



ISSN 2215-2202

AGRONOMÍA COSTARRICENSE

REVISTA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

<https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost>



Artículo científico

Eficacia *in-vitro* de seis fungicidas para el control de *Pestalotiopsis* sp. asociado a frutos de guayaba taiwanesa (*Psidium guajava* L.) variedad Tai-kuo-bar en Paquera, Costa Rica

Mauricio Serrano^{1/*}, Luis E. González-Ordoñez²

¹Universidad de Costa Rica, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos, San José, Costa Rica.



²Iowa State University, Plant Pathology, Entomology and Microbiology Department, Ames, Iowa, USA.



*Autor para correspondencia. Correo electrónico: mauricio.serrano@ucr.ac.cr

DOI: <https://doi.org/10.15517/6avfz274>

Recibido el 16 de setiembre del 2025; Aceptado el 05 de marzo del 2026

Resumen

Introducción. La producción de guayaba taiwanesa en Paquera se ve afectada por el hongo *Pestalotiopsis* sp., el cual causa lesiones en el fruto que afectan su calidad. Para el control de la enfermedad se realizan aplicaciones de fungicidas, sin conocimiento sobre su eficacia. **Objetivo.** Determinar la eficacia *in-vitro* de seis fungicidas para el control de *Pestalotiopsis* sp. asociado a frutos de guayaba taiwanesa (*Psidium guajava* L.) variedad Tai-kuo-bar en el distrito de Paquera, Puntarenas. **Materiales y métodos.** Se colectaron frutos con síntomas de enfermedad, se obtuvieron aislamientos en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) y se identificaron morfológicamente a nivel de género. Se obtuvieron secuencias a partir del gen ITS y se analizaron en la base de datos NCBI (National Center for Biotechnology Information). La eficacia *in-vitro* se determinó inoculando el hongo sobre cajas de Petri con medio de cultivo PDA suplementado con el fungicida añadido en dosis comercial, 50% y 10% de la dosis comercial. Se calculó el porcentaje de reducción del crecimiento de micelio con relación al testigo. **Resultados y discusión.** Se confirmó la presencia de *Pestalotiopsis* sp. asociado a las lesiones en el fruto. Las secuencias obtenidas de la región ITS mostraron un 100% de similitud con secuencias de *Neopestalotiopsis saprophytica*, *N. foedans*, *N. clavispora* y *Pestalotiopsis versicolor* depositadas en la base de datos NCBI. Se observó inhibición del crecimiento de micelio mayor al 90% con los fungicidas azoxistrobina, propineb, prochloraz y difenoconazole a la dosis comercial. Por su parte, el sulfato de cobre pentahidratado y carbendazina mostraron una inhibición del 76,1% y 12,6%, respectivamente.

Conclusiones. Azoxistrobina, propineb, prochloraz y difenoconazole en las dosis comerciales mostraron ser alternativas para el control químico. La poca eficacia de carbendazina sugiere que podrían existir aislamientos resistentes. Se requieren estudios adicionales para determinar la diversidad de especies de *Pestalotiopsis* en la región.

Palabras clave: guayaba; fungicidas; *Pestalotiopsis*; inhibición del crecimiento micelial; eficacia in-vitro.

Research Article

Abstract

***In-vitro* efficacy of six fungicides for the control of *Pestalotiopsis* sp. associated with taiwanese guava (*Psidium guajava* L.) cv. Tai-kuo-bar in Paquera, Costa Rica**

Introduction. The production of Taiwanese guava in Paquera is constrained by the fungus *Pestalotiopsis* sp., which causes fruit lesions that reduce quality. Although fungicides are applied for disease management, information on their efficacy remains limited. **Objective.** To evaluate the *in-vitro* efficacy of fungicides against *Pestalotiopsis* sp. associated with Taiwanese guava (*Psidium guajava* L.) cv. Tai-kuo-bar in the district of Paquera, Puntarenas. **Materials and methods.** Symptomatic fruits were collected, and fungal isolates were obtained on culture medium and identified morphologically at the genus level. ITS gene sequences were generated and compared against the NCBI (National Center for Biotechnology Information) database. *In-vitro* efficacy was assessed by inoculating the fungus onto potato dextrose agar (PDA) plates amended with fungicides at commercial dose, 50%, and 10% of the commercial dose. The percentage reduction in mycelial growth relative to the untreated control was calculated. **Results and discussion.** *Pestalotiopsis* sp. was confirmed to be associated with fruit lesions. ITS region sequences showed 100% identity with *Neopestalotiopsis saprophytica*, *N. foedans*, *N. clavispora*, and *Pestalotiopsis versicolor* from the NCBI database. Mycelial growth inhibition was greater than 90% when azoxystrobin, propineb, prochloraz, and difenoconazole were used at the commercial dose. In contrast, copper sulfate pentahydrate and carbendazim showed inhibition of 76.1% and 12.6%, respectively. **Conclusions.** Azoxystrobin, propineb, prochloraz, and difenoconazole demonstrated high potential for chemical control of *Pestalotiopsis*. The low efficacy of carbendazim suggests possible resistance in some isolates. Further studies are required to clarify the diversity of *Pestalotiopsis* species in the region.

Keywords: guava; fungicides; *Pestalotiopsis*; mycelial growth inhibition; in vitro efficacy.

Introducción

La guayaba taiwanesa es una planta arbustiva de porte bajo perteneciente al género *Psidium* de la familia *Myrtaceae* (Solarte et al., 2018). Entre sus principales características, está su alto valor nutricional, ya que cuenta con compuestos antioxidantes como la vitamina E y C, carotenoides y fenoles, así como un alto aporte de fibra dietética (Sánchez-Zúñiga et al., 2017). El tamaño, color y forma del fruto depende de la variedad, pero se pueden encontrar redondas, ovaladas y aperadas. En Costa Rica, la variedad de guayaba taiwanesa con mejores características para la producción es la Tai-kuo-bar, con cáscara verde, pulpa blanca y de forma redonda; puede alcanzar un peso de entre 400 a 800 gramos (Román & Hwang, 1999).

En el distrito de Paquera, la producción de guayaba taiwanesa inició en el año 1996, cuando se introdujeron seis variedades de guayaba por medio de la Misión Técnica Agrícola de la República China en Taiwán en coordinación con MAG-IDA y la Asociación de Guayaberos (ASOPROGUATA), en Paquera, Puntarenas, para su producción. Según datos del último censo agropecuario, en Costa Rica, existen 4696 fincas dedicadas al cultivo de guayaba, de las cuales el 20% son de menos de 1 ha de extensión (INEC, 2015). En el cantón de Paquera, el cultivo es de relevancia económica, ya que las familias dependen de la producción y se estima que se generan cinco empleos por familia por hectárea (MAG, 2007). Para el año 2014 se comercializaban 11 000 kg por semana de guayaba para el mercado nacional (Guzmán, 2014). Actualmente, la producción principalmente está destinada al mercado nacional y beneficia aproximadamente a 200 familias de Paquera de forma directa.

A nivel mundial, la guayaba es susceptible al ataque de hongos fitopatógenos, tales como *Puccinia psidii* Winter, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc., *C. acutatum* Simmonds y *Pestalotiopsis* spp. Steyaert (Carabalí Muñoz et al., 2021). En particular, la enfermedad conocida como el clavo o roña de la guayaba causada por *Pestalotiopsis* spp. es muy común en las zonas tropicales donde se establece este cultivo (Carabalí Muñoz et al., 2021) y constituye uno de los problemas fitosanitarios que más afecta el rendimiento agrícola, debido a que puede afectar cualquier etapa del desarrollo del fruto y la sola presencia de lesiones externas conlleva a su descarte, dejándolo sin ningún valor comercial (Bhogal et al., 2022; Carabalí Muñoz et al., 2021; Keith et al., 2006). En Costa Rica, se ha reportado que hasta un 23% de los frutos pueden verse afectados por *Pestalotiopsis* cuando las condiciones son favorables para el desarrollo de la enfermedad (Morera-Montoya & Blanco-Metzler, 2009).

Los hongos Ascomycetes del género *Pestalotiopsis* se encuentran por lo general en estado anamorfo. Los primeros síntomas que se observan en la epidermis del fruto son puntos negros con relieve áspero, de forma lenticular, donde debajo de la cutícula se encuentran los acérvulos, y con el avance de la lesión, se da una necrosis en el tejido. Este género tiene la característica de presentar conidios divididos por cuatro, cinco o seis septos, con terminación en punta de las cuales salen uno o varios apéndices como especie de flagelos (Keith et al., 2006; Maharachchikumbura et al., 2011).

El ciclo de la enfermedad comienza cuando los conidios entran en contacto con tejidos del hospedante. Los conidios de *Pestalotiopsis* spp. contenidos en acérvulos tienen la capacidad de sobrevivir en condiciones adversas. Al diseminarse y entrar en contacto con tejidos del hospedante, pueden germinar e ingresar por heridas o aberturas naturales. Posteriormente, se producen acérvulos que liberan los nuevos conidios, originando el inóculo secundario que es el responsable de aumentar la severidad de la enfermedad y causar nuevas infecciones. La totalidad del ciclo se lleva a cabo en el hospedante hasta el momento donde es diseminado por agua, viento u otros medios (Maharachchikumbura et al., 2011). Entre las condiciones que más favorecen su desarrollo y éxito de infección, están temperaturas de entre 25-35 °C y una humedad relativa de entre 80–100% (Keith et al., 2006; Solarte et al., 2018).

Se tiene conocimiento de la afectación y manejo de esta enfermedad en lugares como India, Hawái y Colombia (Bhogal et al., 2022; Keith et al., 2006; Sethi et al., 2022; Solarte et al., 2018), pero se cuenta con muy poca información sobre esta enfermedad en Costa Rica. Existe únicamente un reporte de Morera-Montoya y Blanco-Metzler (2009) sobre la presencia de hongos del género *Pestalotiopsis* y *Colletotrichum* asociados a lesiones en frutos de guayaba Tai-kuo-bar en una plantación ubicada en la localidad de Carrillo de Poás, provincia de Alajuela.

En el control químico, actualmente, se utilizan las mismas moléculas que controlan otros hongos patógenos como *Colletotrichum* spp. Sin embargo, estos no siempre son controlados por los mismos fungicidas, por lo que puede ocurrir que no haya efectividad en el control (Carabalí Muñoz et al., 2021; González-Gaona et al., 2020). Entre los fungicidas que utilizan los productores de Paquera, se puede mencionar carbendazina, azoxystrobina, prochloraz, sulfato de cobre, difenoconazole y propineb. La escasa información sobre el manejo de esta enfermedad en Costa Rica conduce a que los productores utilicen fungicidas sin tener conocimiento sobre su eficacia, con el fin de proteger sus cultivos, pudiendo incurrir en un elevado uso de agroquímicos de manera injustificada, en especial, cuando la eficacia del fungicida aplicado es baja para el control de la enfermedad.

Este trabajo tuvo como objetivo identificar de forma preliminar el patógeno *Pestalotiopsis* spp. asociado a la enfermedad conocida como el clavo o roña de la guayaba, así como determinar la eficacia *in vitro* de fungicidas para su control.

Materiales y métodos

Colecta del material vegetal

Durante setiembre de 2022, se colectó una muestra de 5 frutos sintomáticos de guayaba variedad Tai-kuo-bar, cada uno con un peso entre 200 a 300 gramos. La plantación tenía arboles de aproximadamente 5 años, sembrados a una distancia de 4 m x 4 m. La finca estaba ubicada en la localidad de Río Grande, distrito de Paquera, provincia de Puntarenas. (**Figura 1**). Los frutos fueron trasladados hasta el Laboratorio de Fitopatología del Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos, en San Pedro de Montes de Oca, provincia de San José.

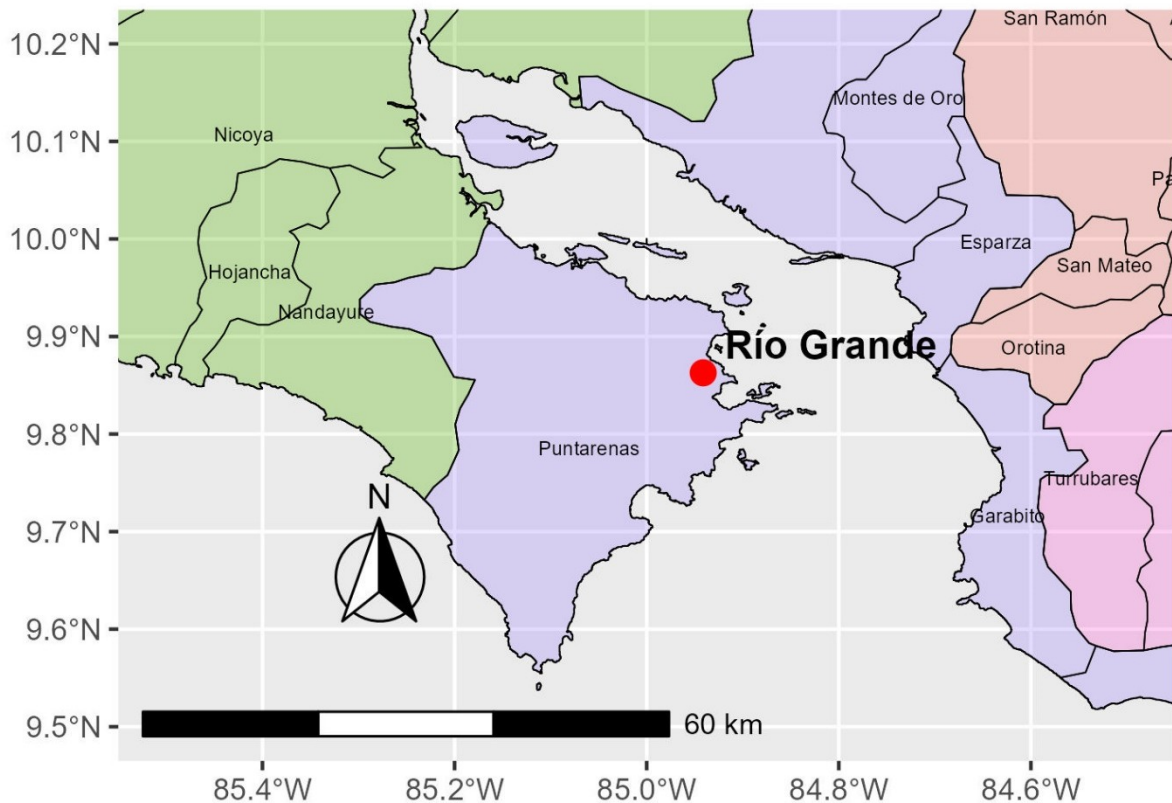


Figura 1. Localización de la finca productora de Guayaba en la localidad de Río Grande, distrito de Paquera, cantón Central de Puntarenas, Provincia de Puntarenas en donde se recolectaron frutos sintomáticos, setiembre 2022.

Figure 1. Location of a guava-producing farm in Río Grande, Paquera district, Central Puntarenas canton, Puntarenas Province, where symptomatic fruits were collected, September 2022.

Identificación morfológica

Se describieron los síntomas en la fruta y, a partir de los tejidos sintomáticos, se realizó un aislamiento en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA). Para la identificación morfológica a nivel de género, se examinaron las colonias resultantes. Se tomó en cuenta la apariencia y color de la colonia, tipo de micelio, producción de acérvulos y forma de los conidios siguiendo la metodología de Barnett y Hunter (1972) y Maharachchikumbura et al. (2011). Se obtuvieron, posteriormente, cultivos monospóricos siguiendo la metodología de French y Herbert (1980) para analizarse luego mediante técnicas moleculares.

Identificación mediante técnicas moleculares

En el Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección del Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos, se determinó la identidad del aislamiento monospórico mediante la extracción de ADN del micelio puro y la amplificación por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la región del espaciador interno transcrito del ADNr (ITS). Los cebadores (primers) y ciclos térmicos utilizados para PCR se describen en la **Tabla 1**. Las secuencias de ADN de la región amplificada fueron secuenciadas por Macrogen Inc. en Seúl, República de Korea. Las secuencias obtenidas para cada aislamiento se alinearon con el programa BioEdit Sequence Alignment Editor versión 7.0.5.3 (Hall, 1999). La identidad se determinó mediante comparación con las secuencias en la base de datos NCBI (National Center for Biotechnology Information).

Tabla 1. Cebadores y ciclos térmicos para PCR de la región ITS utilizada para la identificación molecular de *Pestalotiopsis*.

Table 1. Primers and thermal cycling conditions for PCR amplification of the ITS region used for the molecular identification of *Pestalotiopsis*.

Imprimador	Secuencia 5'- 3'	Ciclo térmico	Referencia
ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	95 °C (2min); 35 ciclos de 95 °C (1min), 56 °C(1min) y 72 °C (1min);	White <i>et al.</i> (1990)
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	72 °C (7min)	White <i>et al.</i> (1990)

Eficacia *in-vitro* de fungicidas

Se prepararon cajas de Petri de 90mm de diámetro con medio y fungicida añadido a las diferentes dosis de los fungicidas evaluados. Las cajas de Petri fueron inoculadas con un disco de micelio 5mm de diámetro del cultivo del hongo previamente incubado durante 7 días en medio PDA a 25 °C. La inoculación se realizó colocando el disco de micelio 5mm cerca del borde de la placa Petri. Las cajas de Petri se incubaron a 25 °C y diez días después de la inoculación se midió el crecimiento (mm) de micelio en dirección hacia el borde opuesto.

Se evaluaron las siguientes concentraciones de fungicida añadido al medio de cultivo: dosis comercial, 50% de la dosis comercial, y 10% de la dosis comercial (**Tabla 2**). Dado que no se cuenta con fungicidas registrados para el cultivo de Guayaba en Costa Rica, se utilizó la dosis comercial indicada en la ficha técnica para el control de Antracnosis en otros cultivos frutales, de manera similar a lo que realizan los productores de guayaba en Paquera.

Tabla 2. Dosis de ingrediente activo (mg L⁻¹) de los fungicidas utilizados para preparar medio suplementado en una prueba de eficacia *in-vitro* para el control de *Pestalotiopsis* sp. procedente del cantón de Paquera, provincia de Puntarenas, 2022.

Table 2. Active ingredient doses (mg L⁻¹) of the fungicides used to prepare supplemented medium in an in vitro efficacy test for the control of *Pestalotiopsis* sp. from the canton of Paquera, Puntarenas province, 2022.

Fungicida	Código FRAC	Dosis comercial	50% dosis comercial	10% dosis comercial
		mg L ⁻¹		
Carbendazina	1	625	312,5	62,5
Azoxystrobina	11	687,5	343,8	68,8
Prochloraz	3	1125	562,5	112,5
Sulfato de cobre pentahidratado	M 01	41,3	20,6	4,1
Difenoconazole	3	500	250	50
Propineb	M 03	700	350	70
Testigo	-	0	0	0

Diseño experimental y análisis de datos

El diseño experimental fue irrestricto al azar con siete tratamientos (seis fungicidas y un control sin fungicida). Cada caja de Petri constituyó una unidad experimental y se utilizaron cinco repeticiones por tratamiento. Con los datos de crecimiento de micelio obtenido se calculó el porcentaje (%) de inhibición de crecimiento micelial (ICM) mediante la siguiente fórmula:

$$ICM (\%) = \left(\frac{Testigo - Tratamiento}{Testigo} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

donde *Testigo* es el crecimiento del tratamiento testigo (sin fungicida) y *Tratamiento* es el crecimiento sobre el medio suplementado con fungicida. Con los datos de porcentaje de inhibición obtenidos se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias Tukey con un nivel de significancia al 5%. Se comprobaron los supuestos del análisis de varianza (normalidad y homocedasticidad) mediante pruebas Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Los análisis anteriormente mencionados se realizaron utilizando el programa R version 4.3.1 (R Core Team, 2023) y RStudio 2023.06.0 versión 421 (Posit Team, 2023).

Resultados y discusión

Descripción de síntomas

Los síntomas observados en los frutos de guayaba (**Figura 2A**), tales como manchas necróticas y punteaduras de coloración café-rojizas, de relieve áspero y pudrición seca en estado avanzado sobre la superficie del fruto, con distribución aleatoria, corresponden con los descritos por Keith et al. (2006) para frutos afectados por *Pestalotiopsis*.

Identificación morfológica y molecular

Para los frutos analizados, se obtuvo de forma consistente colonias de apariencia blanca y algodonosa en medio de cultivo PDA (**Figura 2C**), en las cuales fue posible observar la formación de acérvulos que contenían conidios (**Figura 2B**). Mediante microscopía de luz, se observaron conidios con cuatro septos, presencia de dos a tres apéndices apicales y un apéndice basal, así como células mediales con coloración multicolor, lo cual corresponde con la morfología descrita por Maharachchikumbura et al. (2011) para especies del género *Pestalotiopsis* sp. Cabe señalar que, posteriormente, Maharachchikumbura et al. (2014) proponen la separación de *Pestalotiopsis* en tres géneros: *Pestalotiopsis*, *Neopestalotiopsis* y *Pseudopestalotiopsis*, trasladando especies con células mediales de coloración multicolor al género *Neopestalotiopsis*.

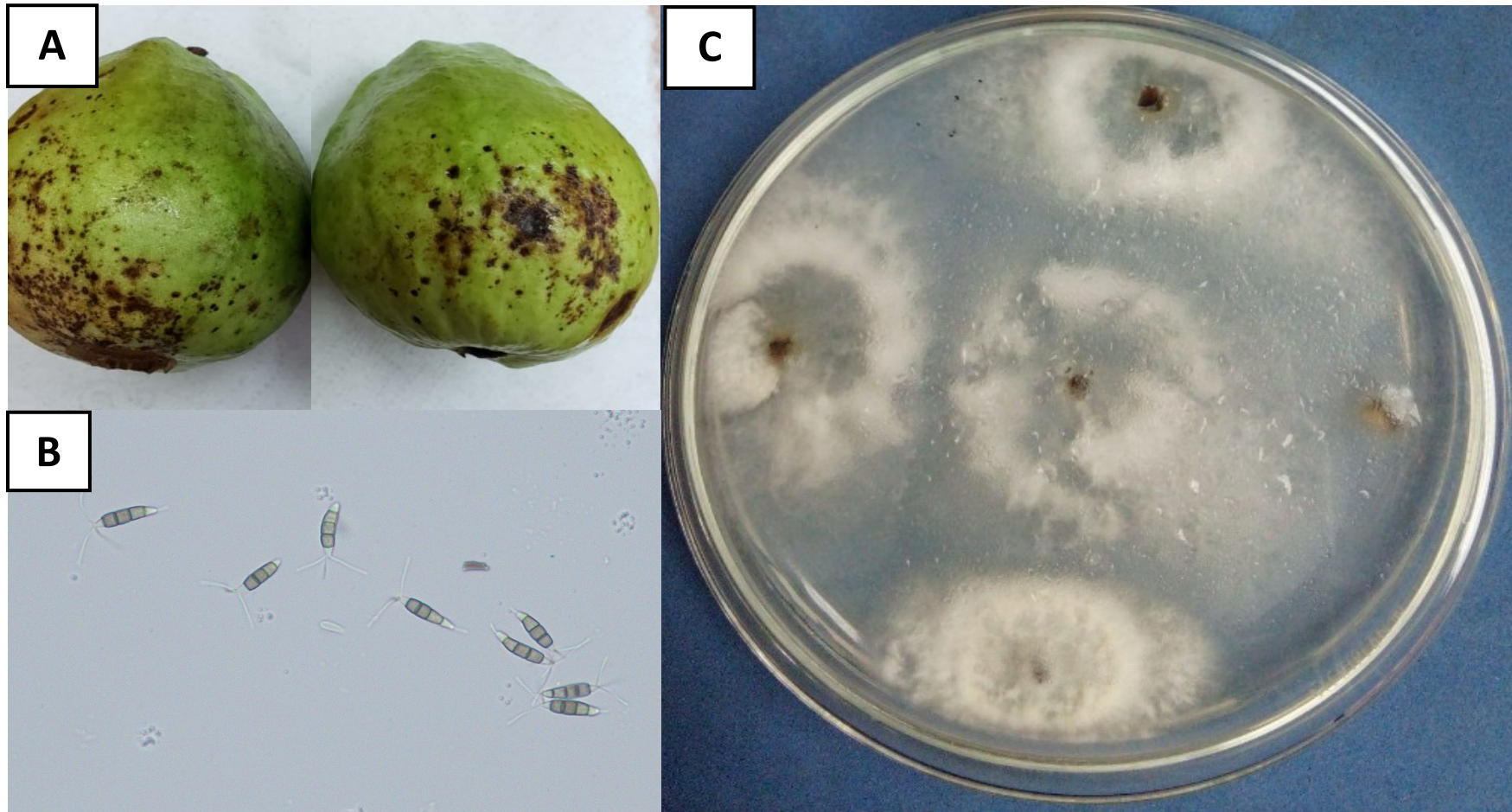


Figura 2. A) Lesiones circulares necróticas de la enfermedad conocida como “clavo” observados en guayaba taiwanesa variedad Tai-kuo-bar; B) Conidios de *Pestalotiopsis* sp. observados en el microscopio de luz (400X); y C) Colonias de *Pestalotiopsis* sp. obtenidas en medio de cultivo PDA a partir de las lesiones de una muestra de frutos procedente de Río Grande, cantón de Paquera, provincia de Puntarenas, 2022.

Figure 2. A) Circular necrotic lesions of the disease known as “clavo” observed in Taiwanese guava, variety Tai-Kuo-Bar; B) conidia of *Pestalotiopsis* sp. observed under a light microscope (400X); and (C) colonies of *Pestalotiopsis* sp. obtained on PDA culture medium from lesions of fruit samples collected in Río Grande, Paquera canton, Puntarenas Province, 2022.

Se han reportado diversas especies asociadas al fruto de guayaba: *Pestalotiopsis psidii* en Venezuela (Montiel, 1997), *Pestalotiopsis* sp. en Costa Rica (Morera-Montoya & Blanco-Metzler, 2009), *P. clavispora*, *P. microspora* y *P. disseminata* en Hawái (Keith et al., 2006), y *P. australasiae*, *Neopestalotiopsis surinamensis*, *N. egyptiaca* y *N. foedans* en Colombia (Solarte et al., 2018); por lo que se requieren estudios con una muestra de mayor tamaño para determinar la diversidad de especies que podrían estar afectando al cultivo de guayaba en la región productora de Paquera.

Las secuencias obtenidas utilizando los cebadores ITS4 y ITS5 fueron comparadas con las secuencias en la base de datos de NCBI y se determinó un 100% de similitud con las accesiones MT576586, MN421875, MK278906 y MH856535, que corresponden con *Neopestalotiopsis saprophytica*, *N. foedans*, *N. clavispora* y *Pestalotiopsis versicolor*. Esto constituye una identificación preliminar y se requiere realizar estudios que incorporen el análisis de secuencias con regiones de los genes ITS, beta-tubulina y el factor de elongación 1-alpha (Maharachchikumbura et al., 2011), con el objetivo de estudiar con mayor profundidad la diversidad de especies presente en la zona.

Eficacia *in-vitro*

Las dosis comerciales evaluadas mostraron un porcentaje de inhibición del crecimiento de micelio mayor al 90% para casi todos los fungicidas a excepción del Sulfato de cobre y carbendazina, los cuales obtuvieron 76,1% y 12,6%, respectivamente (**Figuras 3 y 4**). A la dosis comercial, los fungicidas azoxistrobina, difenoconazole y propineb no presentaron diferencias significativas entre sí, mientras que el prochloraz obtuvo un 100% de inhibición de crecimiento de micelio para las tres dosis, siendo el más efectivo de los ingredientes activos evaluados (**Figura 4**).

El uso de una dosis al 50% y 10% de la dosis comercial permite visualizar si el hongo presenta alguna tolerancia o resistencia al ser expuesto a dosis más bajas del fungicida. Se observó una significativa menor inhibición de crecimiento de micelio para sulfato de cobre y carbendazina, (9,4% y 5,1%, respectivamente) al utilizar el 10% de la dosis comercial. Por su parte, difenoconazole, prochloraz y propineb mostraron una inhibición del crecimiento de micelio superior al 85%, incluso, cuando se utilizó el 50% y 10% de la dosis comercial (**Figura 4**).

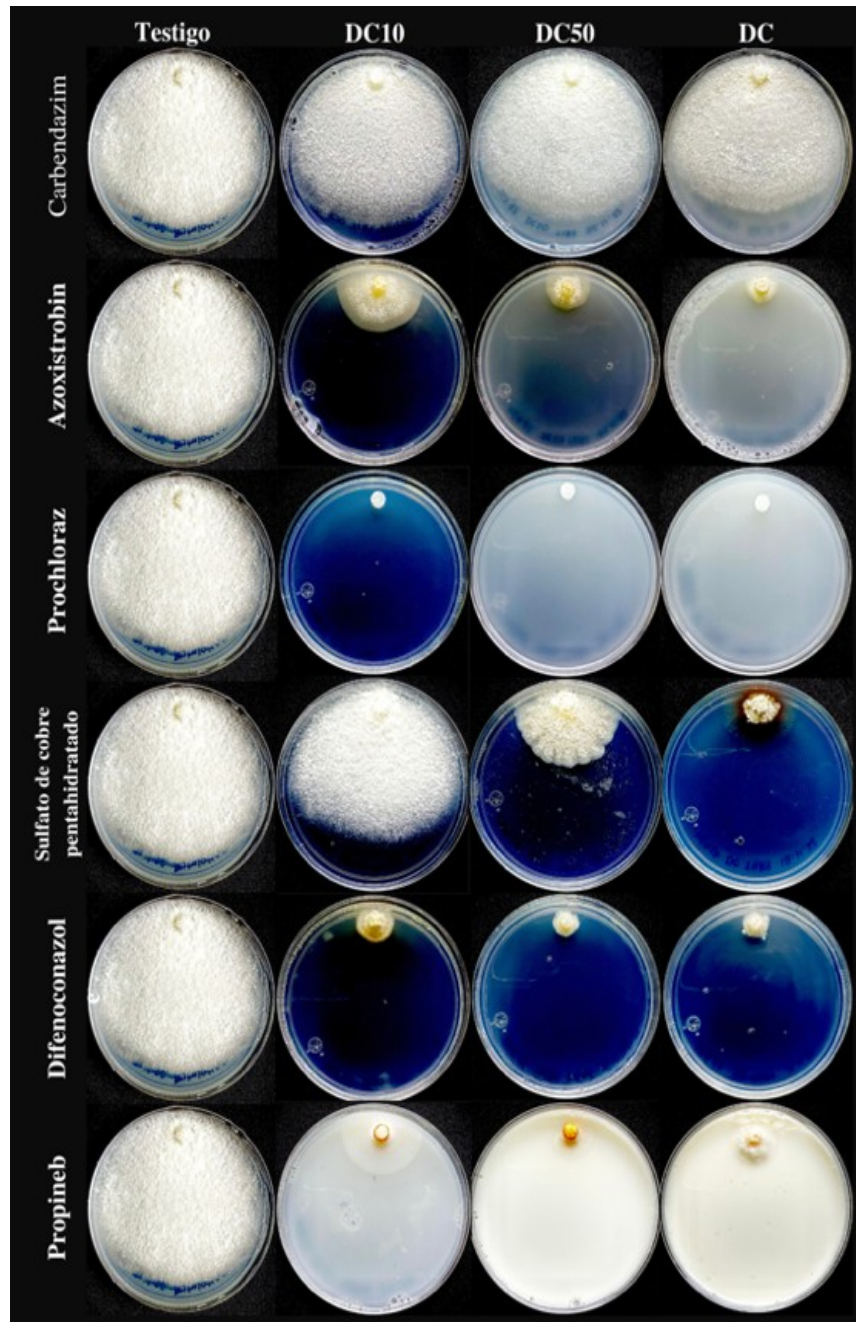


Figura 3. Crecimiento de micelio en medio suplementado con fungicidas a dosis comercial (DC), 50% de la dosis comercial (DC50) y 10% de la dosis comercial (DC10) para un cultivo de *Pestalotiopsis* sp. aislado a partir de frutos de guayaba taiwanesa variedad Tai-kuo-bar procedentes de Río Grande, distrito de Paquera, provincia de Puntarenas, 2022.

Figure 3. Mycelial growth on medium supplemented with fungicides at the commercial dose (CD), 50% of the commercial dose (CD50), and 10% of the commercial dose (CD10) for a culture of *Pestalotiopsis* sp. isolated from Taiwanese guava fruits, variety Tai-Kuo-Bar, collected in Río Grande, Paquera district, Puntarenas Province, 2022.

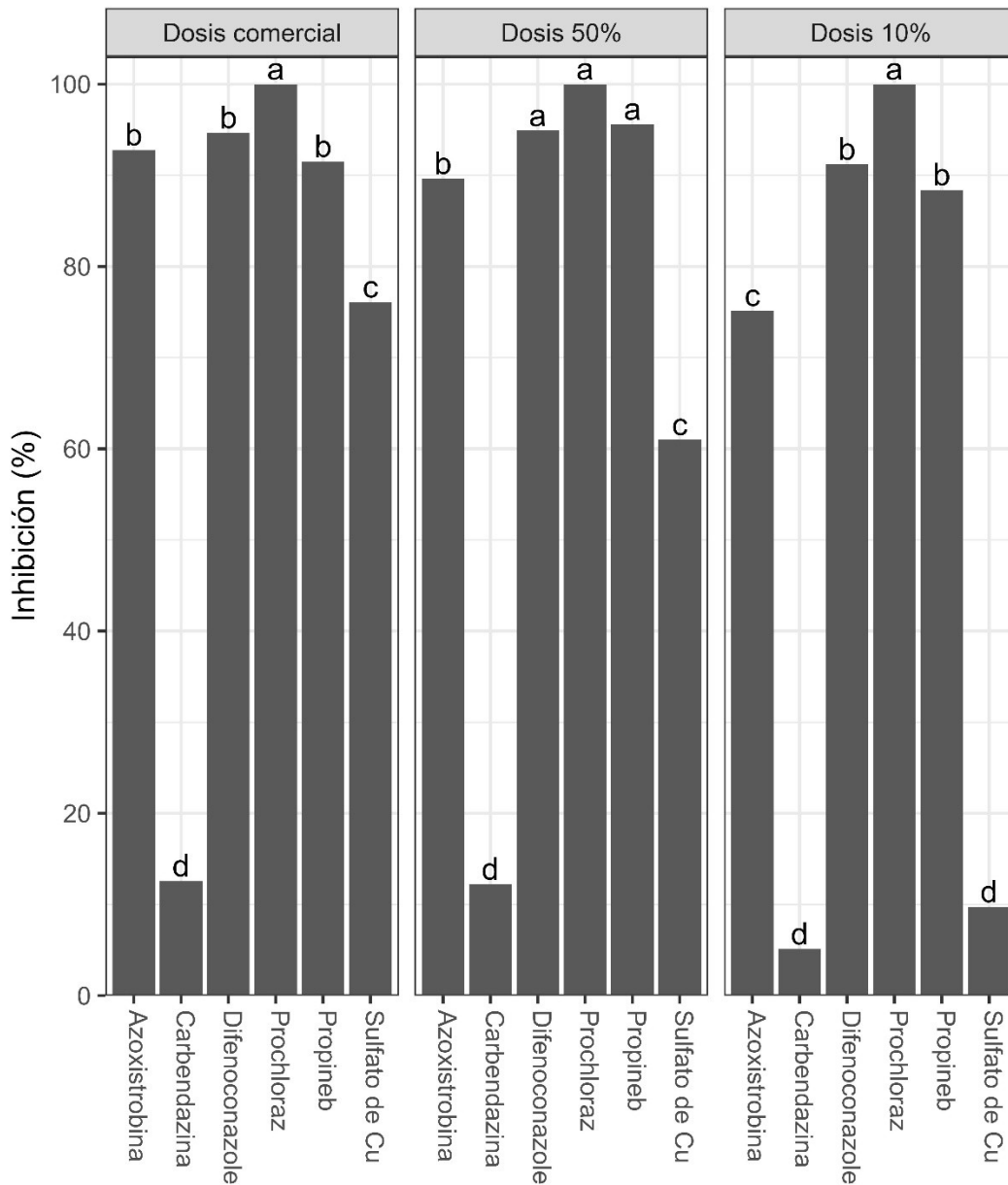


Figura 4. Porcentaje (%) de inhibición del crecimiento micelial utilizando seis fungicidas para un aislamiento de *Pestalotiopsis* sp. obtenido a partir de frutos de guayaba taiwanesa variedad Tai-kuo-bar procedentes de Río Grande, distrito de Paquera, provincia de Puntarenas, 2022. Letras distintas entre barras de una misma dosis indican diferencias significativas con prueba Tukey (alfa = 0,05).

Figure 4. Percentage (%) of mycelial growth inhibition using six fungicides for an isolate of *Pestalotiopsis* sp. obtained from Taiwanese guava fruits, variety Tai-Kuo-Bar, collected in Río Grande, Paquera district, Puntarenas Province, 2022. Different letters above bars within the same dose indicate significant differences according to Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

Los resultados obtenidos para el sulfato de cobre y carbendazina difieren de los obtenidos por Sethi et al., (2022), quien encontró alta eficacia de estos fungicidas (mayor al 90%) para el control de *Pestalotiopsis psidii* en India. El cobre, en sus diferentes formulaciones, es un fungicida utilizado como protectante con acción multi sitio y considerado como un fungicida de bajo riesgo para el desarrollo de resistencia (FRAC 2024). Sin embargo, existen reportes de hongos que pueden presentar alguna tolerancia al cobre mediante los mecanismos de precipitación extracelular, formación de complejos y cristalización, así como biosorción en las paredes celulares, los pigmentos y los polisacáridos extracelulares (Oliver & Beckerman, 2022). Por su parte, la carbendazina es un fungicida sistémico que afecta la formación del citoesqueleto y proteínas motoras requeridas para la mitosis, y es considerado un fungicida de alto riesgo de desarrollo de resistencia (FRAC, 2024). La resistencia a la carbendazina ocurre con alta frecuencia y en otros hongos se ha reportado que mutaciones en un solo aminoácido del gen de la beta-tubulina (E198A,G,K y F200Y) son responsables de conferir resistencia a este fungicida. El uso continuo de esta molécula en la plantación muestreada o en plantaciones vecinas, podría haber favorecido el desarrollo de resistencia. Sin embargo, se requieren estudios adicionales que permitan determinar el origen de la resistencia y estimar la frecuencia de aislamientos resistentes en la región de Paquera.

La azoxystrobina es un fungicida sistémico, que inhibe la respiración al interferir con el transporte de electrones en la membrana interna de la mitocondria, específicamente, en el complejo III, y se clasifica como un fungicida de alto riesgo de resistencia (FRAC, 2024). Utilizando solamente el 10% de la dosis comercial de azoxystrobina, se obtuvo un porcentaje de inhibición de crecimiento de micelio de 75%, el cual fue significativamente menor al observado para los fungicidas difenoconazole, prochloraz, y propineb (**Figura 4**). Sin embargo, se reporta que la azoxystrobina suele tener mayor eficacia en la inhibición de germinación de esporas, dado que la respiración que ocurre en la mitocondria es crucial para obtener la energía requerida en la formación del tubo germinativo, ya que esto ocurre en una etapa muy temprana cuando el hongo aún no tiene acceso a nutrientes por parte de la planta (Oliver & Beckerman, 2022). Se requieren estudios adicionales para determinar la eficacia para inhibir la germinación de conidios de las moléculas evaluadas en este estudio.

El fungicida prochloraz pertenece al grupo de los imidazoles y difenoconazole pertenece al grupo de los triazoles. Ambos son inhibidores de la desmetilación de la síntesis del ergosterol, el cual es un componente esencial en la membrana celular de los hongos (FRAC, 2024). Al tener el mismo código FRAC, no es recomendable utilizar ambos fungicidas en rotación debido al riesgo de resistencia cruzada.

El presente trabajo proporciona información sobre la presencia de *Pestalotiopsis* sp. asociado a los frutos de guayaba Taiwanesa, variedad Tai-kuo-bar en el distrito de Paquera, Puntarenas. Se requiere realizar más estudios tanto a nivel morfológico como molecular para conocer con más detalle la diversidad de especies que podrían estar presentes en esta zona del país. Por otra parte, es pertinente considerar el modo de acción de los fungicidas sistémicos que mostraron alta eficacia en este estudio (azoxystrobina, prochloraz, difenoconazole) y su grupo FRAC asociado (**Tabla 2**), para evitar aplicaciones sucesivas de fungicidas con el mismo código FRAC. Además, los resultados obtenidos preliminarmente indican que no sería recomendable utilizar el fungicida carbendazina, debido a la baja eficacia observada. En cuanto a los fungicidas protectantes multi sitio evaluados en este estudio (propineb y sulfato de cobre pentahidratado), el fungicida propineb podría brindar mayor eficacia en aplicaciones en campo con base en los resultados observados en este estudio.

Conclusiones

El presente estudio confirma la presencia del hongo *Pestalotiopsis* asociado a los frutos de guayaba taiwanesa variedad Tai-kuo-bar en el distrito de Paquera, provincia de Puntarenas. Dada la complejidad y diversidad de especies presentes dentro de este género, se requieren estudios adicionales que incorporen el análisis de secuencias obtenidas a partir de varios genes.

Los fungicidas azoxistrobina, prochloraz y difenoconazole mostraron ser alternativas de fungicidas sistémicos para el control químico de *Pestalotiopsis*. Sin embargo, debe tomarse en cuenta su modo de acción y código FRAC al momento de establecer una rotación de moléculas, y en particular, considerar que prochloraz y difenoconazole pertenecen al mismo grupo.

Preliminarmente, no se recomienda el uso de carbendazina dada la baja eficacia *in-vitro* observada en este estudio. El resultado observado sugiere que podrían existir aislamientos resistentes y se requieren estudios adicionales para confirmar el origen de la resistencia y determinar su frecuencia en la región.

En cuanto a los fungicidas protectantes multi sitio, propineb podría brindar una mayor eficacia en comparación al sulfato de cobre pentahidratado con base en los resultados obtenidos en este estudio.

Agradecimientos

Se agradece al Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección del Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos por la colaboración brindada en la identificación molecular. Se agradece a la Ing. Cristina González de la Agencia de Extensión Agrícola del MAG en Paquera por facilitar el enlace con los productores de Guayaba. Este trabajo se realizó como parte del proyecto de Acción Social ED-313 Fitopatología-Clinica de Diagnóstico con fondos en el proyecto 0641 de FundaciónUCR.

Literatura citada

- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi*. Burgess Publishing Company.
- Bhagal, S., Jarial, K., Jarial, R. S., & Banyal, S. K. (2022). Cultural analysis and growth kinetics of *Pestalotiopsis psidii* (Pat.) Mordue causing scabby fruit canker in guava (*Psidium guajava* L.). *Indian Phytopathology*, 75(3), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s42360-022-00501-z>
- Carabalí Muñoz, A., Canacuán Nasamuez, D. E., Montes Prado, M., Deantonio Florido, L. Y., Lesmes Suarez, J. C., Holguín, C. M., Sánchez Bernal, A. N., & Jaramillo Laverde, A. (2021). *Plagas y enfermedades de la guayaba (Psidium guajava) en Colombia*. AGROSAVIA.
- French, E. R., & Hebert, T. T. (1980). *Métodos de investigación fitopatológica*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA).
- Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). (2024). *FRAC code list 2024*. <https://www.frac.info/media/kufnaceb/frac-code-list-2024.pdf>
- González-Gaona, E., Silos-Espino, H., Perales-Segovia, C., Padilla-Ramírez, J., López-Muraira, I., & Acosta-Díaz, E. (2020). Control of guava cloves with plant extracts. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(2), 365-376. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i2.2071>
- Guzmán, L. (2014, agosto 7). COOPEPROGUATA exporta su guayaba taiwanesa. *Infocoop*. https://www.infocoop.go.cr/COOPEPROGUATA_EXPORTA
- 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.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC). (2015). *VI censo nacional agropecuario: cultivos agrícolas, forestales y ornamentales*. <https://onfcr.org/wp-content/uploads/media/uploads/documents/06.-cenagro-costa-rica.-cultivos-agricolas-forestales-y-ornamentales.pdf>
- Keith, L. M., Velásquez, M. E., & Zee, F. T. (2006). Identification and characterization of *Pestalotiopsis* spp. causing scab disease of guava, *Psidium guajava*, in Hawaii. *Plant Disease*, 90(1), 16-23. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0016>
- Maharachchikumbura, S. S., Guo, L. D., Chukeatirote, E., Bahkali, A. H., & Hyde, K. D. (2011). *Pestalotiopsis*—morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. *Fungal Diversity*, 50(1), 167-187. <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0125-x>
- Maharachchikumbura, S. S. N., Hyde, K. D., Groenewald, J. Z., Xu, J., & Crous, P. W. (2014). *Pestalotiopsis* revisited. *Studies in Mycology*, 79(1), 121-186. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.005>

- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). (2007). *Agrocadena de guayaba*. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/E70-9416.pdf>
- Montiel, A. (1997). *Pestalotiopsis psidii* (Pat.) Mordue causante de necrosis de frutos de guayabo (*Psidium guajava* L.) en plantaciones de los municipios Baralt y Mara del estado Zulia. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 14, 341-347.
- Morera-Montoya, R., & Blanco-Metzler, H. (2009). Microorganismos asociados a frutos embolsados de guayaba taiwanesa variedad Tai Kuo. *Agronomía Mesoamericana*, 20(2), 339-349.
- Oliver, R. P., & Beckerman, J. L. (2022). *Fungicides in practice*. CABI.
- Posit Team. (2023). *RStudio: Integrated development environment for R*. Posit Software, PBC. <https://posit.co/>
- Román, R., & Hwang, T. (1999). *Cultivo de la guayaba*. Instituto de Desarrollo Agrario & Ministerio de Agricultura y Ganadería.
- R Core Team. (2023). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Sánchez-Zúñiga, K., Castro-Piedra, S., Moreira-González, I., Arnáez-Serrano, E., Navarro-Hoyos, M., & Vargas-Huertas, F. (2017). Evaluación de las propiedades citotóxicas de un extracto de frutos de guayaba (*Psidium guajava* var. Tai-Kuo-Bar). *Tecnología en Marcha*, 30(4), 150-156.
- Sethi, B. P., Suryawanshi, J. S., Kale, A. N., Deokar, C. D., & Thakare, C. (2022). In vitro efficacy of different fungicides against *Pestalotiopsis psidii* causing fruit canker of guava (*Psidium guajava* L.). *Pharma Innovation Journal*, 11(6), 811-814.
- Solarte, F., Muñoz, C. G., Maharachchikumbura, S. S., & Álvarez, E. (2018). Diversity of *Neopestalotiopsis* and *Pestalotiopsis* spp., causal agents of guava scab in Colombia. *Plant Disease*, 102(1), 49-59. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-17-0068-RE>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications* (pp. 315-322). Academic Press.

