en plantaciones de vivero como comerciales, su importancia radica a que causa pérdidas de hasta el 80%, reduciendo el número de plantas y por consecuencia el rendimiento de fruta. Hasta hace algunos años, los hongos de suelo estaban bien controlados gracias al uso de Bromuro de metilo, pero en 1987 México firmó el protocolo de Montreal,

donde se limita el uso de fumigantes que dañan la capa de ozono, como consecuencia se limitó su uso en la agricultura y otras actividades humanas (SEMARNAT 2019). La infección por hongos de suelo se facilita cuando existe el ataque de nematodos o larvas que se alimentan de la raíz o la corona de la planta (Lamindia 2002; Nam et al. 2017), daños mecánicos por manejo o el estrés que presenta la planta por falta de agua o la adaptación a la parcela.

Por la complejidad de síntomas presentados en follaje, corona y raíz es difícil un diagnóstico visual en campo basado solo en síntomas, se ha reportado varios agentes causales donde se encuentra *Fusarium* sp., *Phytophthora cactorum*, *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani* (Moralejo et al. 2008, Zveibil et al. 2012) *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum* sp. (Koike et al. 2013; Pastrana et al. 2017) en 2015 se reportó *Neopestalotiopsis* sp. en Irán (Ayoubi y Soleimani 2016), Uruguay (Machin et al. 2019), España (Chamorro et al. 2016), China (Zhao et al. 2016), Italia (Gilardi et al. 2019) y Argentina (Obregón et al. 2018).

4.8.1 Hongos causantes de marchitez en fresa

***Fusarium* sp.**

Pertenece al orden Hypocreales, familia Nectriaceae y género *Fusarium*. Es el hongo más frecuente en la región productora de fresa en México y todo el mundo. Se reportó a *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* en Australia en 1962 por primera vez y en México fue reportado como parte de un complejo viral de al menos 5 virus que se encontraban afectando plantaciones en Irapuato, Guanajuato en el ciclo 2010-2011 (Dávalos et al. 2014). Abunda en los suelos agrícolas encontrándose varias especies patogénicas, los síntomas típicos presentados por ataque de *Fusarium* aparecen desde etapas tempranas del cultivo cuando la planta sufre algún tipo de estrés fisiológico, sea por adaptación o producción de fruto, también las condiciones ambientales influyen en la aparición de síntomas. Cuando afecta las raíces aparecen descoloridas o de color marrón oscuro, la corona se torna de marrón oscuro a marrón anaranjado

y con el transcurso del tiempo ocurre el decline total de la planta (Koike et al. 2013; Mariscal et al. 2017) los síntomas en el follaje se observan como retraso del crecimiento, marchitamiento, reducción del número de frutos (Koike et al. 2013; Pastrana et al. 2019). *Fusarium* se caracteriza por colonizar los haces vasculares de la planta impidiendo el paso de agua y nutrientes (Paynter et al. 2014), en medio PDA produce colonias rosa púrpura que tornan violeta, micro conidios ovoides y hialinos producidos en fiálides cortas, macro conidios ligeramente curvados con 3 a 5 septos, 21 a 43 μm de longitud y 3 a 5 μm de ancho y clamidosporas terminales o intercalares (Leslie y Summerell 2006; Ceja-Torres et al. 2008). Puede sobrevivir en el suelo por largos periodos de tiempo formando estructuras llamadas clamidosporas y de manera saprófita en otras plantas. Las clamidosporas pueden ser solitarias o en cadena, terminales o intercaladas, tienen de 3 a 7 células, con paredes rugosas o verrugosas, cuando la planta es establecida en la parcela, estas estructuras geminan favoreciéndose de las condiciones ambientales (Leslie y Summerrel 2006; Paynter et al. 2014).

Phytophthora cactorum

Pertenece al orden Peronosporales, Familia Peronosporaceae y género *Phytophthora*, es un straminipilous y el más importante dentro del complejo causante de la marchitez de fresa, por sí solo llega a causar grandes pérdidas económicas (hasta 40%), está ampliamente distribuido en el mundo causando daños en raíces y corona, debido a que su medio de sobrevivencia es el suelo y residuos de cosecha (Li et al. 2013; Armitage et al. 2018). Fue reportado por primera vez en 1982 en Australia, este oomycete se reproduce y transporta por agua y es transmitido en suelos inundados, sobrevive durante el invierno como oospora, en el interior de tejidos infectados, cuando el suelo está saturado de agua, las oosporas germinan y producen esporangios, en cuyo interior se producen zoosporas, estas se liberan al agua y viajan o son salpicadas a las hojas y frutos. Requiere de agua libre para causar infección, después cierto tiempo se producen esporangios sobre la superficie del fruto infectado. Las temperaturas más favorables oscilan entre 22°C a 24 °C (Hantula et al. 2000).

Causa pudrición en la corona y marchitez de las plantas (Ellis 1998). Los síntomas de corona aparecen en la parte superior, adquiriendo una apariencia acuosa y coloración marrón claro, que después se vuelve café intenso. El sistema radical no se ve afectado hasta que la parte aérea de la planta a muerto (Seemüller 1998). Pastrana y colaboradores (2017) encontraron que *P. cactorum* se encontraba en suelo de viveros fumigados en un 20% y en parcelas de producción de fruta antes de trasplantes en un 17% y en estolones de vivero en un 15%, aunque la incidencia encontrada es baja, nos da un indicio que la fuente de inóculo de este hongo puede ser desde plantas de vivero, si el tratamiento al suelo no es eficaz el inóculo puede sobrevivir en bajos porcentajes y aumentar después que la planta ha sido infectada, debido a la capacidad reproductiva de *P. cactorum*, puede iniciar una infestación en plantas con una densidad baja de inóculo. (Kluepfel y Browne 2004)

Macrophomina phaseolina

Pertenece a la orden Botryosphaerales, familia Botryosphaeriaceae, *Macrophomina* tiene un amplio rango de hospedantes, hasta 500 especies y 100 familias. Se encuentra distribuido en todo el mundo, puede sobrevivir por un largo periodo en el suelo, además es muy competitivo (Saleh et al. 2010; Alghuthaymi et al. 2016). Este hongo está asociado a la pudrición de raíz, en fresa fue reportado en 1986 en Canadá, en adelante se ha reportado en Australia (Shivas 1989), Israel (Zveibil y Freeman 2005), España (Avilés et al. 2007), California (Baird et al. 2010), Argentina (Baino et al. 2011), Chile (Sánchez et al. 2013), Italia (Gerin et al. 2018), Pakistán (Qamar et al. 2019). Se ha encontrado presente en suelo y planta de parcelas comerciales (Pastrana et al. 2017). Según Burkhardt (2019) con el tiempo *M. phaseolina* ha hecho cambios en su estructura asociados a un genotipo y de esta manera tener una especificidad en ataque a fresa. Los síntomas observados al ataque de *M. phaseolina* consisten en marchitamiento, secado y muerte de hojas viejas, y eventualmente muerte de la planta. Los síntomas en corona se observan de un color marrón oscuro o marrón anaranjado y las raíces se tornan de color café o negro totalmente (Avilés et al.

2007; Koike 2008). La incidencia de la enfermedad causada por este hongo puede ir de 10 hasta un 75%. Las condiciones que propician el ataque es el estrés, el déficit hídrico del suelo, suelos ligeros o por estrés asociado a la producción de frutos, temperaturas altas, sobre todo cuando superan los 28 a 35 °C en el suelo (Fang et al. 2011; Burkhardt et al. 2019). En medio PDA después de 5 a 7 días de incubación a 25 °C, produce micelio de color negro, con abundantes esclerocios que van de 67 a 100 µm de largo y 44 a 133 µm de ancho. En el suelo sobrevive hasta por 15 años por medio de estructuras llamados esclerocios, cada uno contiene entre 50 a 200 células, también puede sobrevivir como hongo saprófito (*Rhizoctonia bataticola*) (Kaur et al. 2012). Se comporta como oportunista una vez que se establece el cultivo de fresa.

Neopestalotiopsis sp.

Pertenece al orden Amphisphaeriales, familia Amphisphaeriaceae y al género *Neopestalotiopsis*. Estudios moleculares han revelado que *Neopestalotiopsis* es un género monofilético es decir que todas las especie se derivan de un ancestro en común (Jeewon et al. 2004). Este hongo forma cuerpos fructíferos asexuales conocidos como conidiomata o picnidial en forma subglobosa, globosa, clavada solitaria o agregada, el color que presentan estos cuerpos van de un color marrón oscuro a negro encontrándose en una masa viscosa unilocular o irregularmente plurilocular. Los conidios son marrón oscuro a negro concentrados en una masa viscosa y globosa, son fusoides, elipsoide a subcilíndrica, recta o ligeramente curvada. Tiene 4 septos donde la célula basal es cónica a subcilíndrica, la base puede estar truncada, hialina o de un marrón pálido a olivácea, delgado y rugoso. Las tres células medias son doliformes de pared rugosa a verruculosa, versicolor, con una septa más oscura que el resto. La célula apical del conidio es hialina, puede ser cónica a cilíndrica, con paredes finas y lisas, tiene apéndices apicales tubulares pudiendo ser uno o más, atenuados o filiformes, flexibles, ramificados o no. El apéndice basal del conidio es único, en forma tubular no ramificado y céntrico (Maharachchikumbura et al. 2014, Dung et al. 2016). Las características morfológicas son muy usadas para

la identificación de la especie, sobre todo, el tamaño del conidio, longitud y anchura, ya que son estables en diferentes medios, definiendo de esta manera el género, sin embargo, la coloración de los conidios de *Neopestalotiopsis* pueden variar según las condiciones ambientales (Hu et al. 2007), con base a lo anterior se ha agrupado en tres clados, el primero son aquellos que tienen células medianas de color marrón claro u oliváceo, el segundo, con células medianas versicolores y el tercero, con células medianas de color marrón oscuro (Liu et al. 2010; Maharachchikumbura et al. 2014).

El ciclo de vida no es bien conocido, ya que su etapa sexual (*Pestalosphaeria* sp.) no se desarrolla con frecuencia, es por eso que se cree que los conidios juegan un papel muy importante como fuente de inóculo, formando estructuras conocidos como acérvulos, los cuales contiene conidios, mismos que al tener contacto con la planta emiten su apresorio e inicia la colonización del tejido vegetal. Se han aislado géneros de *Neopestalotiopsis* en agua contaminada, madera, tejido e incluso algunas de ambientes extremos (Maharachchikumbura et al. 2014; Xu et al. 2014) Existe una gran gama de especies de este hongo algunas no patogénicas y otras que viven como saprófitas, se ha encontrado presentes a *Neopestalotiopsis clavispora* en algas marinas que según el autor estas esporas son arrastradas desde la zona terrestre a los arrecifes sin causar daño a las esponjas (Paulino et al. 2019). Se cree que algunas especies endófitas de *Neopestalotiopsis* pueden habitar de manera asintomática latente en la planta, y cuando la planta es sometida a estrés se observan los primeros síntomas debido a la susceptibilidad de la planta y la virulencia del patógeno (Gehelot et al. 2008; Maharachchikumbura et al. 2012). Para que *Neopestalotiopsis* pueda causar infección necesita hacer contacto directo con el órgano de la planta pudiendo infectar la raíz, corona o la hoja, siendo las condiciones óptimas para el desarrollo de la enfermedad temperaturas que oscilan entre 20 y 25 °C y un 95 a 100% de humedad relativa (Dung et al. 2016),

Se ha reportado la presencia de especies patogénicas en plantaciones de fresa, *N. clavispora* en China, Italia, Uruguay, Argentina y Korea (Lu et al. 2015; Obregón et al. 2018; Gilardi et al. 2019; Machin et al. 2019; Park et al. 2019), *N. iranensis* y *N. mesopotamica* en Irán (Ayoubi y Soleimani 2016); *Pestalotia longisetula* en Estados Unidos, India y Egipto (Embaby et al. 2007; Ayuobi y Soleimani 2016) y en México se reportó el género *Pestalotiopsis* sp. causando daños en las hojas de fresa en parcelas establecidos en el estado de Puebla (Morales et al. 2019) y *N. rosae* causando daños en la corona, raíz y hoja en el estado de Michoacán (Rebollar-Alviter et al. 2020).

Los síntomas descritos por diversos autores son principalmente en las hojas, el síntoma típico es la mancha de la hoja, consiste en manchas de color negro con contorno amarillento, estas manchas también se pueden observar en los sépalos, estolones y frutos, el daño en la corona y raíz, se observa como manchas de color marrón anaranjado o necrótico-marrón, en el fruto se pueden observar manchas necróticas causando pudrición. Cuando la planta presenta un grado de severidad alto se observan hojas y flores totalmente necrosadas, las raíces son escasas y necróticas, y finalmente el colapso total de la planta (Dung et al. 2016; Hemelrijck et al. 2017; Mahapatra et al. 2018; Ayoubi y Soleiman 2018; Rebollar-Alviter et al. 2020).

4.9 Control de marchitez de fresa

Con la salida de Bromuro de metilo del mercado se ha implementado nuevas técnicas de control de hongos de suelo causantes de la marchitez, entre las cuales se encuentra, principalmente la solarización y bio-solarización como actividad preventiva. Además la aplicación de hongos benéficos como *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. (Nam et al. 2009; Hutton et al. 2013). La implementación de buenas prácticas agrícolas tales como eliminación de residuos de cosecha, surcos altos, cubierta vegetativa entre surcos para evitar salpique, establecimiento de planta libre de patógenos y rotación de cultivos, cada una de las prácticas anteriores son esenciales para la prevención de enfermedades. El uso de acolchados, macro túneles, manejo de la nutrición y

riego, ayuda a que la planta tenga las condiciones de adaptación en el momento de trasplante, disminuyendo el estrés pos-trasplante, ya que algunos hongos como *Fusarium*, *Macrophomina* y *Neopestalotiopsis* suelen infectar cuando la planta es sometida a estrés. En el caso de *Phytophthora* se ven favorecido por el exceso de humedad. De manera curativa se ha probado que las aplicaciones de procloraz, ciprodinil + fludioxinil y tiabendazol, han sido efectivas al momento en que se observan los primeros síntomas (Ceja-Torres et al. 2008; Koike y Gordon 2015; Rebollar-Alviter et al. 2020).

5. LITERATURA CITADA

- Alghuthaymi, M. A., Aly, A. A., Asran, A. A., Abd-Elsalam, K. A. 2016. Pathotyping and AFLP-based molecular characterization of *Macrophomina phaseolina* isolates from different plant hosts. *Plant Pathology and Quarantine* 6:31-41.
- Ara, T., Monzur, S., Saand, M., Islam, R., Alam, S., Hossain, M. 2017. The first report of *Pestalotiopsis* sp. causing crown rot disease on strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch.) in Bangladesh and evaluation of fungicide activity. *International Journal of Biosciences* 11:350-358.
- Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Yardim, E. N., Oliver, T. J., Byrne, R., Keeney, G. 2007. Suppression of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*), mealy bug (*Pseudococcus* sp.) and aphid (*Myzus persicae*) populations and damage by vermicompostas. *Crop Protection* 26:29-39.
- Avendaño-Benequen, M., Silva-Rojas, H. V., Marbán-Mendoza, N., Rebollar-Alviter, A. 2017. Mexican periwinkle virescence phytoplasma associated with phyllody and virescence in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) in Michoacan, Mexico. *European Journal of Plant Pathology* 147:451-454.
- Avilés, M., Castillo, S., Bascón, J., Zea-Bonilla, T., Martín, S. P. M., Peres-Jiménez, J. R. M. 2008. First report of *Macrophomina* causing crown and root rot of strawberry in Spain. *Plant Pathology* 57:382.
- Ayoubi, N., Soleimani, M. J. 2016. Strawberry fruit rot caused by *Neopestalotiopsis iranensis* sp. nov., and *N. mesopotamica*. *Current Microbiology* 72:329-336.
- Baino, O. M., Salazar, S. M., Ramallo, A. C. 2011. First report of *Macrophomina phaseolina* causing strawberry crown and root rot in northwestern Argentina. *Plant Disease* 95:1477.
- Baird, R. E., Wadl, P. A., Allen, T., McNeill, D., Wang, X., Moulton, J. K., Rinehart, T. A., Abbas, H. K., Shier, T., Trigiano, R. N. 2010. Variability of United States isolates of *Macrophomina phaseolina* based on simple sequence

- repeats and cross genus transferability to related genera within Botryosphaeriaceae. *Mycopathologia* 170:169-180.
- Blanco, B., De los Santos, C., Barrau, F., Arroyo, T., Porras, M., Romero, F. 2004. Relationship among concentrations of *Sphaerotheca macularis* conidia in their, environmental conditions, and the incidence of powdery mildew in strawberry. *Plant Disease* 88:878-881.
- Burkhardt, A. K., Childs, K. L., Wang, J., Ramon, M. L., Martin, F. N. 2019. Assembly, annotation, and comparison of *Macrophomina phaseolina* isolates from strawberry and other hosts. *BMC Genomics* 20:802.
- Ceja, T, L. F., Mora A., G., Téliz O., D., Mora A., A., Sánchez G, P., Muñoz, R. C., Tlapal B, B., De la Torre A, R. 2008. Fungi prevalence and etiology of strawberry dry wilt under different crop management systems. *Agrociencia* 42:451-461
- Bohnenblust E., Tooker J. 2012. Fall armyworm as a pest of field corn *Spodoptera frugiperda* (Smith). College of Agricultural Sciences. Entomologica notes.**
- Canassa, F., D'Alessandro, C. P., Sousa, S. B., Demétrio, C. G., Meyling, N. V., Klingen, I., Delalibera, I. Jr. 2019. Fungal isolate and crop cultivar influence the beneficial effects of root inoculation with entomopathogenic fungi in strawberry. *Pest Management Science* 76:1472-1482.
- Castro, T., Roggia, S., Wekesa, V. W., De Andrade-Moral, R., Demétrio, C. Gb, Delalibera I. Jr., Klingen I. 2016. The effect of synthetic pesticides and sulfur used in conventional and organically grown strawberry and soybean on *Neozygites floridana*, a natural enemy of spider mites. *Pest Management Science* 72:1752-1757.
- Chamorro, M., Aguado, A., De los Santos, B. 2016. First report of root and crown rot caused by *Pestalotiopsis clavispora* (*Neopestalotiopsis clavispora*) on strawberry in Spain. *Plant Disease* 100:1495.
- Dávalos, G. P. A., Narro, S. J., Jofre, G. A. E., Vázquez, S. M. N., Hernández, R. A. R. 2014. Yield performance assay and fruit quality of strawberry genotypes tolerant and susceptible to *Fusarium oxysporum* and to a viral complex. *Acta Horticulturae* 1049:263-266.
- David, J., Honne, B. I. 2005. Genetic variance and breeding values for resistance to a wind-borne disease [*Sphaerotheca macularis* (Wallr. ex Fr.)] in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) estimated by exploring mixed and spatial models and pedigree information. *Theoretical and Applied Genetics* 111:256-264.
- Dung, L., Dien, N. T., Dai, P. H., Tuan, P. N. 2016. The first report of *Pestalotiopsis* sp. causing crown rot disease on strawberries in Dalat. *Journal of Science* 6:364–376.
- Efil, L., Özgür, O., Efil, F. 2014. A new pest, *Duponchelia fovealis* Zeller, on strawberries in Turkey damage, distribution and parasitoid. *Journal Entomology and Zoology Studie* 2:328-334.
- Faedi, W., Mourgues, F., Rosati, C. 2002. Strawberry breeding and varieties: situation and perspectives. *Acta Horticulturae* 567:51–59.
- Mougues, F., Rosati, C. 2002. Strawberry breeding and varieties: situation and perspectives. *Acta Horticulturae*, 567:51-59

- Fang, X. L., Phillips, D., Li, H., Sovasithamparam, K., Barbetti, M. S. 2011. Severity of crown and rot diseases of strawberry and associated fungal and oomycete pathogens in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 40:109-119.
- Ferguson, A. J., Jeffers, S. N. 1999. Detecting multiple species of *Phytophthora* in container mixes from ornamental crop nurseries. *Plant Disease* 83:1129-1136.
- Gerin, D., Dongiovanni, C., De Miccolis-Angelini, R. M., Pollastro, S., Faretra, F. 2018. First report of *Macrophomina phaseolina* causing crown and root rot on strawberry in Italy. *Plant Disease* 102:1857-1858.
- Gilardi, G., Bergeretti, F., Gullino, M. L., Garibaldi, A. 2019. First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing root and crown rot on strawberry in Italy. *Plant Disease* 103:2959.
- González, A. J., Trapiello, E. 2020. Strains of *Neopestalotiopsis* sp. are *in vitro* antagonist of *Cryphonectria parasitica*. *Biological Control* 143:104187.
- Hang, N. T., Oh, S. O., Kim, G. H., Koh, Y. J. 2005. *Bacillus subtilis* S1-0210 as a Biocontrol agent against *Botrytis cinerea* in strawberries. *The Plant Pathology Journal* 21:59-63.
- Hantula, J., Lilja, A., Nuorteva, H., Parikka, P., Werres, S. 2000. Pathogenicity, morphology and genetic variation of *Phytophthora cactorum* from strawberry, apple, rhododendron, and silver birch. *Mycology Research* 104:1062–1068.
- Hu, H. L., Jeewon, R., Zhou, D. Q., Zhou, T. X., Hyde, K. D. 2007. Phylogenetic diversity of endophytic *Pestalotiopsis* species in *Pinus armandii* and *Ribes* spp. evidence from rDNA and β -tubulin gene phylogenies. *Fungal Diversity* 24:1-22.
- Hutton, D. G., Gomez, A. O., Mattner, S. W. 2013. *Macrophomina phaseolina* and its association with strawberry crown rot in Australia. *International Journal of Fruit Science* 13:149-155.
- Jacobs, R., Adhikari, T., Pattison, J., Yencho, C., Fernandez, G., Louws, F. 2019. Assessing ate-reducing foliar resistance to anthracnose crown rot and fruit rot in strawberry. *Plant Disease* 104:398-407.
- Janse, J. D., Rossi, M. P., Gorkink, R. F. J., Derks, J. H. J, Swings, J., Janssens, D., Scortichini, M. 2014. Bacterial leaf blight of strawberry (*Fragaria* (x) *ananassa*) caused by a pathovar of *Xanthomonas arboricola*, not similar to *Xanthomonas fragariae* Kennedy & King. Description of the causal organism as *Xanthomonas arboricola* pv. *fragariae* (pv. nov., comb. nov.). *Crop Protection* 67:279-286.
- Jeewon, R., Liew, E. C. Y., Hyde, K. D. 2004. Phylogenetic evaluation of species nomenclature of *Pestalotiopsis* in relation to host association. *Fungal Diversity* 17:39–55.
- Jomantiene, R., Davis, R. E., Maas, J., Ellen L. D. 1998. Classification of new phytoplasmas associated with diseases of strawberry in Florida, based on analysis of 16S rRNA and ribosomal protein gene operon sequences. *International Journal Systematic Bacteriology* 1:269-277.

- Kallio, H., Hakala, M., Pelkkikangas, A-M., Lapveteläinen, A. 2000. Sugars and acids of strawberry varieties. *European Food Research and Technology* 212:81-82.
- Karimi, k., Arzanlou, M., Pertot, L. 2019. Weeds as potential inoculum reservoir for *Colletotrichum nymphaeae* causing strawberry anthracnose in Iran and rep-PCR fingerprinting as useful marker to differentiate *C. acutatum* complex on strawberry. *Front Microbiology* 10:129.
- Kluepfel, D. A., Browne, G. T. 2004. Biology and management of replant disorder and lethal *Phytophthora* canker. Almond Industry Conference Proceedings. USDA Publication No.192013.
- Koike, S. T. 2008. Crown rot of strawberry caused by *Macrophomina phaseolina* in California. *Plant Disease* 92:1253.
- Koike, T. S., Gordon, R. T., Oleg, D., Ajwa, H., Bolda, M., Subbarao, K. 2013. Recent developments on strawberry plant collapse problems in California caused by *Fusarium* and *Macrophomina*. *International Journal of Fruit Science* 13:76-83.
- Koike, S. T., Gordon, T. R. 2015. Management of *Fusarium* wilt of strawberry. *Crop Protection* 73:67-72.
- Lamondia, J. A. 2002. Seasonal populations of *Pratylenchus penetrans* and *Meloidogyne hapla* in strawberry roots. *Journal Nematology* 34:409-413.
- Lamondia, J. A. 1999. Influence of rotation crops on the strawberry pathogens *Pratylenchus penetrans*, *Meloidogyne hapla* and *Rhizoctonia fragariae*. *Journal Nematology* 31:650-655.
- Leandro, L. F. S., Gleason, M. L., Nutter, F. W., Jr., Wegulo, S. N., Dixon, P. M. 2003. Influence of temperature and wetness duration on conidia and appressoria of *Colletotrichum acutatum* on symptomless strawberry leaves. *Phytopathology* 93:513-520.
- Leandro, L. F. S., Gleason, M. L., Nutter, F. W., Jr., Wegulo, S. N., Dixon, P. M. 2001. Germination and sporulation of *Colletotrichum acutatum* on symptomless strawberry leaves. *Phytopathology* 91:659-664.
- León, L. L., Guzmán, O. D. L., García, B. J. A., Chávez, M. C. G., Peña, C. J. J. 2014. Consideraciones para mejorar la competitividad de la región "El Bajío" en la producción nacional de fresa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5:673-686.
- Leslie, F. J., Summerell, A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. First Edition. Blackwell Publishing. Manhattan, USA.
- Li, X., Lewis, E. E., Liu, Q., Li, H., Bai, C., Wang, Y. 2016. Effects of long-term continuous cropping on soil nematode community and soil condition associated with replant problem in strawberry habitat. *Scientific Reports* 6:30466.
- Liu, A. R., Chen, S. C., Wu, S. Y., Xu, T., Guo, L. D., Jeewon, R., Wei, J. G. 2010. Cultural studies coupled with DNA based sequence analyses and its implication on pigmentation as a phylogenetic marker in *Pestalotiopsis* taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57:528–535.
- Lu, L. M., Chen, G., Hu, X. R., Du, D. C., Pu, Z. X., Peng, A. T., Cheng, B. P. 2015. Identification of *Pestalotiopsis clavispora* causing brown leaf spot on

- Chinese bayberry in China. *Canadian Journal of Plant Pathology* 37:397-402.
- Machin, A., González, P., Vicente, E., Sánchez, M., Estelda, C., Ghelfi, J., Silvera, P. E. 2019. First report of root and crown rot caused by *Neopestalotiopsis clavispora* on strawberry in Uruguay. *Plant Disease* 103:2946.
- MacKenzie, S. J., Mertely, J. C., Peres, N. A. 2009. Curative and protectant activity of fungicides for control of crown rot of strawberry caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease* 93:815-820.
- Mahapatra, S., Banerjee, J., Kumar, K., Pramanik, S., Pramanik K., Islam S., Das, S. 2018. Leaf spot and fruit rot of strawberry caused by *Neopestalotiopsis clavispora* in Indo-Gargetic plains of India. *Indian Phytopathology* 71:279-283.
- Maharachchikumbura, S. S. N., Dong, G. L., Cai, L., Chukeatirote, E., Wu, W. P., Sun, X., Crous, P. W., Bhat, D. J., Eric, H. C., McKenzie, E. H. C., Bahkali, A. H., Hyde, K. D. 2012. A multi-locus backbone tree for *Pestalotiopsis*, with a polyphasic characterization of 14 new species *Fungal Diversity* 56:95–129.
- Mariscal, A. L. A., Rivera, Y. A., Dávalos, G. P. A., Ávila, M. D. 2017. Situación actual de hongos asociados a la secadera de la fresa (*Fragaria X ananassa* Duch.) en Guanajuato, México. *Agrociencia* 51:1405-3195.
- Marzall, P. M., Cristina, S. D., Cesar, B. E., Heyse, N. C., Paba, J., Aluizio, R., Ferrerira, M. L. S., Galli, T. L. V., Glienke, C., Kava, V. 2019. *Neopestalotiopsis* species presenting wide dye destaining activity: report of a mycelium-associated laccase. *Microbiological Research* 228:126299.
- Melo, L. A., Ventura, J. A., Costa, H., Kitajima, E. W., Ferreira, J., Bedendo, I. P. 2018. Delineation of a novel subgroup 16SrXIII-J phytoplasma, a 'Candidatus Phytoplasma hispanicum'-related strain, based on computer-simulated RFLP and phylogenetic analysis. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology* 68:962-966.
- Miller, T. C., Gubler, W. D. 2003. Effects of temperature and water vapor pressure on conidial germination and lesion expansion of *Sphaerotheca macularis* f. sp. *fragariae*. *Plant Disease* 87:484-492.
- Moralejo, E., Belbahri, L., Calmin, G., García, M., J. A., Lefort, F., Descals, E. 2008. Strawberry tree blight in Spain, a new disease caused by various *Phytophthora* species. *Journal of Phytopathology* 156:577–587.
- Muñoz, G. F., Navarro, C. 1998. Flora ibérica. Plantas vasculares de la península Ibérica e Islas Baleares. Madrid: Real Jardín Botánico, CSIC 6:88-93.
- Nam, M. H., Kim, H. S., Park, M. S., Kim, T. I., Lee, E. M., Kim, H. G. 2017. Damage and potential of fungus gnat as a *Fusarium* vector in the strawberry plants in Korea. *Acta Horticulturae* 1156:857–862.
- Nam, M. H., Park, M. S., Kim, H. G., Yoo, S. J. 2009. Biological control of strawberry *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* using *Bacillus velezensis* BS87 and RK1 formulation. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 19:520-524.
- Navajas, M., Tsagkarakov, A., Lagnel, J., Perrot-Minnot, M. J. 2000. Genetic differentiation in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae):

- polymorphism, host races or sibling species?. *Experimental and Applied Acarology* 24:365-376.
- Obregón, V. G., Meneguzzi, N. G., Ibanez, J. M., Lattar, T. E., Kirschbaum, D. S. 2018. First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing root and crown rot on strawberry plants in Argentina. *Plant Disease* 102:1856.
- Oliveira, C. J., Subbotin, S. A., Álvarez-Ortega, S., Desaeger, J., Brito, J. A., Xavier, K. V., Freitas, L. G., Vau, S., Inserra, R. N. 2019. Morphological and molecular identification of two Florida populations of foliar nematodes (*Aphelenchoides* spp.) isolated from strawberry with the description of *Aphelenchoides pseudogoodeyi* sp.n. (Nematoda: Aphelenchoididae) and notes on their Bbionomics. *Plant Disease* 103:2825-2842.
- Park, K., Han, I., Lee, S.-M., Choi, S.-L., Kim, M. C., Lee, H. 2019. Crown and root rot of strawberry caused by *Neopestalotiopsis clavispora* in Korea. *The Korean Journal of Mycology* 47:427-435.
- Pastrana, A. M., Watson, D. C., Gordon, T. R. 2019. Transmission of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* through stolons in strawberry plants. *Plant Disease* 103:1249-1251.
- Pastrana, A. M., Basallote, U. M. J., Aguado, A., Capote, N. 2017. Quantitative trait loci controlling *Phytophthora cactorum* resistance in the cultivated octoploid strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Plant Disease* 101:751-760.
- Pastrana, A. M., Basallote, Ma. J., Aguado, A., Akdi, K., Nieves, C. 2016. Biological control of strawberry soil-borne pathogens *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium solani*, using *Trichoderma asperellum* and *Bacillus* spp. *Phytopathologia Mediterranea* 55:109-120.
- Paulino, G. V. B., Félix, R. C., Landell, F. M. 2019. Diversity of filamentous fungi associated with coral and sponges in coastal reefs of northeast Brazil. *Journal of Basic Microbiology* 9:1-9.
- Paynter, M. L., De Faveri, J., Herrington, M. E. 2014. Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* and predicted breeding values in strawberry. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 139:178-184.
- Piedrabuena, A., García, A. A., Díez-Rojo, M. A., Bello, A. 2006. Use of crops residues for the control of *Meloidogyne incognita* under laboratory conditions, *Pest Management Science* 62:919-926.
- Pérez, L. E., Dumonceaux, T. J. 2016. Detection and identification of the heterogeneous novel subgroup 16SrXIII-(A/I) I phytoplasma associated with strawberry green petal disease and Mexican periwinkle virescence. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66:4406–4415.
- Pérez, L. E., Rodríguez, M. D., Olivier, C. Y., Luna, R. M., Dumonceaux, T. J. 2017. Molecular diagnostic assays based on cpn60 UT sequences reveal the geographic distribution of subgroup 16SrXIII-(A/I) I phytoplasma in México *Scientific Reports* 7:950.
- Qamar, M. I., Ghanzafar, M. U., Abbas, M. F., Zainab, R., Andleeb, S., Shafiq, M., Mushtaq, S. 2019. First report of *Macrophomina phaseolina* causing crown and root rot on strawberry in Sargodha, Pakistan. *Plant Disease* 103:1420.

- Qiu, J., Westerdahl, B. B., Buchner, R. P., Anderson, C. A. 1993. Refinement of hot water treatment for management of *Aphelenchoides fragariae* in strawberry. *Journal of Nematology* 25:795-799.
- Rebollar-Alviter, A., Silva-Rojas, H. V., Fuentes-Aragón, D., Acosta-González, U., Martínez-Ruiz, M., Parra, R. B. E. 2020. An emerging strawberry fungal disease associated with root rot, crown rot and leaf spot caused by *Neopestalotiopsis rosae* in Mexico. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-20-0041-RE>
- Rosana, C. B., Oliveira do Nascimento, J. R., Genovese, M. I., Franco, M. L. F. 2002. Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:2581-2586.
- Saleh, A. A., Ahmed, H. U., Todd, T. C., Travers, S. E., Zeller, K. A. F., Leslie, J., Garrett, K. A. 2010. Relatedness of *Macrophomina phaseolina* isolates from tall grass prairie, maize, soybean and sorghum. *Molecular Ecology* 19:79–91.
- Sánchez, S., Gambardella, M. 2013. First report of crown rot of strawberry caused by *Macrophomina phaseolina* in Chile. *Plant Disease* 97:996.
- Sargent, D. J., Buti, M., Surbanovki, N., Brurberg, M. B., Alsshikh, M., Kent, M. P., Davik, J. 2019. Identification of QTLs for powdery mildew (*Podosphaera aphanis*; syn. *Sphaerotheca macularis* f. sp *fragariae*) susceptibility in cultivated strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Plos One* 14:e0222829.
- Seigies, A. T., Pritts, M. 2006. Cover crop rotations alter soil microbiology and reduce replant disorders in strawberry. *Hort Science* 41:1303–1308.
- Shafir, S., Dag, A., Bilu, A., Abu-Toamy, M., Elad, Y. 2006. Honeybee dispersal of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* T39: effectiveness in suppressing *Botrytis cinerea* on strawberry under field conditions. *European Journal of Plant Pathology* 116:119-128.
- Shivas, R. G. 1989. Fungal and bacterial diseases of plants in Western Australia. *Journal of the Royal Society of Western Australia* 72:1-62.
- Silva-Rosales, L., Vázquez-Sánchez, M. N., Gallegos V., Ortiz-Castellanos, M. L., Rivera-Bustamante, R., Dávalos-González, P. A., Jofre-Garfias, A. E. 2013. First report of *Fragaria chiloensis* cryptic virus, *Fragaria chiloensis* latent virus, Strawberry mild yellow edge virus, Strawberry necrotic shock virus, and Strawberry pallidosis associated virus in Single and Mixed Infections in Strawberry in Central Mexico. *Plant Disease* 97:1002.
- Su, G., Suh, S. O., Schneider, W., Russian, J. S. 2001. Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. *Phytopathology* 91:120–126.
- Terry, L. A., Chope, G. A., Bordonaba, J. G. 2007. Effect of water deficit irrigation and inoculation with *Botrytis cinerea* on strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:10812-10819.
- Wang, Z., Cang, T., Wu, S., Wang, X., Qi, P., Wang, X., Zhao, X. 2018. Screening for suitable chemical acaricides against two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae*, on greenhouse strawberries in China. *Ecotoxicology Environmental Safety* 163:63-68.

- Xiao, C. K., Chandler, J. F., Price, J. R., Duval, J. C., Mertely, D. E. 2001. Comparison of epidemics of *Botrytis* fruit rot and powdery mildew of strawberry in large plastic tunnel and field production systems. *Plant Disease* 85:901-909.
- Xu, J., Yang, X., Lin, Q. 2014. Chemistry and biology of *Pestalotiopsis*-derived natural products. *Fungal Diversity* 66:37–68.
- Yuan, L., Osakabe, M. 2019. Dose response and temperature dependence of the mortality of spider mite and predatory mite eggs caused by daily nighttime ultraviolet-B irradiation. *Photochemistry and Photobiology*. <https://doi.org/10.1111/php.13204>
- Zhao, J. N., Ma, Z., Liu, Z. P., Shang, Q. X., Zhao, X. Y., Wei, Y. M. 2016. *Pestalotiopsis clavispora* causing leaf spot on strawberry. *Mycosystema* 35:114-120.
- Zveibil, A., Freeman, S. 2005. First report of crown and root rot in strawberry caused by *Macrophomina phaseolina* in Israel. *Plant Disease* 89:1014.
- Zveibil, A., Mor, N., Gnyem, N., Freeman, S. 2012. Survival, host–pathogen interaction, and management of *Macrophomina phaseolina* on strawberry in Israel. *Plant Disease* 96:265-272.

CAPÍTULO II: FUENTE DE INÓCULO PRIMARIO Y DISTRIBUCIÓN REGIONAL DE LA INTENSIDAD DE LA MARCHITEZ Y TIZÓN DE LA HOJA DE LA FRESA EN EL VALLE DE ZAMORA, MICHOACÁN

6. INTRODUCCIÓN

México es el tercer productor de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch) a nivel mundial, siendo reconocida como mejor zona de producción el Valle de Zamora en el estado de Michoacán, seguido de estados como Baja California y Guanajuato que en conjunto contribuyen con un 52.21% de la producción nacional (SIAP 2019). Mientras tanto Michoacán destina el 68.7% de su producción a la exportación hacia Estados Unidos y Canadá (FOASTAT 2017).

En años recientes, se ha implementado el establecimiento de viveros locales para producción de planta usados para abastecimiento de plantas a parcelas comerciales. Dichos viveros, tienen una extensión mínima de 0.5 ha y máximo de 4 ha, dependiendo del enfoque que tenga cada productor. Las plantas establecidas en viveros, son provistas por viveros de California, E.U.A., de esta manera se obtienen las plantas a establecer.

Las enfermedades causadas por hongos, específicamente marchitez o secadera, se han observado causando daños en viveros hasta parcelas comerciales, donde, la fuente de inóculo más las condiciones ambientales, influyen en la presencia de las enfermedades. Por lo tanto la definición de la fuente de inóculo, es una estrategia principal para la prevención de enfermedades en cualquier etapa del cultivo. Los síntomas observados al ataque de dichos hongos son marchitez de follaje reducción de altura de planta, secado y muerte de hojas, los tejidos vasculares y la corteza de la corona se tornan color oscuro, las raíces son oscuras. De los hongos reportados causando esta enfermedad son *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora cactorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Neopestalotiopsis* sp. (Ceja-Torres et al. 2008; Pastrana et al. 2014; Ayoubi y Soleimani 2015). Estos hongos pueden afectar de manera individual a

la raíz o corona de la fresa provocando pudriciones y por consecuencia pérdida de planta en parcela de vivero o comercial.

Recientemente, Rebollar-Alviter et al. (2020), reportó por primera vez a *N. rosae* como agente causal del tizón de las hojas, pudrición de raíz y corona en fresa en la zona de producción del Valle de Zamora, Michoacán, por esta razón se establecieron como objetivos a) Determinar la fuente de inóculo primario de hongos con énfasis en *Neopestalotiopsis rosae* causantes del tizón de hoja, pudrición de raíz y corona en el valle de Zamora, Michoacán y b) determinar la distribución regional del tizón de la hoja y pudrición de corona de la fresa en el valle de Zamora, Michoacán, nuestra hipótesis fue que algunos hongos y oomycetes, y en especial *N. rosae* proviene principalmente de plantas de viveros que a su vez se establecen a partir de planta madre proveniente de otros países.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Zona de estudio

El presente trabajo se llevó a cabo en los ciclos de producción 2019-2020 en la zona productora de fresa del Valle de Zamora, Michoacán, incluyendo los municipios de Zamora de Hidalgo, Tangancícuaro de Arista, Jacona y Chilchota. Asimismo, el muestreo de material vegetal sintomático se extendió a los municipios vecinos de Ixtlán de los Hervores y Angamacutiro, en los cuales, en general los viveros y los cultivos de fresa se desarrollan con nivel tecnológico de medio a bajo. A fin de localizar las posibles fuentes de inóculo, este estudio se dividió y se enfocó al muestreo de plantas sintomáticas en viveros de fresa de diferentes variedades. En una segunda parte se muestrearon plantas derivadas de estos viveros previo al establecimiento de 17 parcelas comerciales, y finalmente se realizó un muestreo regional en 50 parcelas comerciales a fin de determinar la distribución y posible área de concentración de la enfermedad donde se siembran las variedades Camino Real, Sayulita, Festival, Frontera, Albión y Osceolas, el procesamiento de las muestras e identificación morfológica

de hongos de corona y raíz causantes de la marchitez se realizaron en el laboratorio del Centro Regional Centro Occidente de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Morelia, Michoacán.

7.2 Muestreo de Viveros de fresa

Con base en la información regional de los 50 viveros establecidos y distribuidos en los municipios citados se seleccionaron 34 de ellos (68%), se definió un tamaño de muestra de manera proporcional como se indica en el cuadro 1. En general la superficie de los viveros varió de 200 m² a 1 ha y solo un caso, superó las 4 ha. El muestreo inició en la segunda semana de junio de 2019. En cada parcela seleccionada, se tomaron 3 plantas con síntomas de marchitez, achaparramiento o colapso (Fig. 1) en cada uno de los 5 puntos que se seleccionaron por parcela bajo un esquema de zig-zag. De cada punto de muestreo se tomó una submuestra de suelo para integrar una muestra compuesta por parcela, la cual se usó posteriormente para la estimación de la densidad de inóculo. En esta primera parte, de los 34 viveros muestreados en el laboratorio se procesaron 469 plantas con los procedimientos que se indican a continuación.

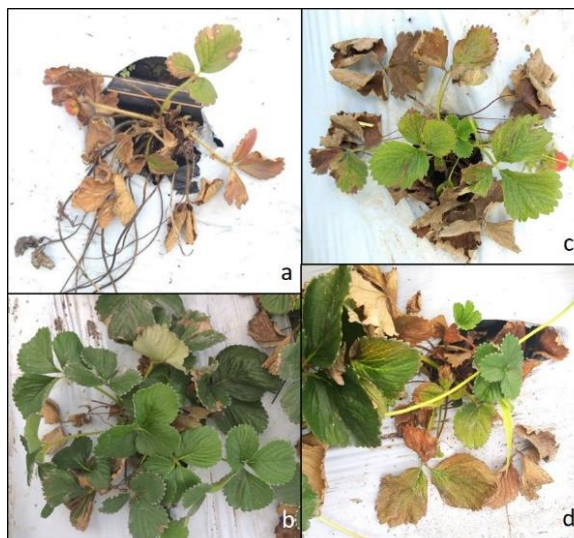


Figura 1. Síntomas de marchitez en plantas de fresa observados en campo a) planta con marchitez avanzada, b) planta marchitez inicial, c) y d) Planta con hojas externas secas.

Cuadro 1 Superficie de viveros en hectáreas (ha) muestreados por municipio

Municipio	Viveros muestreados	Superficie			Variedades
		<0.5	0.5-1	>1	
Angamacutiro	12	3	8	1	Camino real, San Andreas, Festival, Frontera, Petaluma
Ixtlán	11	5	5	1	Camino real, Albión, Sayulita, Cabrillo
Tangancícuaro	2	1	1		Cabrillo, Petaluma, Albión
Zamora	8	2	5	1	Camino real. Albion, Fortuna, San Andreas, Cabrillo
Chilchota	1			1	Camino real, Cabrillo, Sayulita, Albión

7.3 Muestreo de plantas de fresa en pre-trasplante

Con base en los resultados obtenidos y la identificación a nivel género de los hongos y oomycetes aislados de los muestreos de viveros, se seleccionaron 17 de ellos en los cuales se habían encontrado prioritariamente los siguientes géneros: *Neopestalotiopsis*, *Macrophomina* y *Fusarium*; además de oomycetos. En las parcelas comerciales previo a la plantación se realizó un segundo muestreo de plantas sintomáticas, provenientes de los viveros en los que se había detectado el problema fitosanitario, De este muestreo se procesaron 174 plantas en el laboratorio.

7.4 Muestreo de plantas en parcelas comerciales

En la primera semana de noviembre, se realizó el muestreo de plantas en parcelas comerciales establecidas. Se tomaron muestras de plantas con los síntomas indicados previamente en las mismas parcelas muestreadas en pre-trasplante relacionadas con los viveros seleccionados. El esquema de muestreo fue similar al mencionado anteriormente, pero además de obtener muestras de plantas enfermas, también se determinó la incidencia, severidad y mortalidad en cada punto de muestreo, a partir del cual se obtuvo la incidencia media por parcela. Adicionalmente, se estimó la severidad en hojas con base en la escala citada por Abd-El-Kareem et al. (2019), adaptada para el tizón de la hoja causado por *N. rosae*. Información adicional colectada de estas parcelas se indica en el cuadro 9 del anexo 3. El procesamiento de las muestras y la identificación morfológica y molecular se realizó como se indica a continuación.

7.5 Procesamiento de material vegetal

Las muestras provenientes de los diferentes sitios y condiciones se procesaron en el laboratorio de fitopatología del Centro Regional Centro Occidente (CRUCO) de la Universidad Autónoma Chapingo ubicado en Morelia, Michoacán. Se lavaron las raíces con agua de la llave para retirar el exceso de suelo, después se cortó la parte aérea dejando solo la corona y raíces. Posteriormente en condiciones asépticas en la campana de flujo laminar, con un escalpelo se abrieron las coronas de las plantas para observar los daños y caracterizar el tipo de síntoma interno, se retiró la capa superior de la corona con bisturí estéril y se tomaron porciones de tejido de aprox. 0.3 a 0.5 cm de la zona de daño, principalmente de la zona de avance del síntoma incluyendo tejido enfermo y sano. Las secciones se colocaron en cajas Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA) con la ayuda de una aguja de disección estéril. De las mismas plantas, se obtuvieron secciones de raíces (0.5 cm) de la zona de avance de síntomas de necrosamiento. Se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 2% por 1 minuto y posteriormente se lavaron 3 veces con agua

destilada estéril (ADE) y se dejaron secar sobre sanitas estériles en la campana de flujo laminar. Las secciones de raíz se colocaron en cajas Petri con medio PDA. Estas se incubaron por 5 días y posteriormente se purificaron en medio PDA para posteriormente realizar la identificación morfológica y en su caso obtener cultivos monoconidiales para su identificación molecular.

7.6 Densidad de inóculo en suelo

En los viveros muestreados en la primera etapa, se realizó un muestreo de suelo como se indicó previamente en la tercera semana de junio, así mismo previo al trasplante se tomaron muestras a 15 cm de profundidad de las parcelas comerciales previamente preparadas para el trasplante de las plantas de vivero, estas muestras se tomaron del lomo de los surcos. En este caso el muestreo se realizó en la tercera semana de agosto. Las submuestras se tomaron en 5 puntos en total y a partir de estas se obtuvo una muestra compuesta.

En el laboratorio, las muestras de suelo se secaron a temperatura ambiente, después de haberse triturado con un mortero, se homogeneizaron y se tamizaron con un tamiz con número de malla 40, 0.46 mm y un área de abertura del 36% de malla cielo. La cuantificación de unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (UFC g⁻¹) de *Fusarium*, se llevó a cabo por el método convencional de diluciones seriadas, tomando un gramo de suelo tamizado de la muestra compuesta el que se colocó en un tubo de prueba con 9 ml de ADE, se hicieron tres diluciones (10⁻³). De cada una de las diluciones se colocó un ml sobre el medio Komada (1 g Na₂B₄O₇·10H₂O, 1g K₂HPO₄, 0.5 g KCl, 0.5 g. MgSO₄ · 7H₂O, 0.01 g Fe-Na-EDTA, 20g D-Galactosa, 2g L-Asparagine, 15 g Agar, parte 2: 1 g PCNB, 0.5 g. Oxgall, 0.3 g Sulfato de estreptomicina en 1 L de ADE) selectivo para *Fusarium*, se distribuyó sobre el medio con una espátula de Drigalsky, las cajas Petri se incubaron a temperatura ambiente, después de 10 días se contabilizaron las colonias crecidas sobre el medio.

Para la cuantificación de colonias de oomycetes se hicieron las diluciones seriadas, colocándolas en medio PARPH (50 ml Jugo V8, 15 g Bacto Agar, 950 ml Agua destilada, 5 mg pimaricina, 250 mg ampicilina, 10 mg rifampicina, 50 mg himexazol y 50 mg PCNB) selectivo para oomycetes (Ferguson y Jeffers 1999).

7.7 Caracterización morfológica e identificación filogenética

Después de purificar los aislamientos, se realizó la caracterización morfológica a nivel de género con base en las claves de Barnett y Hunter (2009) y Leslie y Sumerell (2006) para el caso de *Fusarium*. Adicionalmente con base en la frecuencia de aislamiento de cada género en cada condición estudiada (vivero, pre-trasplante y comercial), se seleccionaron los aislamientos que se obtuvieron en cultivos monoconidiales para continuar con los estudios moleculares. En el caso del género *Macrophomia* y de los oomycetes se obtuvieron aislamientos a partir de punta de hifa.

Para la identificación filogenética, los cultivos monoconidiales de 4 días de crecidos se transfirieron a medio V8 (300 ml de Jugo V8, 1 gr de CaCO₃ y 20 g de agar). La extracción de DNA se realizó con el método CTAB 2% (Doy le y Doyle 1990) con ligeras modificaciones (Rivera-Jiménez et al., 2018). Una vez que se obtuvo la pastilla de ADN se hidrató con 50 µl de agua HPLC, se cuantificó y midió la calidad (A280/260 y A230/260) del ADN por espectrofotometría en un nanodrop 2000 Thermo Scientific. Se realizaron diluciones a 20 ng de ADN en un volumen final de 50 µl.

Para la amplificación de la secuencia parcial del gen *rpb2* se utilizaron los iniciadores 5f2 (5'-GGGGWGAYCAGAAGAAGGC-3') y 7cr (5'-CCCATRGCTTGYYTTRCCCAT-3') que amplifica un fragmento de 900 pares de bases (pb) (O'Donnell et al. 2013). La mezcla de reacción de PCR se preparó en un volumen final de 15 µL que contenía agua HPLC; 1x buffer, 0.2 µM de dNTPs,

10 pmol de cada iniciador, 0.9 U Go *Taq* DNA Polimerasa (Promega, USA) y 60 ng de DNA. Las condiciones de amplificación consistieron en una desnaturalización inicial a 94 °C por 90 s, seguidos por 35 ciclos a 94 °C por 45 s; 56 °C por 45 s y 72 °C por 90 s y un ciclo de extensión final a 72 °C por 5 min.

Para la amplificación de la secuencia parcial del gen *tef* se usaron los iniciadores Ef1 (ATGGGTAAGGARGACAACAC) y Ef2 (GGARGTACCAGTSATCAT) que amplifica una banda de aproximadamente 700 pb (O'Donnell y Cigelnik 1997), las condiciones de amplificación consistieron en una desnaturalización inicial de 94 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos de 95 °C 30 s, 59 °C 45 s, 72 °C 1 min y una extensión final a 72 °C por 7 min.

Para la amplificación de la secuencia parcial del gen β -tubulina se utilizaron los iniciadores Bt2b (5'-ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC-3') y T1 (5'-AACATGCGTGAGATTGTAAGT-3') que amplifica un fragmento de 790 pares de bases (pb) (Glass y Donaldson 1995; O'Donnell y Cigelnik 1997). La mezcla de reacción de PCR se preparó en un volumen final de 15 μ L que contenía agua HPLC; 1x buffer; 0.2 μ M de dNTPs; 10 pmol de cada iniciador; 0.9 U Go *Taq* DNA Polimerasa (Promega, USA) y 60 ng de DNA. Las condiciones de amplificación consistieron en una desnaturalización inicial a 95 °C por 1 min, seguido por 35 ciclos a 94 °C por 1 min; 50 °C por 1 min y 72 °C por 2 min y un ciclo de extensión final a 72 °C por 5 min.

Para la amplificación de la región ITS se usaron los ITS-5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') y ITS-4 (5'TCCTCCGCTTATTGATAT GC-3') que amplifica 600 pb (White et al. 1990). Para este caso el programa de amplificación consistió en 94 °C por 4 min de desnaturalización, 35 ciclos de 95 °C por 1 min, 58 °C por 1 min., 72 °C por 2 min., extensión final de 72 °C por 10 min.

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un Peltier Thermocycler C1000 Touch (Bio-Rad, USA) y los amplicones se verificaron por electroforesis en un gel de agarosa Seakem (Lonza, USA) al 1.5 % teñido con GelRed (Biotium, USA) y corrido a 80 Volts durante 1.5 h. Las bandas se visualizaron en un transiluminador (Vilber Lourmat, Germany) y se documentaron con el sistema Infinity (<http://www.vilber.de/en/products/gel-documentation/infinity/>). Los amplicones se limpiaron con el método enzimático ExoSAP-IT (Affymetrix, USA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La secuenciación se realizó en la compañía MacroGen Maryland, USA (<https://www.macrogenusa.com/>).

7.7.1 Reconstrucción filogenética mediante inferencia bayesiana

Las secuencias se ensamblaron con el programa bioinformático Bioedit (Hall, 1999) para obtener la secuencia consenso de cada cepa, las que se compararon con la base de datos del GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) con la opción Basic Local Alignment Search Tools Nucleotide (BLASTN) (Zhang 2000)

Para la reconstrucción filogenética, las secuencias consenso junto con las secuencias de referencia se compilaron en un archivo fasta y se alinearon con la opción Muscle (Edgar 2004) incluido en el programa MEGA 7 (Kumar et al. 2016) con los parámetros por defecto.

El árbol filogenético se construyó con el método de inferencia bayesiana con el programa Mr Bayes v.3.2 (Ronquist et al. 2012). Para el análisis se utilizó el modelo de sustitución nucleotídica 'Generalized Time Reversible' (GTR) que considera que las tasas de sustitución, transiciones y transversiones son diferentes; además, el modelo incorpora diferentes tasas para cada cambio y diferente frecuencia de nucleótidos. El muestreo de los árboles se realizó cada

1000 generaciones. El análisis concluyó cuando la desviación estándar fue menor a 0.01. Del total de árboles que se generaron se eliminó el 25% con la función 'burn-in phase'; la probabilidad posterior se determinó con el resto de árboles. La visualización del árbol se realizó con el programa FigTree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

7.8 Análisis regional de la pudrición de corona y del tizón de la hoja de la fresa

7.8.1 Muestreo

Para conocer la distribución regional de la enfermedad en el valle de Zamora Michoacán, primeramente se definieron las 3 áreas de mayor importancia por concentración de parcelas de producción de fresa usando para ello el programa Google Earth Pro. Las coordenadas de muestreo se tomaron con el mismo programa con una distribución homogénea de puntos y tomando los vértices de la cuadrícula como punto a muestrear. En campo, se muestreó la parcela que correspondió a dicha coordenada o en su caso, la más cerca a esta ubicación.

Se realizó un recorrido en la primera semana de noviembre de 2019 en el momento en que las parcelas ya se encontraban establecidas, se muestrearon un total de 50 parcelas distribuidas en los municipios de Jacona de Pancarte, Ixtlán de los hervores, Zamora de Hidalgo, Chilchita, Panindicuaro, Tangancícuaro de Arista, estas parcelas se seleccionaron con base a su distribución en el valle de cada municipio de manera satelital (Boulos 2005). En cada parcela se seleccionaron 5 puntos en zig-zag distribuidos en toda la parcela, independientemente de su superficie, en cada punto de muestreo se estimó la incidencia de la enfermedad (no. plantas con síntomas / total de plantas muestra). La severidad de la enfermedad en toda la planta se estimó con base en una escala diseñada *exprofeso* basada en el progreso de los síntomas observados en temporada anteriores (Anexo 2, Cuadro 8) donde 0= sana, 1= síntomas

iniciales, 2= hojas externas a la corona amarillentas, 3= cogollos de la planta con amarillamiento, 4= síntomas avanzados, 5= muerta. La mortalidad se evaluó considerando el número de plantas muertas de 50 plantas (Plantas muertas/el total en la muestra). Asimismo, en cada punto se seleccionaron al azar 5 plantas en 5 puntos de la parcela, a las cuales se les estimó la severidad en hojas con base en la escala de Abd-El-Karem y colaboradores (2019) donde 0= sin lesiones, 1= 20 % o menos, 2= 21 a 40 %, 3= 41 a 60 %, 4= 61 a 80 %, 5= 81 a 100 % adaptada para evaluar el tizón de la hoja causado por *N. rosae*. Durante el recorrido se tomaron muestras de plantas con síntomas de marchitez y/o muertas para confirmar la presencia de los hongos en hoja, corona y raíz.

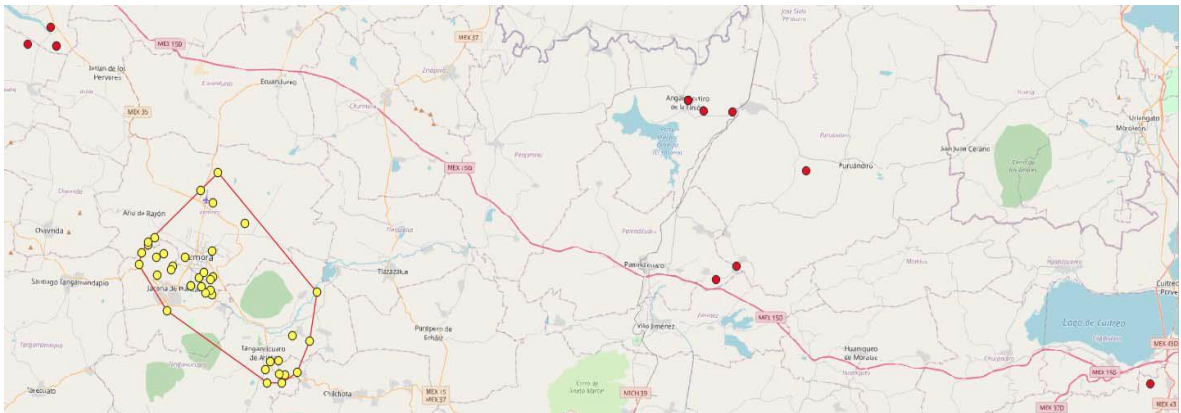


Figura 2. Puntos de muestreo de la marchitez de la fresa en zonas productoras del Valle de Zamora, Michoacán. Los puntos amarillos representan la zona del valle de Zamora.

Para complementar la información de posibles factores que pudieran influir en la enfermedad, adicionalmente se llevó a cabo una encuesta a los productores con la finalidad de ligar la mortalidad de planta y severidad de la enfermedad con fechas de siembra y otras actividades realizadas dentro de la parcela comercial. Las preguntas incluidas en dicha encuesta se incluyen en cuadro 7 del anexo 1. Además, con la finalidad de conocer la posible influencia de las larvas de *Duponchelia fovealis* y Fungus gnat sobre la intensidad de la marchitez, en cada punto de muestreo se revisaron las coronas y raíces de las plantas. Estas larvas

se alimentan en la base de las hojas, corona y raíz de las plantas incrementando el riesgo de infecciones por hongos y oomycetes por las heridas realizadas.

7.9 Procesamiento de información y análisis de datos

Con los datos de la identificación de los hongos obtenidos en la primera parte del estudio, se definieron distribuciones de frecuencias de los géneros de hongos considerados de mayor importancia. Asimismo, con base a las secuencias concatenadas de cada región se construyeron árboles filogenéticos incluyendo los aislados obtenidos de viveros, pre-trasplante y comercial, para establecer la identidad de los aislamientos en estudio. Se puso atención especial a los aislado del género *Neopestalotiopsis* sp. para contar con los suficientes elementos que permitan establecer la relación vivero: pre-trasplante: parcela comercial.

Por otro lado, con los datos colectados en la exploración regional incluyendo 50 parcelas, primeramente, se realizó una limpieza de los datos y posteriores análisis exploratorios de correlación, distribución análisis de regresión, etc. dependiendo del tipo de variable. Entre las preguntas a contestar estuvieron: ¿Existe una relación entre los días a cubierta con plástico y la intensidad de la enfermedad?, ¿Influye el origen de la planta en la enfermedad?, ¿Hay susceptibilidad diferencial en las variedades?, ¿Hay diferencias en la intensidad de la enfermedad en los diferentes municipios muestreados?, ¿Cómo se distribuyó la mortalidad de las plantas?, ¿Cuáles fueron las pérdidas potenciales?, entre otras preguntas.

Con los datos de severidad e incidencia y coordenadas de los sitios muestreados se construyó un mapa de la intensidad de la enfermedad de la zona de estudio. Para ello, primeramente se realizó un análisis geoespacial y se ajustó al modelo esférico de semivariograma, el cual se usó posteriormente para realizar

una interpolación mediante Krigging ordinario y se generó el mapa interpolativo correspondiente. El ajuste del semivariograma y la interpolación se realizó como lo indica Nayak (2018). Todos los análisis estadísticos y geoespaciales se realizaron en el programa R usando los paquetes correspondientes para cada procedimiento (Harrel 2001, Terry y Cox 2004; Johson y Wichern 2007), otros análisis se realizaron con SAS ver 9.4 y QGIS (Joanne-Peng 2008; Stoks et al. 2012). Las variables consideradas en esta parte del estudio se incluyen en el cuadro 9 del anexo 3.

Con datos obtenidos en la toma de datos de mortalidad y severidad más la encuesta realizadas a empresas y productores, se obtuvieron datos suficientes para la elaboración de un análisis de pérdidas económicas causado por la mortalidad de la planta (CCA 2019). Se hizo un promedio para cada uno de las presentaciones comerciales de la planta en los precios de cepellón y raíz desnuda. La densidad de plantación en el Valle de Zamora, Michoacán fue de 60, 000 plantas por hectárea.

8. RESULTADOS

8.1 Hongos y oomycetes asociados a pudrición de corona de la fresa y síntomas asociados

Los análisis realizados a las plantas con diferentes síntomas en viveros, pre-tranplante y parcelas comerciales, evidenciaron la presencia principalmente de los géneros *Fusarium* sp., *Neopestalotiopsis* sp., *Cylindrocarpon* sp., *Macrophomina* sp., *Alternaria* sp., y oomycetes. (Fig. 2). En viveros (n=34), en el 100% de las plantas obtenidas de los viveros muestreados se aisló a *Fusarium* sp., presente en raíz y corona. *Neopestalotiopsis* sp. se encontró en un 30% de los viveros muestreados, del total de aislamiento de *Neopestalotiopsis* el 39% se aislaron de raíces y 61% de corona y de manera consistente de síntomas en peciolos y hojas (Fig. 3).

En la etapa de pre-trasplante (n=17) se identificaron los mismos géneros aislados en vivero, a excepción de *Macrophomina* sp. (Cuadro 2). De las muestras procesadas, los aislamientos de *Neopestalotiopsis* aumentó a 88% en esta etapa, siendo los aislamientos de raíces las de mayor frecuencia (57%) y de corona tan solo el 19%, en esta etapa también se procesaron hojas con síntomas descritos por Rebollar-Alviter (2020), donde se pudo confirmar que *Neopestalotiopsis* estaba presente en hojas con dichos síntomas.

De las plantas procedentes de parcelas comerciales establecidas (n= 17), el porcentaje de presencia por parcela de *Fusarium* fue de un 88%, disminuyendo su frecuencia en comparación a etapas anteriores. En cambio *Neopestalotiopsis* aumentó su frecuencia a 94%, siendo su aislamiento de corona de 81% y de raíces del 75%. En cuanto a *Alternaria*, *Macrophomina* y oomycetes, no observaron en la última etapa muestreada (Cuadro 2).

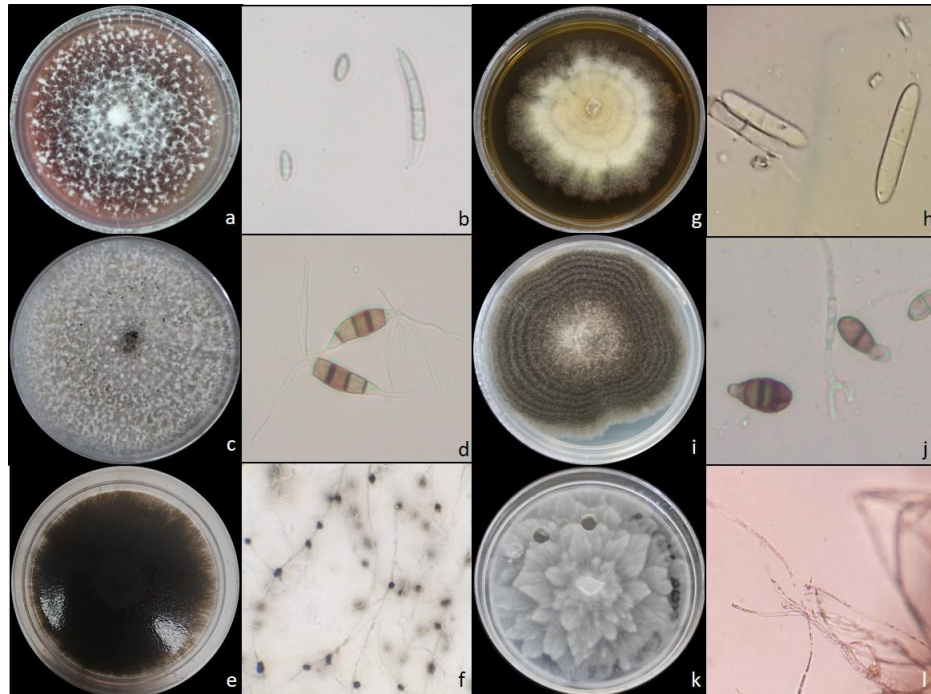


Figura 3. a) Crecimiento micelial de *Fusarium* sp. en medio papa dextrosa agar (PDA), b) morfología conidial, c) crecimiento micelial de *N. rosae* en medio PDA y d) conidios típicos del género, e) crecimiento de *Macrophomina* sp. en medio PDA y f) esclerocios formados en A.A., g) crecimiento de *Cylindrocarpon* sp. en medio PDA y h) conidios, i) cepa de *Alternaria alternata* en

medio PDA y j) conidios, k) crecimiento de oomycetes en medio PDA y l) hifa desarrollada en agua destilada estéril.

Cuadro 2 Frecuencia de hongos y oomycetes asociados a raíz y corona en vivero, pre-trasplante y parcelas comerciales.

Género	% de presencia		
	Vivero	Pre-trasplante	Parcela comercial ¹
<i>Fusarium sp.</i>	100	100	94
<i>Neopestalotiopsis sp.</i>	30	88	88
<i>Cylindrocarpon sp.</i>	18	58	23
<i>Alternaria sp.</i>	12	29	0
<i>Oomycetes</i>	26	6	0
<i>Macrophomina sp</i>	9	0	0

¹ todas las plantas analizadas en pre-trasplante y de las parcelas comerciales

En resumen, los síntomas observados en la corona en campo, de los cuales se aisló a *Fusarium* se manifestaron como una coloración marrón a marrón oscuro, con base en las diferentes plantas analizadas de donde se observó este síntoma, generalmente inició por la base de la corona, llegando a cubrir toda la planta. En muestras analizadas provenientes de parcelas comerciales, se observó que los daños en la corona de las plantas establecidas inician en la parte del corte del estolón en el vivero, lo que sugiere que *Fusarium* puede penetrar por estas heridas y progresar en campo bajo condiciones favorables. Es importante mencionar que *Macrophomina*, *Cylindrocarpon* y los oomycetes en ninguna de las muestras se observó causando daños de manera independiente, sino se encontraron en asociación con *Fusarium sp.* o *Neopestalotiopsis sp.* El daño de la asociación de *Fusarium* con *Cylindrocarpon*, se observa como un halo color amarillo claro alrededor del daño marrón-oscuro. En la asociación de *Fusarium* con *Macrophomina* el daño se observa más intenso, las coronas procesadas en etapa de vivero se observó un color de color café intenso a marrón oscuro, abarcando toda la corona o solo la mitad de ella. En cambio la asociación de *Fusarium* con oomycetes, la distribución del daño se observó tanto en la base de la corona como en la parte superior y márgenes de esta. Estos síntomas

fueron similares a los reportados por Koike 2008 en California quien indica la similitud de los síntomas en la corona con otro patógenos como *Macrophomina*. Para el caso de *Alternaria* sp., su aislamiento fue exclusivamente de la raíz cuyo síntoma se expresa con un color oscuro.

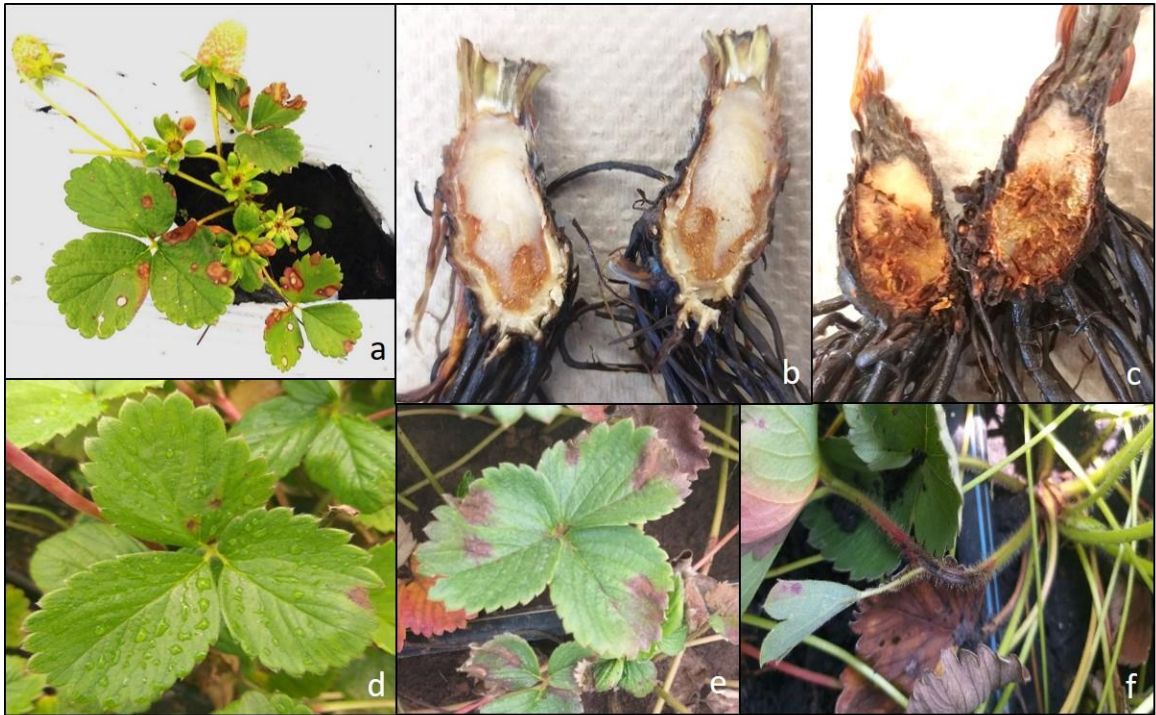


Figura 4. a) Síntomas de tizón asociados a *Neopestalotiopsis rosae*, b) y c) síntomas típicos en corona d), e) inicio y avance de tizón de la hoja y f) daño en peciolo causado por *N. rosae* en peciolo.

Los síntomas de *Neopestalotiopsis* en las hojas se presentaron como manchas redondas, a veces con círculos concéntricos que posteriormente derivaron en tizones que cubrieron gran parte de las hojas. En los peciolos, se manifestaron como manchas oscuras alargadas a veces hundidas que progresaron hasta la base de la corona. Este daño en peciolo derivó en el estrangulamiento del peciolo y secamiento completo de las hojas. En las coronas, el síntoma se manifestó con manchas irregulares de color café que podrían iniciar por el margen de la corona o en un punto en el centro, en el margen o en la base de la corona de ahí se observó el crecimiento del daño en la zona lateral de la corona hacia el centro hasta cubrir por completo la corona. Este hongo en general se aisló solo de los síntomas, pero ocasionalmente se asoció con

Fusarium y solo en raíces con *Cylindrocarpon*. Los síntomas foliares observados en vivero y campo fueron consistentes con los descritos en México por Rebollar-Alviter et al. (2020) y en otros países de Europa, India, Irán, Vietnam (Ayoubi y Soleimani 2015; Dung et al. 2016; Mahapatra et al. 2018) para las especies *N. rosae* y *N. clavispora*.

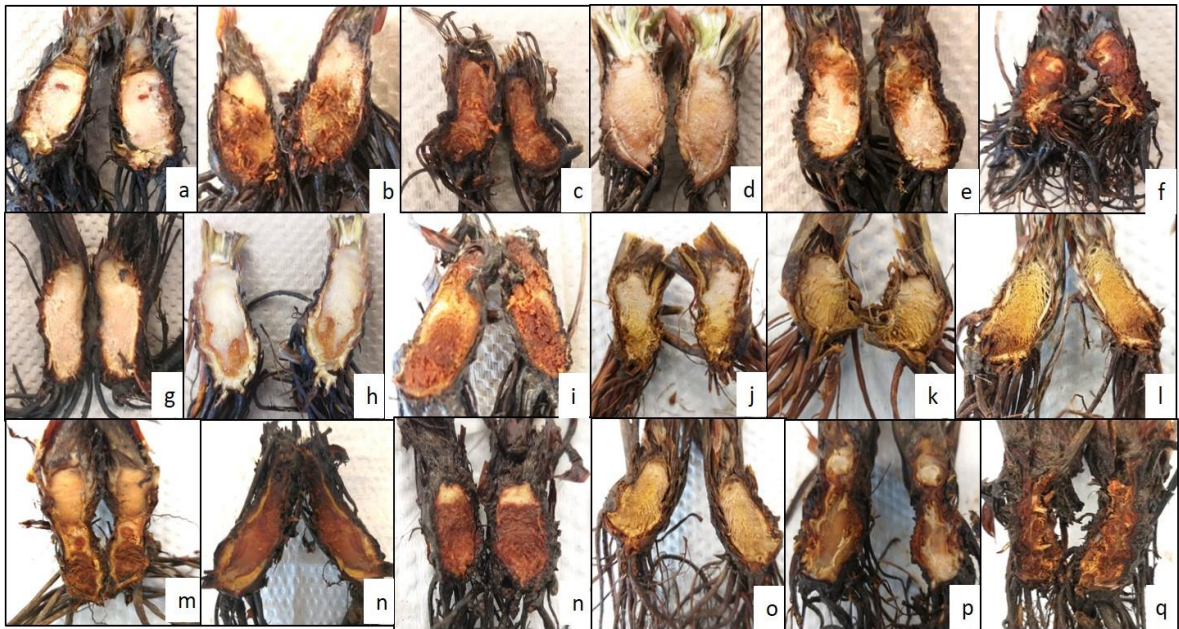


Figura 5. Variación de síntomas asociados a corona de fresa observados en las tres etapas (vivero, pre-transplante y parcela comercial) donde a, b y c) síntomas de *Neopestalotiopsis* sp., d, e y f) síntomas de ataque de *Fusarium* sp., g, h e i) síntomas de la asociación de *Fusarium* y *Neopestalotiopsis* sp., j, k y l) síntomas de *Fusarium* sp. con *Cylindrocarpon* sp., m, n y ñ) síntomas de la asociación de *Fusarium* sp. y *Macrophomina* sp. y o, p y q) síntomas de *Fusarium* sp. con oomicetes.

8.2 Filogenia del género *Neopestalotiopsis* y *Fusarium* sp. asociados en viveros y parcelas comerciales de fresa

En el cuadro 3, se indican las especies secuenciadas con las regiones parciales de los genes *rpb2*, *tef*, *β -tub* e ITS. Como se observa, en las tres condiciones (vivero, pre-trasplante y comercial) los aislamientos de *F. oxysporum* tuvieron una máxima identidad de 100% entre las 3 condiciones en que se tomaron las muestras (Fig. 6) lo que fortalece la hipótesis de que *F. oxysporum* se mueve en plantas de vivero hacia las parcelas comerciales. Estudios previos reportados por Pastrana et al. (2019) indicaron que *F. oxysporum* se puede mover

por medio de los estolones hacia las plantas hijas y una vez que el patógeno se encuentra en la planta hija coloniza tanto peciolos como raíces, aumentando de esta manera la posibilidad de que el inóculo en el suelo se incremente (Nam et al. 2011). Adicionalmente, se encontraron asociadas otras especies como *F. graminearum* y *Parastagonospora nodorum*, en muestras que provinieron de Zamora y Angamacutiro, tanto en planta como en suelo. Al respecto, no existen reportes de que estos patógenos ataquen plantas de fresa. Es probable que esto resultados se asocien con el historial de la parcela al cultivo de maíz, sorgo y trigo.

Por otro lado, para el caso del género *Neopestalotiopsis* sp., los estudios moleculares y filogenéticos evidenciaron la presencia de *N. rosae* en las 3 condiciones de muestreo. Las secuencias de los aislamientos fueron 100% idénticas, indicando que es la misma especie tanto en vivero como en parcelas comerciales (Fig. 6), la que se confirmó con los aislamientos obtenidos de plantas en pre-trasplante. Adicionalmente, otras especies de *Neopestalotiopsis* sp. fueron encontradas, una de ella correspondiente a *Neopestalotiopsis (Pestalotiopsis) paeoniicola*, no reportada en México previamente. Esta especie ha sido reportada en Norteamérica en plantas ornamentales de *Paeonia (Paeonia suffruticosa)* originaria de China (Marra y Li 2009).

Cuadro 3. Especie de hongos asociados y etapas en los que se aisló

Especie	Etapas
<i>Fusarium oxysporum</i>	Vivero, pre-transplante parcela comercial y suelo
<i>Fusarium graminearum</i>	Vivero, pre-transplante parcela comercial y suelo
<i>Parastagonospora nodorum</i>	Vivero, pre-transplante, parcela comercial y suelo
<i>Neopestalotiopsis rosae</i>	Vivero, pre-transplante y parcela comercial
<i>Pestalotiopsis paeoniicola</i>	Vivero, pre-transplante y parcela comercial
<i>Alternaria alternata</i>	Vivero

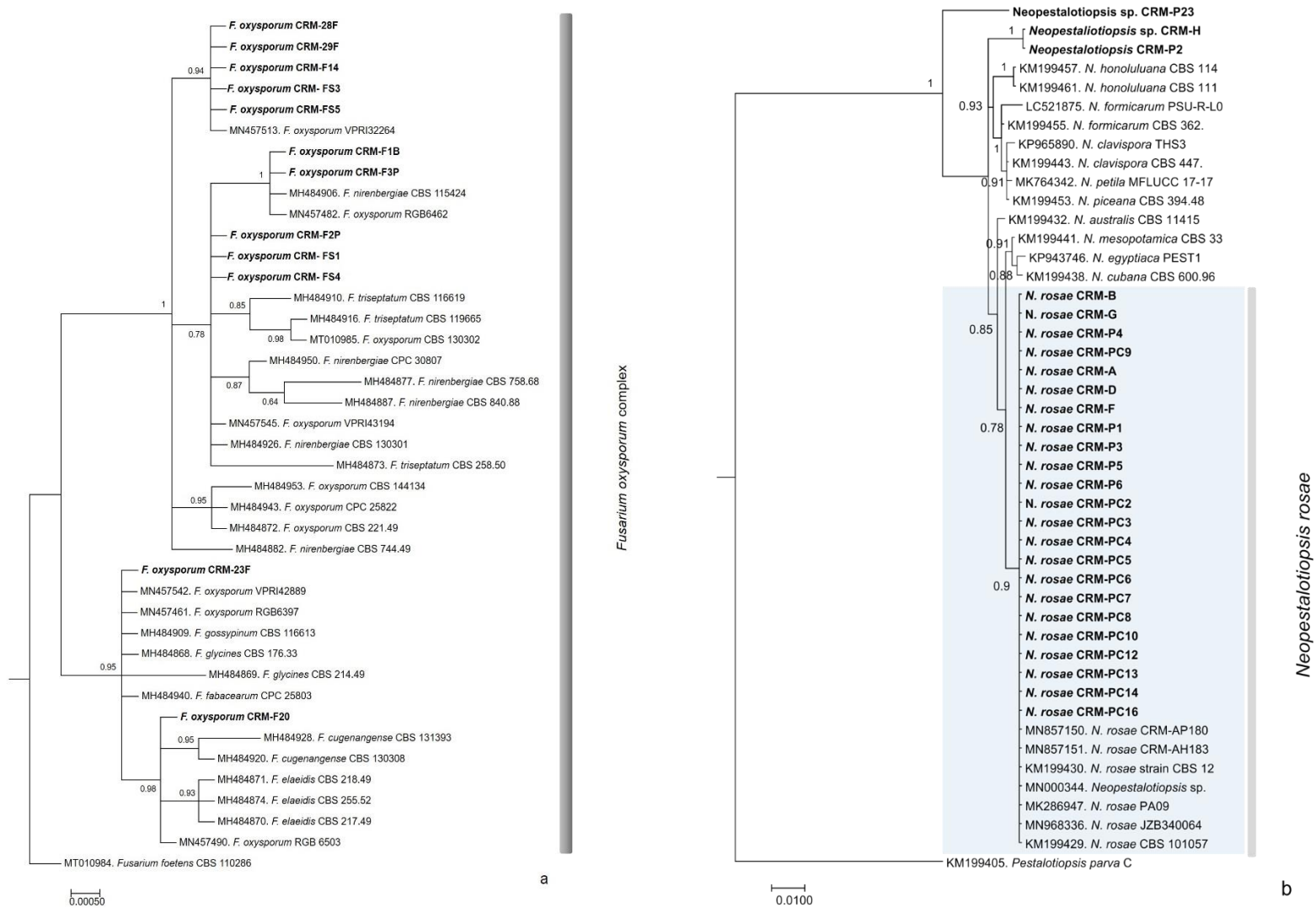


Figura 6. Árboles filogenéticos generados mediante inferencia bayesiana a) *Fusarium* sp. construido con secuencias parciales del gen *rpb2* y b) *Neopestalotiopsis* sp. construido con secuencias parciales del gen β -*tubulina*.

Los análisis de la concentración de inóculo en suelos provenientes de 34 viveros y 17 parcelas comerciales, en medio selectivo (Komada) para *Fusarium*, los datos indicaron que en los viveros, la distribución de las unidades formadoras de colonias varió entre 500 y 79,000 UFC con una mediana de 6,500, mientras que en el suelo de parcelas comerciales, previo a la plantación de estas plantas, la densidad de inóculo varió entre 250 y 112,500 y una mediana de 30,250 UFC g⁻¹ de suelo. Indicando que en general en las parcelas comerciales el nivel de inóculo fue mayor. Al respecto se debe mencionar que con excepción de una parcela en el resto de ellas, los productores no realizaron fumigación en ninguna de las dos condiciones. De acuerdo con Camacho et al. (2009), este nivel de inóculo de *Fusarium* sp. (*F. oxysporum*), puede considerarse de media a alto. Como se describió arriba, en 100% de las muestras analizadas se registró la presencia de *F. oxysporum* como asociada a la marchitez de la fresa. Por ejemplo, las parcelas con etiqueta A4, I24, I14 y Z34, correspondiente a los municipios Angamacutiro, Ixtlán de los Hervores y Zamora respectivamente, con base en la encuesta que se realizó no se llevó a cabo fumigación alguna del suelo antes de plantación y son las parcelas con mayor número de unidades formadoras de colonias de *Fusarium* por gramo de suelo. Por el contrario en la parcela con etiqueta T28, del municipio de Tangancícuaro el productor usó Busan^{MR} (TCMTB) lo cual se ve reflejado en una densidad de inóculo menor.

En general en las parcelas pre-trasplante se observó el crecimiento de colonias de *Fusarium* en todas las muestras procesadas, pero no en el mismo nivel, siendo las muestras del municipio de Angamacutiro las que tuvieron la mayor densidad de inóculo de *F. oxysporum*. Con base a la encuesta realizada durante el muestreo el 95% no realizaron fumigación del suelo antes de la plantación. Al existir inóculo de *Fusarium* en el suelo es probable que este infestara la planta al momento en que es trasplantada en la parcela en parte favorecida por el estrés al que se somete la planta. De acuerdo con Gordon y Koike (2014) las densidades de inóculo de *F. oxysporum* superiores a 10⁴ UFC, representan un riesgo para plantaciones nuevas, aunque también influye

la patogenicidad del inóculo y la susceptibilidad de la variedad establecida. Ceja-Torres et al. (2007) encontró que *F oxysporum* es el hongo más frecuente aislado de plantas con síntomas de marchitez en parcelas comerciales en México, sin embargo no se realizó muestreos en plantas de viveros. En este estudio los datos exploratorios indican que en ambas condiciones este patógeno es altamente prevalente.

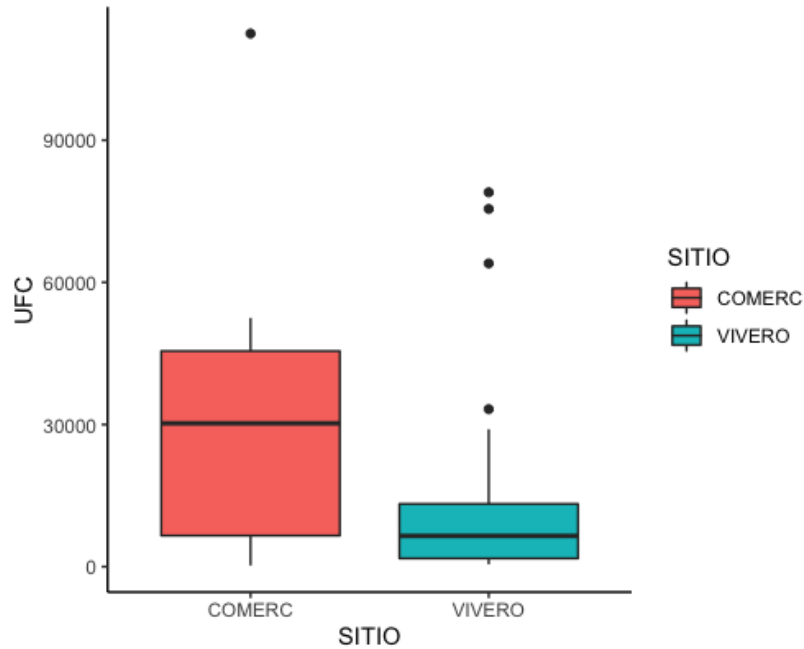


Figura 7. Distribución de la densidad de inóculo (UFC g-1) de *Fusarium* sp. en suelo de viveros y parcela comercial previo al transplante. Vivero= 33 y Comercial, n= 18 parcelas muestreados en los municipios de Angamacutiro, Ixtlán de los Hervores, Tangancicuaro y Chilchota en 2019.

8.3 Mapeo regional de la marchitez y pudrición de corona

Para conocer la distribución espacial de la marchitez de la fresa asociada a *N. rosae*, se realizó una interpolación kriging ordinario de los datos puntuales del muestreo ajustando los parámetros a los de un semivariograma de modelo esférico de acuerdo a la tendencia de los datos.

Los resultados, mostrados en la Figura 8, revelan una mayor mortalidad, severidad de la marchitez a nivel planta e hija en la zona centro-norte del área

de estudio. Por su parte, tanto la severidad de la marchitez a nivel de planta y hoja revelan una segunda área afectada en parcelas muestreadas a los alrededores del municipio de Jacona, en el área centro-occidental de la zona de estudio. Coincidentemente, la plántula de los campos en los que resultó la mayor intensidad de la enfermedad procede de viveros de la zona que abastece la plántula a raíz desnuda.

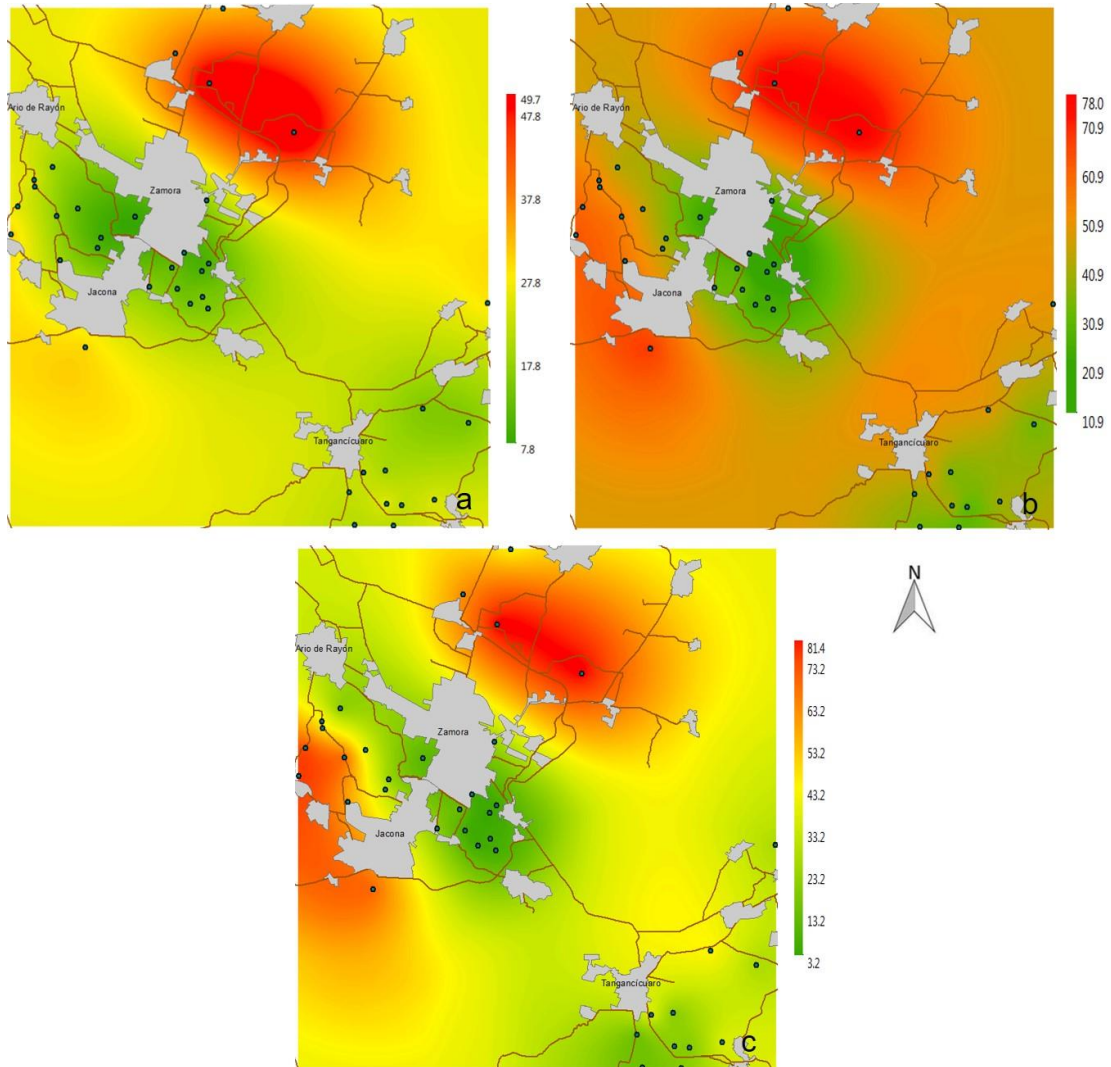


Figura 8. Mapas de interpolación de la intensidad de la marchitez y tizón de la hoja de la fresa en el Valle de Zamora Michoacán a) Mortalidad de plantas, b) severidad de la enfermedad en plantas. c) severidad del tizón de la hoja causado por *Neopestalotiopsis rosae* en el Valle de Zamora, Michoacán.

8.4 Intensidad de la marchitez y mancha foliar de la fresa

El análisis regional de la marchitez de la fresa indicó que la mortalidad de plantas asociadas con síntomas de raíz y corona relacionados con el complejo de patógenos indicados previamente, varió de 0 hasta el 80%, con una mediana de 10.6%. (Fig. 9). Al realizar la comparación por municipios en el valle de Zamora, la mortalidad varió de 0 a un 40% en Jacona, con una mediana de 7%. La mediana de mortalidad en el valle de Zamora y Tangancícuaro fue similar, variando de 0 al 40% y una mediana de 7% y del 0 al 67% con mediana de 5.6% en Jacona y Tangancícuaro, respectivamente. En los municipios de Ixtlán, Angamacutiro, Chilchota, Puruándiro y Panindícuaro, se obtuvieron porcentajes de mortalidad que variaron entre un 20 al 50%, pero el número de muestras fue pequeño como para detectar tendencias.

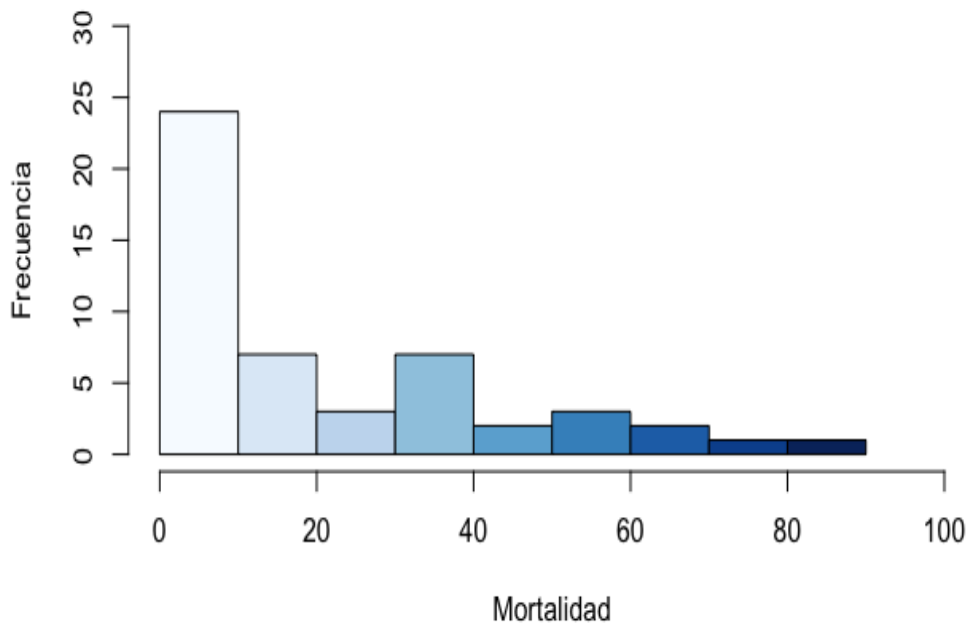


Figura 9. Distribución de la mortalidad de plantas (%) de fresa sin considerar el origen. (N=50) parcelas muestreadas distribuidas de manera proporcional en los municipios de Tangancícuaro, Zamora, Jacona, Ixtlán, Panindícuaro, Puruándiro, Angamacutiro, Chilchota en noviembre 2019.

El análisis de correlación múltiple evidenció además una correlación positiva y significativa entre las variables severidad en hoja, severidad en planta con la mortalidad en especial en la severidad en hoja, la cual se enfocó a evaluar la intensidad de daños foliares asociados a *N. rosae*- Se evidenció que dicha enfermedad se relacionó con la severidad de la marchitez y mortalidad (que puede estar asociada a un complejo de hongos), sugiriendo que la muerte de las plantas de fresa estuvo asociada a *N. rosae*. Lo anterior se soporta también con la frecuencia de aislamiento de este patógeno y *F. oxysporum* en los análisis morfológicos y filogenéticos realizados. De hecho el ajuste de la línea de regresión indicó una relación positiva entre severidad de hojas y la mortalidad (en Logits) sugiriendo que es posible predecir la mortalidad de plantas a partir de la medición de la severidad en hojas por *N. rosae*. La ecuación de regresión resultante fue:

$y^* = -3.51 + 4.32X$, donde, y^* representa la mortalidad en Logits ($\ln(y/1-y)$), y X , la severidad en hoja (en proporción).

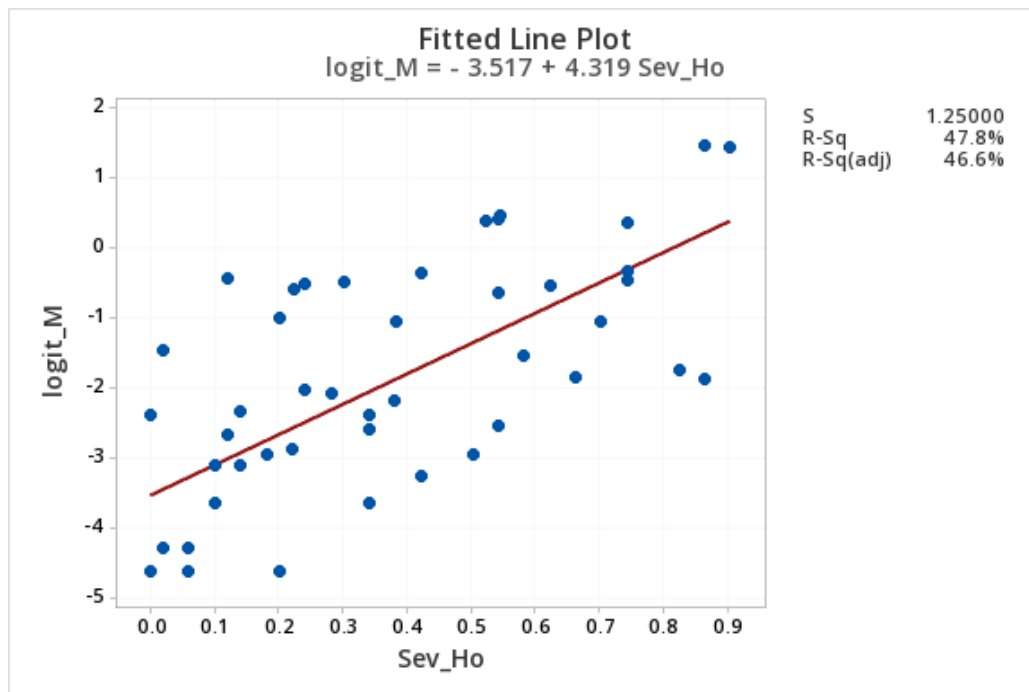


Figura 10. Ajuste de la ecuación de regresión entre Severidad en hoja (Sev-Ho) y la mortalidad (en Logits). n=50 parcelas de fresa.

Por otro lado, una de las preguntas a contestar en este estudio es si el origen de la planta influye en la mortalidad, es decir, si había una asociación entre la mortalidad de plantas y el origen de estas. Como se indica en la figura 11, los datos confirmaron, una asociación entre estas variables. En general, los datos indicaron que las plantas de fresa con mayor mortalidad, independientemente de la variedad y el municipio, fueron las que se plantaron a raíz desnuda y que provinieron de viveros establecidos en suelo en la región o de otros estados (Jalisco, Puebla y Guanajuato). La misma tendencia se observó en la severidad en planta y severidad en hoja. Esta información se sustenta con los análisis morfológicos y filogenéticos de los hongos aislados de viveros de plantas en desarrollo, pre-trasplante y del muestreo de parcelas comerciales establecidas a partir de estos viveros.

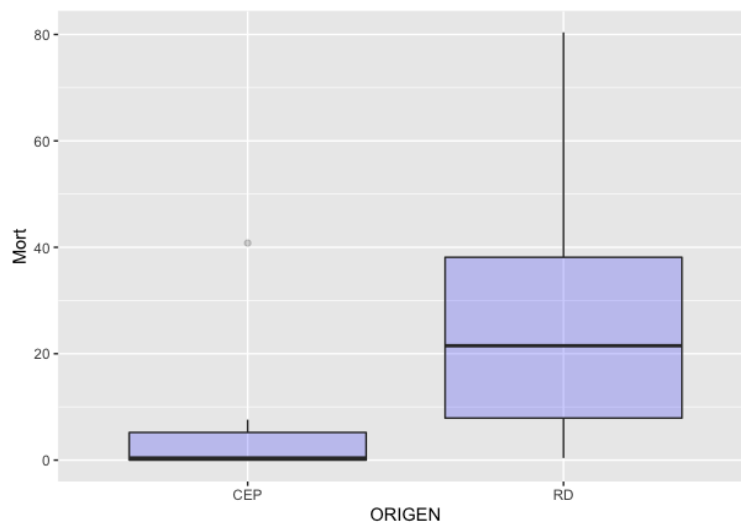


Figura 11. Distribución de la mortalidad de plantas de fresa según su tecnología de producción. CEP= Cepellón, RD=Raíz desnuda.

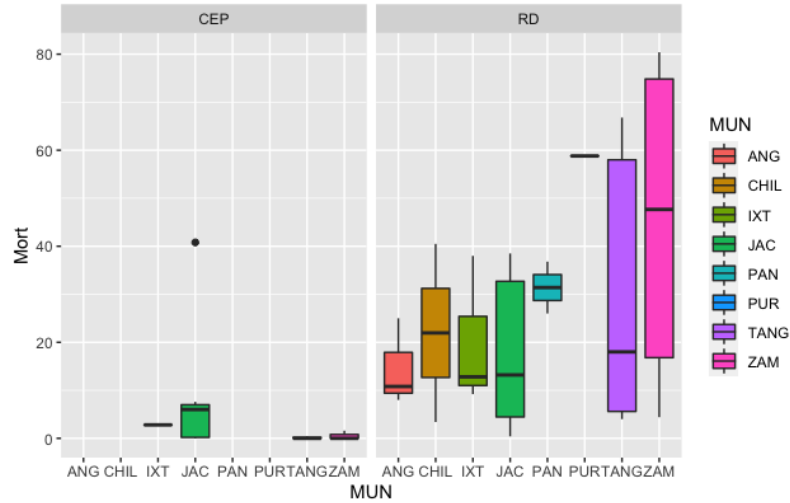


Figura 12. Distribución de la mortalidad por origen de la planta de fresa, independientemente del municipio. ANG= Angamacutiro, CHIL= Chilchota, IXT=Ixtlán de los Hervores, JAC= Jacona de Pancarte, PAN= Panindicuaro, PUR= Puruandiro, TANG= Tangancicuaro, ZAM= Zamora. CEP= Cepellón y RD=Raíz desnuda.

Asimismo, una de las preguntas importantes, fue si existe una tendencia hacia la susceptibilidad de las variedades hacia una mayor mortalidad o severidad en hojas. Al respecto, en la figura 12, se observa que las variedades Festival, Albión y Frontera tuvieron tendencia hacia mayor susceptibilidad a la enfermedad, tomando en cuenta la variable mortalidad.

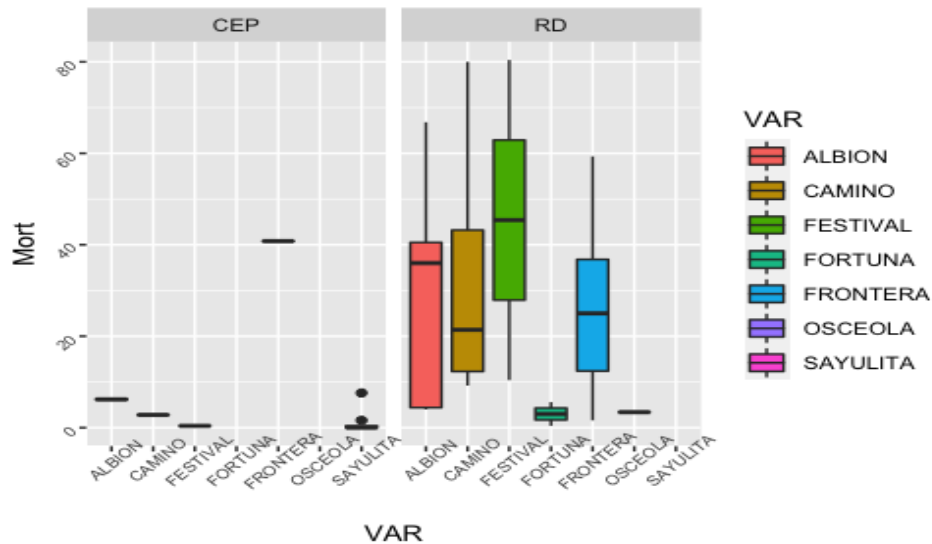


Figura 13. Distribución de la mortalidad de plantas por variedad de fresa. n= 50 parcelas por municipio y origen de la planta.

Aunque los datos no mostraron una correlación significativa entre los días a la colocación del túnel, los valores de mortalidad tendieron a concentrarse entre los 15 a los 35 días después del trasplante (Fig. 15). Es probable que otras variables, tales como el salpique por lluvia, estén asociado con la mortalidad de las plantas y la severidad en hojas. Como se indicó arriba, tanto *F. oxysporum* como *N. rosae* se detectaron en las raíces y corona, tanto en vivero, pre-trasplante y parcelas comerciales. El hecho de que las plantas se infectaran en vivero, en especial en las que se plantaron a raíz desnuda, en una condición favorable y parcelas no fumigadas, pudo ser un factor que influyó en la intensidad de la enfermedad.

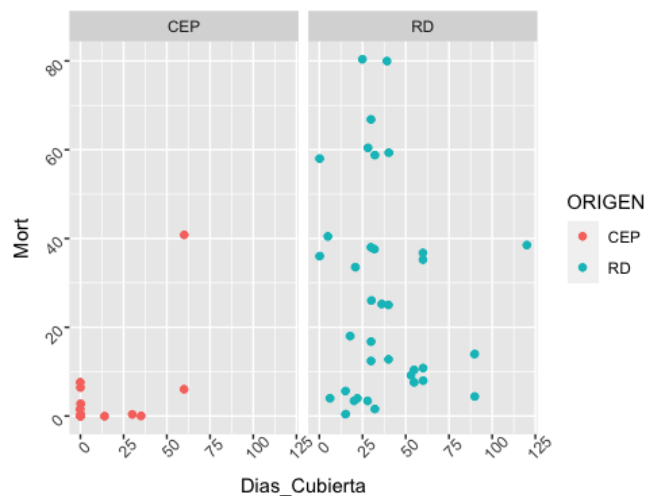


Figura 14 Relación de días a la colocación del plástico y la mortalidad de las plantas

La figura 15 muestran las tendencias de la mortalidad de las plantas en relación si el productor realizó o no la fumigación en plantas que vienen de cepellón o de raíz desnuda y la realización de tratamientos pre- y post-trasplante. En ambos casos se puede ver que la mortalidad fue mayor en las plantas que vienen de raíz desnuda, aun cuando el productor haya fumigado o no su parcela, o si hizo o no tratamiento pre y post-trasplante con fungicidas u otro método. El hecho de que las plantas ya vinieran infectadas desde el vivero, como se evidenció en la primera parte de este estudio, cualquier práctica dirigida al manejo y prevención del desarrollo de la enfermedad fue

insuficiente para reducir la mortalidad y su intensidad en etapa de vivero, al no existir en el mercado tecnología con efecto “curativo” de la enfermedad. En contraste, las plantas que provenían de plántulas de cepellón tuvieron menos mortalidad por la enfermedad.

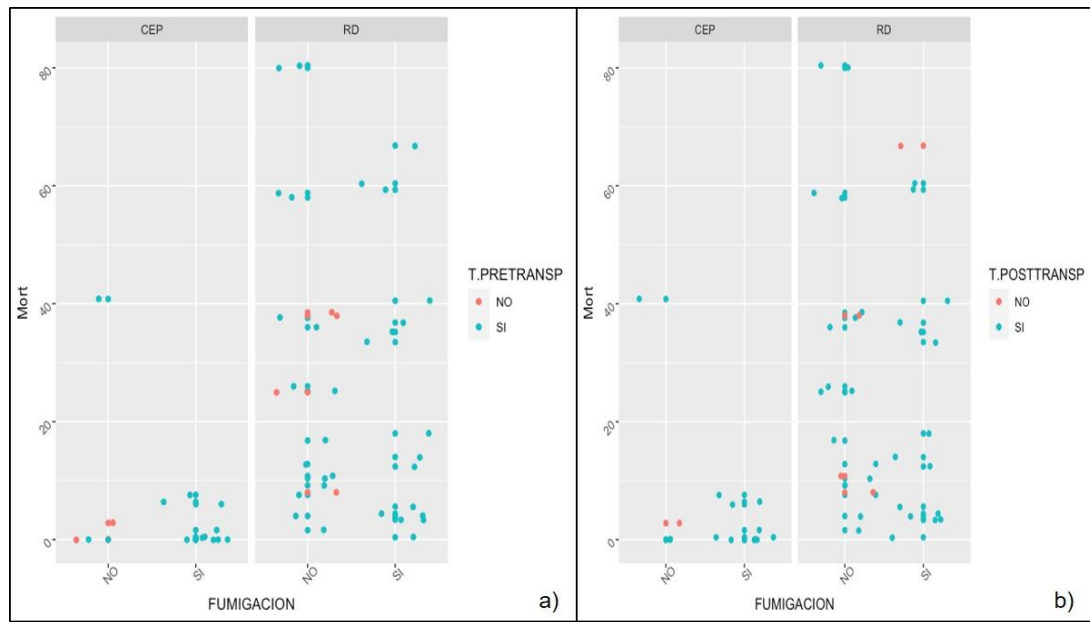


Figura 15. Mortalidad de planta según su tecnología de producción y las realización o no de tratamiento pre y post trasplante donde a) Fumigación y tratamiento pre-trasplante por origen de la planta de fresa y b) Fumigación, aplicación post-trasplante por origen de la planta. puntos rojos= no hubo tratamiento, azul= se realizó tratamiento

También resultó interesante notar la relación que existe entre la realización de prácticas como la fumigación, aplicación de tratamientos pre- y post trasplante en la enfermedad en parcelas comerciales. Como se evidenciaron en los estudios moleculares, las plantas de vivero que se trasplantaron a raíz desnuda ya estaban infectadas con patógenos como *N. rosae* y *F. oxysporum*, lo que sugiere que independientemente de los tratamientos aplicados, cuando las plantas ya están infectadas, las herramientas preventivas o curativas aplicadas en tratamientos pre-trasplante y posterior al trasplante, sea fumigación química o mediante tratamientos como solarización o bio-fumigación, no serán capaces de controlar la enfermedad.

8.5 Análisis de pérdidas económica

Con los datos obtenidos en el muestreo de campo para evaluar la mortalidad, combinados con los de la encuesta a productores y empresas proveedoras de plántula sobre costo de planta en sus diferentes tecnologías de producción (raíz desnuda/cepellón), se hizo un análisis de pérdidas económicas, tomando en cuenta solo el gasto por la adquisición de planta. La densidad de plantación considerada para el análisis económico fue de 60,000 plantas ha⁻¹. En el cuadro 4 se observa que se tiene un gasto económico mayor cuando la planta adquirida para el replante es de cepellón, esta planta su costo es mayor debido a la tecnología de producción utilizada, según los datos colectados en encuestas a productores y los análisis estadísticos realizados, se tiene mayor mortalidad en plantas de raíz desnuda, dicha plantas son sustituidas mayormente por plantas de cepellón, aumentando de esta manera el costo de producción.

Cuadro 4. Análisis de pérdidas económica por pérdida de planta de fresa asociada a la pudrición de raíz y corona causada por la asociación de hongos.

	% MORTALIDAD	Planta	PÉRDIDA Económica	
			Raíz desnuda \$2.50	Cepellón \$ 4.20
Mínimo	3	1820	\$4,550.00	\$7,644.00
Máximo	100	60000	\$150,000.00	\$252,000.00
Mediana	12.4	14300	\$35,750.00	\$60,060.00
Promedio	19.44	12636	\$31,590.00	\$53,071.20

9. DISCUSIÓN

La fresa se ha cultivado durante años en el Valle de Zamora, Michoacán, conocida como una de las mejores zonas para la producción de berries en general. En la zona productora se ha reportado la presencia de hongos causantes de la marchitez, encontrándose a *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora cactorum* como más comunes. Sin embargo alrededor del

mundo se han reportado también a patógenos como *Macrophomina phaseolina* (Hutton et al. 2013; Koike et al. 2013), *Cylindrocarpon destructans*, *Alternaria alternata* (Fang et al. 2011) y recientemente a *Neopestalotiopsis clavispora* (Chamorro et al. 2015), *N. iranensis*, *N. mesopotamica* (Ayoubi y Soleimani 2016) y *Pestalotiopsis longisetula*, este último afectando frutos (Mahapatra et al. 2018)

Los resultados obtenidos en la presente investigación sugieren que el complejo de hongos causantes de la pudrición de corona y raíz en el cultivo de fresa se encuentra asociados principalmente en plantas de vivero, pre-trasplante y parcelas comerciales establecidas. Para el caso de plantas de vivero estos hongos patógenos prevalecen en la planta hija, mismas que son establecidas en parcelas comerciales. Nuestros resultados muestran que la mayoría de los hongos se encontraron en asociación, estudios previos indican que *N. clavispora* (Chamorro et al. 2016; Gilardi et al. 2019), *F. oxysporum* (Koike et al. 2013; Paynter et al. 2014; Pastrana et al. 2019), *P. cactorum* (Moralejo et al. 2008; Pastrana et al. 2017) y *M. phaseolina* (Avilés et al. 2007; Bains et al. 2011) pueden causar daño en corona y raíz sin estas asociados a otro hongo u oomycete.

Fusarium oxysporum desde 2010 fue reportado en México como causante de marchitez en fresa (Dávalos et al. 2014; Mariscal et al. 2017). Pastrana et al. (2019) y Nam (2011) encontraron que este hongo es transmitido por medio de los estolones a plantas hijas, lo cual comprueba que una fuente de inóculo de *F. oxysporum* es el material vegetal establecido en cualquier de las etapas, en nuestro caso vivero, pre-trasplante y parcelas comerciales. De acuerdo con Pastrana (2019) los estolones son una fuente probable de dispersión de este patógeno entre países a través de material vegetativo con ausencia de síntomas.

Nuestros estudios indicaron que este hongo se encuentra presente en suelos agrícolas destinados a vivero y suelos de parcelas comerciales. El hongo aprovecha el estrés de las plantas y la herida del corte del estolón para

su entrada a la corona y causar daño. Ceja-Torres et al. (2014) reportó que una cantidad de 150 a 300 UFC gr⁻¹ de *F. oxysporum* constituye suficiente inóculo potencial para el inicio de la enfermedad en un nuevo ciclo de producción.

El patógeno *Neopestalotiopsis* permaneció en todas las etapas de producción. Este hongo se ha reportado causando daños en corona, hojas y fruto de fresa en parcelas comerciales (Ara et al. 2007; Dung et al. 2016; Gilardi et al. 2019; Machin et al. 2019; Morales et al. 2019; Rebollar-Alviter et al. 2020), sin embargo, no se había reportado en viveros. Nuestros resultados muestran una variación en las especies encontradas en vivero y en parcelas comerciales establecidas, lo cual sugiere que algunas son las que se pueden transmitir por medido de planta o sobrevive en plantas infectadas de cosechas anteriores. Esto se corroboró en el muestreo de plantas pre-trasplante donde los resultados evidenciaron que *Neopestalotiopsis rosae* proviene de plantas infectadas en vivero y de ahí se dispersa a plantaciones comerciales, como lo evidencia la identidad genética de los aislados de vivero con los de plantaciones comerciales, sin embargo, no se tiene claro si dicho patógeno es local o provenía en plantas madre procedentes de otros países establecidas en viveros locales, pues los primeros reportes de *Neopestalotiopsis* sp., en el cultivo de fresa se han reportado en plantaciones comerciales de otros países productores (Dung et al. 2016; Chamorro et al. 2013, Tanziman et al. 2017).

Macrophomina phaseolina es un hongo de suelo, se encuentra dentro de los más comunes en suelos agrícolas y se ha comprobado su permanencia en el mismo durante años (Pastrana et al. 2017, Baggio et al. 2019). En esta investigación no se identificó a este patógeno en muestras de suelo de parcelas previo al trasplante y en viveros se obtuvo una baja proporción. Por otro lado, el aislamiento de *Cylindrocarpon* y *A. alternata* se encontró en vivero y plantas pre-trasplante en parcelas comerciales. *Cylindrocarpon* se aisló de raíz y corona en plantas de vivero, sin embargo en plantas pre-trasplante su aislamiento fue más frecuente de raíces (94%). En cambio, *A. alternata* su

aislamiento al ser exclusivo en raíces su porcentaje de presencia en las plantas pre-trasplante disminuyó de manera significativa, además en parcelas comerciales al no tener aislamientos de este hongo, se puede sugerir que el tratamiento pre-trasplante que se hace a la planta y suelo son efectivos para disminuir la incidencia de dicho patógeno.

Ceja-Torres et al. (2014) realizó una regionalización de la marchitez seca de fresa en el Valle de Zamora, Michoacán, tomando diferentes variables para determinar su influencia en la incidencia de dicha enfermedad, concluyendo que la incidencia está influenciada por el sistema de riego, variedad establecida, etapa fenológica, condiciones del suelo principalmente el contenido de materia orgánica y el número de UFC de *F. oxysporum*. Esto refuerza nuestros resultados del análisis regional realizado, demostrando que no solo la variedad es una determinante de la incidencia de la enfermedad. En este estudio se evaluaron diferentes variables, demostrando que el origen de la planta (cepellón o raíz desnuda) es el factor más influyente en el porcentaje de mortalidad independientemente del lugar donde provienen dichas plantas. Las variedades Festival, Albión y Frontera resultaron las más susceptibles a la marchitez causada por el complejo de hongos. Los días a colocación de cubierta, tiene influencia cuando es colocada después de los 15 o mas días después de la plantación. El tratamiento pre- y pos-trasplante a la planta y/o suelo no es capaz de controlar la enfermedad, cuando la planta ya está infectada. Además, al incluir a *N. rosae* como un patógeno presente en la región productora estudiada (reportada previamente por Rebollar y colaboradores 2020) y como parte de un complejo de hongos asociados a la pudrición de raíz y corona, causante del tizón de la hoja y daño en peciolo, hace que el estudio sea más completo.

La marchitez es una de las principales enfermedades en cultivos de fresa que causa grandes pérdidas económicos, a pesar de que el sistema de producción busca reducir la incidencia de la enfermedad con el uso de cubierta, si las plantas establecidas no se encuentran libres de patógenos la

epidemia iniciará en algún momento. Los países productores que establecen viveros de altura para producción de planta madre deben procurar que el material vegetal utilizado esté libre de hongos, evitando de esta manera la movilización de dichos patógenos a países sin estos problemas.

10. CONCLUSIONES

La fuente de inóculo primario de los principales hongos causantes de la marchitez asociados a corona y raíz en fresa en el Valle de Zamora, Michoacán fueron las plantas de vivero, cuyos establecimientos se encuentran en la zona y en otros estados como Puebla, Guanajuato y Jalisco. Las plantas infectadas en vivero son establecidas en parcelas comerciales donde hay mortalidad de plantas y reducción de la producción.

Fusarium oxysporum y *Neopestalotiopsis rosae* son hongos que prevalecen desde plantas de vivero hasta plantas establecidas en parcelas comerciales, lo que sugiere su origen de plantas de vivero, que sumado a la presencia de *F. oxysporum* en el suelo de parcelas comerciales, aumenta la probabilidad de la enfermedad, siendo el corte de estolón un punto de entrada a la planta.

Por otro lado esta es la primera vez que *F. graminearum* se reporta en suelo y planta en el cultivo de fresa, su presencia se debe a la rotación de cultivos que se hace con maíz, sorgo y trigo en la parcela. En cambio *P. paeoniicola* al ser encontrada solo en planta de vivero se puede inferir que no se transmite a plantas hijas, lo que abre camino a analizar a mayor profundidad dicha especie.

Los oomycetes y *Macrophomina* sp., al no encontrarse en plantas de parcelas comerciales se puede concluir que no se transmite por medio de la planta de vivero, siendo la fuente de inóculo el suelo mismo y que manejo del suelo y el tratamiento de la planta antes de su establecimiento pudiera ser efectivo para su control.

Al existir una relación entre la mortalidad de la planta y la severidad del tizón causado por *N. rosae*, indica que es posible predecir la mortalidad de la planta evaluando la severidad del tizón. El factor de mayor influencia en la mortalidad, severidad de hoja y planta en parcelas comerciales son las plantas de raíz desnuda, las cuales presentan mayor mortalidad en comparación con las plantas de cepellón, independientemente del vivero que las produce, haciendo que el tratamiento pre- y pos-trasplante sea inefectivo para reducir la incidencia de la enfermedad.

La fuente de inóculo primario de patógenos es la plántula suministrado por viveros, sobre todo aquellas que es producida en suelo y provista 'a raíz desnuda', definiendo de esta manera el grado de mortalidad, severidad en planta y hoja . Una forma de reducir la diseminación de los hongos causantes de enfermedades en el cultivo es por medio de la reproducción de planta se realiza por medio de cepellón y de esta manera se provee al productor comercial del cultivo.

11. LITERATURA CITADA

- Abd-El-Kareem, F., Elshahawy, I. E., Abd-Elgawad, M. M. M. 2019. Management of strawberry leaf blight disease caused by *Phomopsis obscurans* using silicate salts under field conditions. Bulletin of the National Research Centre 43:1.
- Ara, T., Monzur, S., Saand, M., Islam, R., Alam, S., Hossain, M. 2017. The first report of *Pestalotiopsis* sp. causing crown rot disease on strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch.) in Bangladesh and evaluation of fungicide activity International Journal of Biosciences 11:350-358.
- Avilés, M., Castillo, S., Bascon, J., Zea, B. T., Martín, S. P.M., Peres, J. R. M. 2007. First report of *Macrophomina phaseolina* causing crown and root rot of strawberry in Spain. Plant Pathology 15:29.
- Ayoubi, N., Soleimani, M. J. 2015. Strawberry fruit rot cause by *Neopestalotiopsis iranensis* sp. Nov., and *Neopestalotiopsis mesopotamica*. Current Microbiology 72:329-336.
- Baino, O. M., Salazar, S. M., Ramallo, A. C. 2011. First report of *Macrophomina phaseolina* causing strawberry crown and root rot in northwestern Argentina. Plant Disease 95:1477.
- Barnett, H. L., Hunter, B. B. 2009. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth edition.
- Blair, J. E., Coffey, M. D., Sook-Young, P., Geiser, D. M., kang, S. 2008. A multi-locus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. Fungal Genetics and Biology 45:266-277.
- Boulos, M. N. 2005. Web GIS in practice III: creating a simple interactive map of England's Strategic Health Authorities using Google Maps API, Google Earth KML and MSN Virtual Earth Map Control. International Journal of Health Geographics 4:22.
- Burkhardt, A. K., Childs, K. L., Wang, J, Ramon, M. L., Martin, F. N. 2019. Assembly, annotation, and comparison of *Macrophomina phaseolina* isolates from strawberry and other hosts. BMC Genomics 20:802
- Camacho, A., Giles, M., Palao, M., Serrano, B., Velasquez, O. 2009. Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos, 2da edición. Fac. Química. UNAM.
- CCA. 2019. Por qué y cómo cuantificar la pérdida y el desperdicio de alimentos: guía práctica, Comisión para la Cooperación Ambiental, Montreal, 72 pp
- Ceja-Torres, L. F., Venegas, G. J., Montañez, S. J. L. 2014. Regionalization of the strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch) production areas of the Valley of Zamora, Michoacan, Mexico by dry wilt incidence and crop technology. Advances in Bioresearch 5:98-100.
- Chamorro, M., Aguado, A., De los Santos, B. 2016. First report of root and crown rot caused by *Pestalotiopsis clavispora* (*Neopestalotiopsis clavispora*) on strawberry in Spain. Plant Disease 100:1495.
- Dávalos, G. P. A., Narro, S. J., Jofre G. A. E., Vázquez, S. M. N., Hernández, R. A. R. 2014. Yield performance assay and fruit quality of strawberry

- genotypes tolerant and susceptible to *Fusarium oxysporum* and to a viral complex. *Acta Horticulturae* 1049:263-266.
- Dung, L., Dien, N. T., Dai, P. H., Tuan, P. N. 2016. The first report of *Pestalotiopsis* sp. causing crown rot disease on strawberries in Dalat. *Journal of Science* 6:364–376.
- Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32:1792-1797.
- Fang, X. L., Phillips, D., Li, H., Sovasithamparam, K., Barbetti, M. S. 2011. Severity of crown and rot diseases of strawberry and associated fungal and oomycete pathogens in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 40:109-119.
- Gerin, D., Dongiovanni, C., De Miccolis A. R. M., Pollastro, S., Faretra, F. 2018. First report of *Macrophomina phaseolina* causing crown and root rot on strawberry in Italy. *Plant Disease* 102:1857-1858.
- Gilardi, G., Bergeretti, F., Gullino, M. L., Garibaldi, A. 2019. First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing root and crown rot on strawberry in Italy. *Plant Disease* 103:2959.
- Glass, N. L., Donaldson, G. C. 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied Environmental Microbiology* 61:1323-1330.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95-98.
- Henry, P. M., Pastrana, A. M., Leveau, J. H., Gordon, T. R. 2019. Persistence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* in soil through asymptomatic colonization of rotation crop. *Phytopathology* 109:770-779.
- Hutton, D. G., Gomez, A. O., Mattner, S. W. 2013. *Macrophomina phaseolina* and its association with strawberry crown rot in Australia. *International Journal of Fruit Science* 13:149-155.
- Jean, F. M. 2018. Análisis especial con R. Usa R como un sistema de información geográfica. *European Sci. Inst.*
- Joanne-Peng, C. Y. 2008. *Data Analysis using SAS*. Indiana, USA. Sage Publication.
- Johnson, R. A., Wichern, D. V. 2008. *Applied multivariate statistical Analysis*. 6ta Edition. Pearson Education.
- Koike, T. S., Gordon, R. T., Oleg, D., Ajwa, H., Bolda, M., Subbarao, K. 2013. Recent developments on strawberry plant collapse problems in California caused by *Fusarium* and *Macrophomina*. *International Journal of Fruit Science* 13:76-83.
- Leslie, F. J., Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. First Edition. Blackwell Publishing. Manhattan, USA.
- Machin, A., Gonzalez, P., Vicente, E., Sanchez, M., Estelda, C., Ghelfi, J., Silvera, P. E. 2019. First report of root and crown rot caused by *Neopestalotiopsis clavispora* on strawberry in Uruguay. *Plant Disease* 103:2946.

- Mahapatra, S., Banerjee, J., Kumar, K., Pramanik, S., Pramanik, K., Islam, S., Das, S. 2018. Leaf spot and fruit rot of strawberry caused by *Neopestalotiopsis clavispora* in Indo-Gangetic plains of India. *Indian Phytopathology* 71:279-283.
- Maharachchikumbura, S. S. N., Dong Guo, L., Cai, L., Chukeatirote, E., Wu, W. P., Sun, X., Crous, P. W., Bhat, D. J., Eric, H. C., McKenzie, E. H.C., Bahkali, A. H., Hyde, K. D. 2012. A multi-locus backbone tree for *Pestalotiopsis*, with a polyphasic characterization of 14 new species. *Fungal Diversity* 56:95-129.
- Maharachchikumbura, S. S. S., Hyde, K. D., Goenewald, J. Z., Xu, J., Crous, P. W. 2014. *Pestalotiopsis* revisited. *Studies in Mycology* 79:121-186.
- Mara, R. E., Li, D. W. 2009. First report of *Pestalotiopsis paeoniicola* causing twing Blight on *Paeonia suffruticosa* in North America. *Plant Disease* 93:966.
- Mariscal, A. L. A., Rivera, Y. A., Dávalos, G. P. A., Ávila, M. D. 2017. Situación actual de hongos asociados a la secadera de la fresa (*Fragaria X ananassa* Duch.) en Guanajuato, México. *Agrociencia* 51:1405-3195.
- Martin, F. N. 2000. Phylogenetic relationships among some *Pythium* species inferred from sequence analysis of the mitochondrially encoded cytochrome oxidase II gene. *Mycologia* 92:711-727.
- Martin, F. N., Tooley, P. W. 2003, Phylogenetic relationship among *Phytophthora* species inferred from sequence analysis of mitochondrially encoded cytochrome oxidase I and II genes. *Mycologia* 95:269-284.
- Moralejo, E., Belbahri, L., Calmin, G., García-Muñoz, J. A., Lefort, F., Descals, E. 2008 Strawberry tree blight in Spain, a new disease caused by various *Phytophthora* species. *Journal of Phytopathology* 156:577-587.
- Nam, H., Kang, Y. J., Lee, F. H., Kin, H. G., Chong, C. 2011. Infection of daughter plant by *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* through runner propagation of strawberry. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 29:273-279.
- Nayak, P., Mukherjee, A. K., Pandit, E., Pradhan, S. K. 2018. Application of statistical tools for data analysis and interpretation in rice plant pathology. *Rice science* 25(1): 1-18
- O'Donnell, K., Rooney, A. P., Proctor, R. H., Brown, D. W., McCormick, S. P., Ward, T. J., Frandsen, R. J. N., Lysoe, E., Rehner, S. A., Aoki, T., Robert, V. A. R. G., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., Kang, S., Geiser, D. M. 2013. Phylogenetic analysis of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. *Fungal Genetics and Biology* 52:20-31.
- O'Donnell, K., Cigelnik, E. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetic Evolution* 7:103-116.
- Obregon, V. G., Meneguzzi, N. G., Ibanez, J. M., Lattar, T. E., Kirschbaum, D. S. 2018. First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing root and crown rot on strawberry plants in Argentina. *Plant Disease* 102:1856.

- Pastrana, A. M., Watson, D. C., Gordon, T. R. 2019. Transmission of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* through stolons in strawberry plants. *Plant Disease* 103:1249-1251.
- Pastrana, A. M., Basallote, U. M. J., Aguado, A., Capote, N. 2017. Quantitative trait loci controlling *Phytophthora cactorum* resistance in the cultivated octoploid strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Plant disease* 101:751-760.
- Paynter, M. L., De Faveri, J., Herrington, M. E. 2014. Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* and predicted breeding values in strawberry *Journal of American Society for Horticultural Science* 139:178–184.
- Rebollar-Alviter, A., Silva-Rojas, H. V., Fuentes-Aragón, D., Acosta-González, U., Martínez-Ruiz, M., Parra, R. B. E. 2020. An emerging strawberry fungal disease associated with root rot, crown rot and leaf spot caused by *Neopestalotiopsis rosae* in Mexico. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-20-0041-RE>
- Rivera-Jiménez, M. N., Zavaleta-Mancera, H. A., Rebollar-Alviter, A. A., Aguilar-Rincón, V. H., García de los Santos, G., Vaquera-Huerta, H., Silva-Rojas, H. V. 2018. Phylogenetics and histology provide insight into damping-off infections of ‘Poblano’ pepper seedlings caused by *Fusarium* wilt in greenhouses. *Mycological Progress* 17:1237-1249.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S. et al. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61:539-542.
- Spies, C. F. J., Mazzola, M., Bpotha, W. J., Van Der Rijst, M., Mostert, L., Mcleod, A. 2011. Oogonial biometry and phylogenetic analyses of the *Pythium vexans* species group from woody agricultural hosts in South Africa reveal distinct groups within this taxon. *British Mycological Society* 15:157-168.
- Stoke, M. E., Davis, C. S., Koch, G. G. 2012. *Categorical Data Analysis Using SAS*. 3era Edition, Inst. Inc. North Carolina, USA.
- Terry, A., Cox, M. D. 2004. *Statistical Analysis with R*. National Eye Institute. Course outline
- Harrel, F. E. 2001 *Regression Modeling Strategies*. Springer Verlag. 582 pg
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., Miller, W. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *Journal of Computational Biology* 7:203-214.

12. ANEXOS

Anexo 1.

Cuadro 5. Encuesta realizada a productores de fresa en muestreo de viveros

Número de parcela	Municipio:	Coordenadas			
Variedad (es) Origen de planta madre	Fecha siembra:	Superficie:			
	Plantas/planta madre:	Densidad			
Prep del terreno	Productos o prácticas usados para la desinfección de suelo Manual mecánica	Sistema de Producción: Orgánica Biointensivo Convencional			
Riego	Rodado Aspersión Goteo	Abierto	Macrotunel		
Fertilización	Modo y productos	Distancia entre plantas:			
Análisis patológico de la parcela	Sí No	Densidad de plantación			
Diagnóstico del estado fitosanitario de la planta madre	Sí No	Control de malezas: Manual Mecanizado Productos usados:			
¿Con que cultivos hace rotación?					
Plagas y enfermedades más frecuentes en el vivero	Época (Con relación al desarrollo del cultivo y mes)		Control		Preparación de suelo
	Época	Impacto en la producción (B, M o A)	Nombre del Producto	Número de Aplicaciones	Actividad
1.					1.
2.					2.
3.					3.
4.					4.
Mezclas y Número de aplicaciones para control de varias plagas, o estrategia de Manejo Integral.					5.
¿En porcentaje, cuánto representa el gasto de control de enfermedades y los costos de producción (jornales + productos)? En la temporada anterior ¿cuánto estima (%) que se perdió de planta por efecto de las enfermedades de suelo? ¿Cuánto se estima que se perdió la temporada anterior por <i>Neopestalotiopsis</i> sp.? ¿Cuál es el costo de la planta para el productor? ¿Cuántas plantas hijas por planta madre obtiene?					

Cuadro 6. Encuesta realizada a productores en muestreo pre-trasplante.

Etiqueta		Coordenadas	
Variedad (es)	Origen de planta	Superficie:	
		Densidad	
Desinfección de suelo:		Sistema de Producción: Orgánica Biointensivo Convencional	
Desinfección de planta:			
		Abierto	Macrotunel
Análisis patológico de la parcela	Sí No	Diagnóstico del estado fitosanitario de la planta madre	Sí No
¿Con que cultivos hace rotación?			

Cuadro 7. Encuesta realizada a productores en parcelas comerciales establecidas.

Municipio		Altitud		Superficie:
Coordenadas				
Variedad (es)	Origen de planta Cepellón o vivero	Lugar de origen	Condiciones de la parcela	
1			Inundado	
2			Cubierta	
3			Acolchado	
4			Residuos de cosecha	
Fecha de trasplante		Fecha de colocación de cubierta		
Cultivos anteriores:				

Tratamiento pre-trasplante		Productos:	
Tratamiento adicional		Productos	
Desinfección de suelo			
Solarización	Bio-solarización	Metam sodio	Otro

Anexo 2

Cuadro 8. Escala utilizada para la medición de la severidad en planta.

Valor	Descripción
0	Sana
1	Síntomas iniciales
2	Hojas externas a la corona amarillentas
3	Cogollo con amarillamiento
4	Hojas secas en más del 70% de la planta
5	Muerta

Anexo 2

Cuadro 9 Datos colectados en el recorrido de regionalización de marchitez y tizón de la hoja

NO	MUN	VARI	ORIGEN	LUGAR DE ORIGEN	DIAS SIEM-CUB	T. PRE-TRASPLANTE	T. DRENCH-FOLIAR	DESINF ECCIO N SUELO	% MORT	SEV. PLANTA					SEV. EN HOJA				
										1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	TANG	ALB	R.D.	CHILE	36	FUNGICIDAS	FUNGICIDAS	NO	4	3	2	2	3	4	2	3	3	4	4
										1	3	3	2	3	1	4	3	1	4
										3	5	3	4	4	3	5	2	4	4
										4	1	1	1	2	4	1	2	1	2
										4	4	4	2	4	4	4	4	3	4
2	TANG	SAYULITA	CEP.	JALISCO	14	RIDOMIL	CERCOBIN	SI	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0
										1	1	1	1	1	1	1	1	0	
										1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
										1	2	0	2	1	1	1	0	1	1
										1	1	3	0	1	1	1	0	1	1
3	TANG	FEST	CEP.	GTO	30				0.4	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1
										0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
										1	1	0	1	1	1	1	0	1	1
										1	0	0	1	0	1	0	1	0	
										1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4	TANG	FRONT	R.D.	JACONA	21	AMISTAR	CAPTAN, CERCOBIN	FUSAN	28.8	4	3	3	3	3	4	2	2	3	2
										5	3	5	3	5	5	1	5	1	5
										4	5	4	1	5	4	5	4	2	5
										1	4	4	5	3	1	4	4	5	3
										3	1	2	3	4	3	1	2	3	4
5	CHILC	ALB	R.D.	CHILE	28	RIDOMIL 480, VIGORD	CAPTAN	META M SODIO	60.4	1	5	5	4	0	1	3	2	4	5
										5	5	0	4	3	5	5	4	3	4
										5	5	1	4	1	1	1	4	5	5

6	CHILC	ALB	R.D	CHILE	5	RIDOMIL	CAPTAN	META M SODIO	33.6	5 1 1 5 4	1 3 2 2 5
										5 5 5 4 3	1 0 5 4 5
										5 0 2 1 4	4 4 2 3 5
										0 5 2 1 1	1 1 5 2 1
										5 1 2 0 0	4 5 2 1 1
7	TANG	OSCE	R.D	PUEBLA	20	CERCOBIN, SERENADE, AGROKER,	RADIOFORM	SI	15	4 3 5 5 0	4 5 1 1 2
										5 4 1 3 5	3 5 2 3 4
										0 2 0 0 0	1 0 0 1 0
										0 0 0 0 0	1 1 0 0 0
										0 0 0 0 0	1 1 0 0 0
8	TANG	ALB	R.D	TLAZAZALCA	30	SI	NO	SI	66.8	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
										0 0 0 0 0	1 0 1 0 0
										5 5 4 5 5	5 5 5 5 5
										4 4 5 5 5	0 2 3 1 5
										3 5 5 5 4	1 0 5 1 2
9	TANG	ALB	R.D	CHILE	22	CAPTAN	NO	SI	4	5 0 4 1 0	0 1 0 0 1
										3 5 4 1 0	0 1 3 4 3
										4 0 1 0 5	2 1 0 1 2
										1 0 0 0 1	1 3 1 2 1
										0 5 1 0 0	1 1 2 1 1
10	TANG	FORT	R.D	JALISCO GUANAJUAT O	15	TECTO	AMINOACIDO S, ALGAS, ENRAIZADOR	PANAD IM	5.6	0 0 1 0 0	1 1 2 2 1
										1 0 0 0 0	1 3 2 3 4
										1 0 1 3 0	0 0 0 0 0
										1 4 1 5 0	2 1 0 1 0
										5 0 4 1 0	3 0 1 0 0
11	TANG	FRONT	R.D	CHAVINDA	18	ABAMECTINA, ORGANICO	BIOKIN A BASE	60	0 5 2 0 0	0 1 0 0 1	
									0 0 0 0 0	0 1 0 0 0	
									0 0 0 0 0	1 0 1 0 1	
										5 4 1 0 1	1 0 0 0 1

								DE ACIDOS		0 5 0 1 0	0 0 0 0 0
										5 4 5 0 5	0 0 0 1 0
12	JAC	SAY	CEP.	DOL. HIDALGO	35	NO	TACHIGAREM Y STREPTOMIC S	NO	0	1 1 2 2 1 0 1 1 0 0 1 1 1 1 0 1 1 1 0 1 1 0 1 1 1	1 1 3 1 1 0 0 1 0 0 2 2 1 1 0 1 1 2 0 1 2 0 1 2 1
13	JAC	OSCE	R.D	PUEBLA	28	AMISTAR Y CERCOBIN	ALLIETE	META M SODIO	15	1 1 1 1 1 3 2 1 2 2 1 1 1 1 1 2 1 2 2 1 5 1 1 2 0	1 2 1 1 1 2 1 2 1 3 1 1 1 0 1 1 1 1 1 2 5 1 1 1 0
14	JAC	ALBI	CEP.	GUANAJUAT O	60				6	1 1 0 1 2 2 1 1 1 1 4 1 4 4 5 1 4 1 1 1 4 4 5 1 5	1 1 0 2 1 1 1 2 1 1 5 5 3 5 3 1 5 4 2 3 5 5 5 1 5
15	JAC	FRONT	R.D	AMERICANA	30	SPORTAK, ABAMECTINA	SPORTAK, ALLIETTE, IMIDACLOPRI D, ROVRAL, TOKAT	FUZAM	12.4	1 3 1 2 4 4 4 5 3 5 3 3 5 2 3 4 1 4 4 1 1 4 4 5 1	4 5 1 4 4 5 5 5 4 5 4 5 5 1 5 5 1 5 5 2 1 5 5 5 2
16	JAC	FRONT	R.D.	SAN MIGUEL PUEBLA CD GUZMAN	55	CASTELL, IMPALA	FUSIM, TECTO	NO	40	0 1 3 5 1 5 3 1 2 1 5 1 1 1 5 5 1 1 2 1 1 0 2 1 1	0 1 5 5 1 5 4 2 1 1 5 1 2 1 5 5 1 1 2 1 1 0 1 1 1
17	JAC	ALB	CEP.	MICHOACAN	0	SPORTAK CORAGEN	SPORTAK	OZONO	6.4	1 1 5 1 2 1 1 0 2 4 5 1 1 5 4	1 1 5 1 5 4 5 0 5 5 5 3 4 5 1

18	JAC	FRONT	R.D	JACONA	60	AMISTAR CAPTAN	TACHIGAREN, CORAGEN, UNIFORM, ROVRAL	40.8	5 4 5 1 1	5 5 5 1 1	
									4 5 1 3 5	1 5 1 2 5	
									4 5 5 4 4	3 5 5 5 4	
									4 5 4 4 5	3 5 4 4 5	
									5 4 1 3 5	5 5 5 5 5	
									5 1 4 5 4	5 3 5 5 5	
19	JAC	FRONT	R.D	TAMANDAR O	0	FUSAM	FUSAM	FUNGI CIDAS	80	4 5 5 4 5	4 5 5 3 5
									4 5 3 4 5	3 5 2 4 5	
									3 2 5 1 1	1 3 5 2 1	
									4 4 4 1	2 5 5 5 5	
									4 5 1 4 1	5 5 2 5 3	
									4 5 5 4 5	4 4 1 1 5	
20	ZAM	FRONT	R.D	CHIHUAHUA	90	RIDOMIL	RIDOMIL	SI	16.4	5 1 3 2 5	4 4 1 1 5
									4 3 5 4 2	4 4 5 4 1	
									5 4 3 3 4	5 5 3 4 5	
									4 4 4 5 1	5 5 5 5 4	
									1 0 1 3 1	1 0 1 1 1	
									0 1 1 5 4	0 1 1 5 4	
21	ZAM	FRONT	R.D	ZAMORA	40	CAPTAN, CORAGEN, RIDOMIL GOLD	TECTO Y BACILLUS	META M SODIO	40.4	4 4 4 4 5	5 4 3 3 5
									4 4 5 5 5	1 5 5 5 5	
									4 4 1 4 1	5 5 3 5 4	
									5 4 4 4 4	5 5 5 5 5	
									5 1 0 0 1	0 0 0 0 0	
									1 0 5 1 0	0 0 0 1 0	
22	JAC	ALBI	R.D	E.U.A	90	CAPTAN CERCOBIN	RIDOMIL	SOLFU RAN	4.4	0 0 0 0 0	2 1 3 1 0
									2 1 0 0 0	1 1 0 1 0	
									1 0 5 1 0	1 0 2 0 1	
									0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	
									0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	
									1 0 0 0 0	0 0 0 0 0	
23	JAC	FORT	R.D	CD GUZMAN	15	AMISTAR CAPTAN CERCOBIN	CONFIDOR ALTACOR BUSAN	BUSAN	0.4	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
									0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	
									1 0 0 0 0	0 0 0 0 0	
									0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	

										0 0 0 5 0	0 0 0 0 0
										0 5 0 0 5	0 0 0 0 0
24	JAC.	ALB	R.D	E.U.A	120		QUIMICOS	NO	31.6	5 5 0 1 5	2 2 3 1 2
										5 1 0 0 3	3 1 0 1 2
										5 1 0 1 0	1 2 1 3 0
										0 5 3 3 1	3 1 2 0 1
										5 4 2 0 1	1 1 0 2 1
25	JAC.	ALB	R.D	PUEBLA	60	CERCOBIN, RIDOMIL	ALIETTE	SI META M SODIO	35.2	5 5 0 1 5	2 2 3 1 2
										5 3 5 0 4	2 4 1 1 2
										5 1 2 0 0	1 2 1 1 1
										5 3 0 2 0	2 2 1 2 1
										5 5 4 0 0	2 0 1 2 2
26	JAC	FRONT	R.D	TAMANDAR O	32	CERCOBIN, ALIETTE	AGROMIL PLUS, MAXIGROW	CAL PERLA	1.6	5 0 1 0 0	0 0 0 0 0
										1 0 0 0 0	1 1 0 0 1
										0 1 0 0 1	0 0 0 0 0
										0 0 0 1 0	1 1 0 1 0
										1 1 0 0 0	1 1 0 0 1
27	JAC	FRONT	R.D	TAMANDAR O	32	CERCOBIN, ALIETTE	AGROMIL PLUS, MAXIGROW	CAL PERLA	37.6	2 1 5 5 3	2 3 1 3 4
										1 5 5 3 1	2 1 3 2 2
										1 0 2 1 0	1 2 3 3 2
										1 0 5 1 1	2 1 3 3 2
										1 0 5 2 0	2 1 2 3 1
28	ZAMO RA	SAY	CEP	DOLORES HIDALGO	0	FOLIAR ALIETTE	CERCOBIN, AGRIMEC	NO	0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
										0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
										0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
										0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
										0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
29	ZAMO RA	SAY	CEP	DOLORES HIDALGO	0	CERCOBIN, ALIETTE	AGRIMEC Y BEAUVERIA	4 APLICA CIONES	0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
										0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
										0 0 0 0 0	0 0 0 0 0

								DE OZONO		0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
30	JACON A	SAY	CEP	DOLORES HIDALGO	0	SPORTAK STARTALL	CERCOBIN, CAPTAN, ROVRAL, ALIETTE, CABRIO	SI QUIMI COS	0	0 1 0 0 0 0	0 0
31	SELVAS	SAY	CEP	DOLORES HIDALGO	0	SPORTAK STARTALL	CERCOBIN, CAPTAN ROVRAL ALIETTE CABRIO	SOLARI ZACIO N	0	2 0	0 0
32	SELVAS	SAY	CEP	DOLORES HIDALGO	0	SPORTAK STARTALL	CERCOBIN, CAPTAN ROVRAL ALIETTE CABRIO	SOLARI ZACIO N	7.6	0 5 3 4 0 5 3 4 1 2 0 3 0 1 5 3 4 1 3 0 0 4 4 3 4	0 0
33	ZAMORA	SAY	CEP	PLANASA	0				0.4	2 1 3 1 1 1 1 0 0 1 1 3 1 1 1 3 1 1 1 1 5 1 1 1 3	1 1 1 0 2 1 0 0 0 0 0 2 0 1 3 1 1 1 1 1 5 1 1 1 1
34	JAC	SAY	CEP	PLANASA NOROTO	0				1.6	1 1 4 3 3 2 1 1 2 2 4 1 1 4 5 1 1 4 1 1 4 1 4 5 3	0 1 5 3 2 1 0 1 1 2 5 2 4 5 4 3 3 5 5 3 5 4 5 4 2
35	ZAM	FRONTERA	R.D	VIVERO PROPIO	36	ANTES DE ARRANCAR CON	PROCURE	NO	25.2	0 1 1 1 1 4 1 3 4 4 3 5 4 4 3	0 2 1 1 1 3 2 1 5 3 5 5 3 2 3

						CERCOBIN, ALLETTE, FUSAM, CAPTAN					2 4 5 4 1 1 1 1 4 3	1 5 5 1 1 5 4 1 5 5
36	ZAM	FEST	R.D	VIVERO PROPIO	25	TECTO	TECTO Y CERCOBIN	NO	100	5 4 5 5 5 5 4 5 5 5 5 4 5 4 4 5 4 4 4 5 5 4 5 4 5	5 2 5 5 5 5 4 5 5 5 4 5 5 4 4 5 5 5 4 5 4 5 5 4 5	
37	ZAM	CAM	R.D	VIVERO PROPIO	39	CAPTAN, INSPIRE	CERCOBIN, PROTECTO, ALZIM	NO	100	4 5 5 4 4 5 5 5 5 5 5 5 4 5 5 3 5 5 4 4 5 5 5 5 5	5 5 5 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 4 5 5 5 5 5	
38	ZAM	ALB	R.D	ZAMORA	0	COBRE	TECTO MERIVON	NO	75	5 4 3 5 3 4 5 3 5 2 4 1 1 4 1 2 1 2 5 3 3 3 4 5 1	5 2 3 5 3 3 5 3 5 1 5 0 4 3 0 4 0 1 5 4 0 4 4 5 1	
39	PUR	FEST	R.D	VIVERO PROPIO	55	SALES CUATERNARIA S	CAPTAN ROVRAL	NO	36.8	1 1 3 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 4 0 5 1 3 0 1 0 2 0 0 0	1 1 0 0 0 0 0 3 0 1 0 0 1 1 0 5 4 4 0 1 1 0 0 0 0	
40	PANI	CAM	R.D	VIVERO PROPIO	32	TECTO	RIDOMIL	PROTE CTO	58.8	5 1 5 5 5 2 1 5 5 3 1 1 5 2 0 2 4 2 2 5 1 5 1 3 5	5 0 5 5 5 2 0 5 5 4 2 3 5 3 0 1 4 3 2 5 0 5 0 4 5	
41	PANI	CAM	R.D		30	NO		NO	22	5 1 1 5 1	5 0 1 5 1	

				VIVERO PROPIO			METALAXIL, UNIFORM				0 1 0 4 0	1 1 0 5 0
											5 1 2 4 1	5 0 1 5 0
											1 0 0 1 2	1 0 0 0 5
											3 1 1 0 0	5 1 0 0 0
42	TANG	FRONT	R.D	AGRANA (PUEBLA)	60	TECTO RIDOMIL CAPTAN	TOKAT FUCIM	META M SODIO	36.8		2 2 5 1 1	3 1 5 2 1
											1 3 3 3 5	1 1 4 5 5
											1 1 0 5 0	1 2 0 5 1
											5 2 2 1 4	5 1 1 1 5
											5 1 5 4 1	5 0 5 5 0
43	IXTLAN	CAM	R.D	VIVERO PROPIO	30	AMISTAR CAPTAN	AMISTAR CAPTAN	NO	16.8		0 1 0 1 3	0 1 0 1 1
											1 0 1 1 0	1 0 1 0 1
											5 4 4 1 4	5 5 5 2 5
											4 1 5 4 5	5 4 5 4 5
											5 4 4 1 4	5 3 5 3 5
44	IXT	CAM	R.D		30				31.6		5 4 4 4 4	5 5 5 5 5
											5 4 4 1 1	5 5 5 2 5
											5 5 4 4 1	5 5 5 5 3
											1 4 4 1 1	1 5 5 1 1
											1 1 4 4 4	1 1 5 5 4
45	IXT	CAM	R.D	VIVERO PROPIO	40	CAPTAN RIDOMIL	METALAXIL	NO	12.8		4 4 3 1 2	5 5 1 1 1
											4 1 3 4 4	5 1 1 5 5
											4 3 4 4 1	4 2 5 4 3
											5 5 4 4 4	5 5 4 4 5
											5 5 4 4 5	5 5 5 4 5
46	IXT	CAM	CEPELLON	VIVERO PROPIO	0	NO	NO	NO	2.8		1 4 1 1 4	1 5 1 1 5
											1 1 3 1 1	1 1 1 1 1
											1 1 1 1 1	1 1 1 1 1
											4 4 4 1 3	5 5 5 3 2
											1 1 1 1 1	1 1 1 1 1
47	ANG	CAM	R.D		53				9.2		1 1 1 4 1	1 1 1 5 1

				VIVERO PROPIO		AMISTAR RIDOMIL	AMISTAR RIDOMIL	FUZAM SALES CUATE RNARI AS		1 1 1 4 1 4 1 1 4 4 4 1 4 4 4 4 4 1 1 1	1 1 1 5 1 4 1 1 4 4 5 1 5 5 5 4 4 1 1 1
48	ANG	CAM	R.D	VIVERO LOCAL	60	RIDOMIL CERCOBIN	NO	NO	10.8	5 5 0 0 5 1 0 0 0 0 1 1 0 0 4 1 1 4 1 5 0 0 1 1 1	5 5 0 0 5 1 0 0 0 0 1 1 0 0 4 1 1 5 1 5 0 0 1 1 1
49	ANG	FRONT	R.D	VIVERO PROPIO	60	NO	NO	NO	8	1 1 4 1 5 0 1 0 0 0 1 1 0 0 0 4 0 5 2 1 4 4 3 4 1	1 1 5 1 5 0 1 0 0 0 1 1 0 0 0 5 0 5 3 1 5 5 2 5 1
50	ANG	FRONT	R.D	VIVERO PROPIO	40	NO	UNIFORM, CABRIO, ROVRAL	NO	20.4	4 4 4 4 3 4 1 1 4 1 5 4 4 4 4 1 1 4 4 4 0 3 5 3 2	5 5 5 5 2 5 1 1 5 1 5 4 4 4 4 1 1 5 5 5 1 3 5 1 2