Informe Final Proyecto Extensión

Actualizado: Febrero 2025

1. **Portada**

Instituto Tecnológico de Costa Rica
Vicerrectoría de Investigación y Extensión
Dirección de Extensión

Informe Final del proyecto de Extensión de la Convocatoria de la Ley del Cemento (Inciso C)

VIE 1510191. Evaluación y transferencia de un recubrimiento protector postcosecha a base de quitosano contra *Botrytis cinerea* en bayas de interés comercial.

Periodo de ejecución: Mayo 2023-Diciembre 2024.

CiB CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA	**Equipo extensionista de la Escuela de Biología y el Centro de Investigación en Biotecnología:** Máster. Luis Barboza Fallas, Máster. Giovanni Garro Monge, Dr. Luis Alvarado Marchena, Dra. Karla Meneses Montero, Máster. Erick Vindas Reyes y Dr. Randall Chacón Cerdas (Coordinador).

Presentación del informe: Junio 2025.

2. Tabla de contenido

1. Portada 1
2. Tabla de contenido 2
3. Código, título del proyecto y periodo de ejecución 3
4. Autoría 3
5. Resumen 4
6. Abstract 4
7. Palabras clave y key words 5
8. Contextualización del proyecto 5
9. Estrategia de abordaje 8
10. Valoración general de los resultados obtenidos 10
11. Logro del propósito y los componentes 12
12. Logros no contemplados en el proyecto 14
13. Detalle de evidencias 14
14. Integración de la academia 15
15. Cumplimiento del plan de difusión 17
16. Ejecución Presupuestaria 18
17. Limitaciones y problemas encontrados 19
18. Lecciones aprendidas, conclusiones y recomendaciones 19
19. Agradecimientos 20
20. Referencias 20
21. Apéndices y anexos 23

3. Código, título del proyecto y periodo de ejecución

VIE 1510191. Evaluación y transferencia de un recubrimiento protector postcosecha a base de quitosano contra *Botrytis cinerea* en bayas de interés comercial. Mayo 2023-Diciembre 2024.

4. Autoría

Nombre	**Participación**	**Instancia académica o dependencia**	**Aportes específicos**
Máster. Luis Barboza Fallas	Extensionista (01-mayo-2023 al 31-diciembre-2024)	Escuela de Biología	Giras, aplicación de instrumentos de información, análisis de información, actividades con productores. Nota Técnica-Informativa.
Máster. Giovanni Garro Monge	Extensionista (01-mayo-2023 al 31-diciembre-2024)	Escuela de Biología	Giras, actividades con productores. Nota Técnica-Informativa.
Dr. Luis Alvarado Marchena	Extensionista (01-mayo-2023 al 31-diciembre-2024)	Escuela de Biología	Análisis de laboratorio, revisión de literatura, escritura de artículo, asesoría para tesiario involucrado. Nota Técnica-Informativa.
Dra. Karla Meneses Montero	Extensionista (01-enero-2024 al 31-diciembre-2024)	Escuela de Biología	Análisis de laboratorio, aplicación de instrumentos de información. Nota Técnica-Informativa.
Máster. Erick Vindas Reyes	Extensionista (15-enero-2024 al 31-diciembre-2024)	Escuela de Biología	Análisis de laboratorio, actividades con productores, nota Técnica-Informativa.
Dr. Randall Chacón Cerdas	Coordinación (01-mayo-2023 al 31-diciembre-2024)	Escuela de Biología	Giras, aplicación de instrumentos de información, análisis de información, actividades con productores. Escritura de artículo. Nota Técnica-Informativa. Actividades administrativas de la coordinación.

5. Resumen

El proyecto tuvo como propósito evaluar y transferir una tecnología postcosecha desarrollada en proyectos anteriores que consiste en la aplicación de un recubrimiento elaborado con biopolímeros, para reducir las pérdidas causadas por la pudrición gris en fresa, mora, frambuesa y arándano, enfocándose principalmente en los productores de la provincia de Cartago y sus necesidades agronómicas. El alcance incluyó la adaptación del recubrimiento, elaborado y validado previamente para fresa, a las necesidades de los frutos rojos en estudio, así como la verificación de su efectividad en condiciones de almacenamiento y la socialización de resultados con productores y actores de la agrocadena para finalmente disponer de producto de potencial uso para los beneficiarios.

La estrategia combinó la recopilación de información técnica mediante entrevistas y encuestas a productores, industriales y consumidores sobre la anuencia a consumir frutos rojos aplicados con un protector postcosecha, así como la definición de las características necesarias y deseables de este tipo de producto entre los actores de la agrocadena. Todos los sectores consultados coincidieron en que el que producto debe ser inocuo para el consumo humano y animal, no debe alterar las propiedades organolépticas de los frutos, debe ser fácil de aplicar y lavar, además de económicamente accesible. La evaluación de la efectividad antifúngica del recubrimiento en postcosecha confirmó que el producto logra ralentizar la proliferación del hongo causante de la pudrición principalmente en fresas y arándanos, cuando se aplica en dosis entre 2000-2500ppm, donde su efectividad permite alargar la vida útil de estas dos frutas en al menos 4-5 días y disminuye las pérdidas entre el 20-30%. Para el caso de la mora y la frambuesa, el recubrimiento no mostró resultados sobresalientes para atenuar el impacto del patógeno al utilizar concentraciones entre 1500-4000ppm. En las actividades de transferencia se entregaron muestras del producto y se compartieron los avances con los beneficiarios. Esto permitió fortalecer la relación con productores, se identificaron las principales necesidades del sector y se promovió la adopción de prácticas más sostenibles.

Las lecciones aprendidas destacan la importancia de la integración entre academia y productores, la necesidad de fortalecer las capacidades locales en manejo postcosecha, y los retos administrativos para la gestión de proyectos. Recomendamos continuar con investigaciones aplicadas y estrategias de formación técnica para mejorar la competitividad del sector de bayas.

6. Abstract

The project aimed to evaluate and transfer a postharvest technology developed in previous projects, consisting of the application of a biopolymer-based coating to reduce losses caused by gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries, blackberries, raspberries, and blueberries, with a primary focus on the needs of producers in the province of Cartago and their agronomic challenges. The scope included adapting the coating, previously developed and validated for strawberries, to the specific requirements of the other berries, verifying its effectiveness under storage conditions, and sharing

the results with producers and stakeholders across the berry value chain, ultimately providing a product with potential application for beneficiaries.

The strategy combined the collection of technical information through interviews and surveys with producers, industry stakeholders, and consumers regarding their willingness to accept berries treated with a postharvest coating, along with the definition of necessary and desirable characteristics for such a product according to different value chain actors. All sectors agreed that the product must be safe for human and animal consumption, not alter the fruit's organoleptic properties, be easy to apply and wash off, and be economically accessible. The evaluation of the coating's antifungal efficacy in postharvest trials confirmed that the product effectively slows the proliferation of *Botrytis cinerea*, particularly in strawberries and blueberries, when applied at concentrations of 2000-2500 ppm, extending shelf life by at least 4-5 days and reducing losses by 20-30%. For blackberries and raspberries, the coating did not show significant results in reducing pathogen impact at concentrations ranging from 1500-4000 ppm. In outreach activities, product samples were distributed, and project findings were shared with stakeholders. This process strengthened relationships with producers, identified the sector's primary needs, and promoted the adoption of more sustainable practices.

Key lessons highlight the importance of integrating academia and producers, the need to strengthen local capacity in postharvest management, and the administrative challenges in project implementation. We recommend continuing applied research and developing technical training strategies to improve the competitiveness of the berry sector.

7. Palabras clave y key words

Pudrición gris, *Botrytis cinerea*, frutos rojos, recubrimiento postcosecha

Gray mold, *Botrytis cinerea*, berries, postharvest coating

8. Contextualización del proyecto

La sostenibilidad del sector productor de bayas en el país se encuentra amenazada debido a pérdidas significativas causadas por el hongo *Botrytis cinerea* en todas las etapas de la agrocadena. Este fitopatógeno, conocido por producir la podredumbre gris, representa una de las principales amenazas para la producción de fresas, frambuesas, moras y arándanos. Su impacto negativo en la agrocadena ha alcanzado hasta $100 billones por año, siendo el segundo fitopatógeno de mayor relevancia mundial (Cheung et al., 2020). La enfermedad puede afectar las flores directamente (Kozhar and Peever, 2018; Hildebrand et al., 2001), así como los frutos tanto durante su desarrollo en la planta como en las etapas de almacenamiento y transporte, lo que incrementa la complejidad de su manejo (Petrash et al., 2019). Aunque al día de hoy no se cuenta con una estimación precisa del impacto económico y ambiental que esta enfermedad produce en Costa Rica (mediante algún censo agrícola reciente), al escuchar a los productores podemos constatar que nuestra situación es similar a la reportada en otras regiones productoras del mundo. Por ejemplo, hace cinco años en

California se documentó una reducción del 36% del área sembrada de fresas (en comparación con la década anterior) debido a esta enfermedad, lo que equivalió a pérdidas de $250 millones anuales para el sector durante ese periodo (Qushim et al., 2018). Para el caso de la frambuesa, el nivel de afectación oscila entre 20 y hasta el 70% de reducción del rendimiento (Kozhar and Peever, 2018; Dean et al., 2012). En Canadá, existe registro de que esta enfermedad es responsable del 20% de las pérdidas del mercado de arándanos (Abbey et al., 2020), mientras que Colombia reporta pérdidas en mora durante épocas críticas de producción que oscilan entre el 50% y el 76% (Isaza et al., 2019). El problema causado por *Botrytis cinerea* no solo tiene consecuencias económicas, sino que también representa desafíos ambientales y de salud pública debido a la aplicación masiva de múltiples fungicidas cerca de la cosecha. Además, el uso intensivo de estos productos químicos puede favorecer la aparición de cepas resistentes del patógeno complicando más la gestión de la enfermedad. De hecho, se estima que el control de esta patología representa el 8% del mercado global de fungicidas (Nishimoto et al., 2019).

El contexto geográfico de nuestra problemática son las zonas productoras de bayas del país, destacando la región del Gran Área Metropolitana (GAM) donde se cultivan fresas, frambuesas y arándanos, así como otras regiones importantes para la producción de mora como Cartago, Pérez Zeledón y Los Santos. Estas áreas son el hogar de cientos de productores, tanto pequeños como grandes, que dependen económicamente de la producción de estas frutas. Según datos recientes, el sector morero cuenta con alrededor de 1115 productores (Presidencia, 2022), mientras que la producción de fresa se distribuye en 335 fincas comerciales (INEC, 2015). Esta última, además, representa una fuente de sustento para muchas familias en la GAM. La mayoría de los productores de bayas combinan su actividad con las cuatro frutas de este estudio, y a falta de un inventario nacional o censo agrícola para el sector de bayas, no se cuenta con el área específica de siembra para cada baya ni datos generales de su productividad, razón por la que es difícil estimar el nivel de afectación.

Los productores más grandes que se involucran en la propuesta del proyecto también juegan un papel fundamental, ya que representan una porción significativa del sector agrícola de bayas y promueven estrategias de comercio justo que benefician a pequeños productores, además que nos permiten usar su fuerza de atracción de bloque para masificar la información aportada por los resultados de este proyecto de extensión. Esta es una de las razones para incorporar actores de múltiples perfiles en el proyecto.

La atención a esta problemática entonces la justificamos por varias razones. En primer lugar, la producción de bayas en el país es una actividad agrícola que proporciona ingresos a numerosas familias que contribuye al comercio local y con potencial para el internacional. Las pérdidas recurrentes debidas a la infección por *Botrytis* afectan directamente la actividad económica de los productores, el abastecimiento local y estabilidad de precios, así como la competitividad del sector para la pequeña porción de estas frutas que se exporta. Además, la dependencia de fungicidas presenta riesgos ambientales y de salud que requieren la implementación de métodos más sostenibles para el manejo de enfermedades.

Desde nuestra institución consideramos que tenemos la capacidad técnica y el conocimiento para apoyar al sector beneficiario a través de soluciones innovadoras y sostenibles, uniendo nuestra experiencia en sistemas de producción agrícola, biotecnología, formulación y mejoramiento de bioinsumos, y diseño de experimentos enfocados en el sector agrícola. Este proyecto es, por tanto, pertinente no solo por las pérdidas económicas que intenta mitigar, sino también por el impulso que busca dar a prácticas agrícolas más sostenibles y responsables con el medio ambiente. De manera que coincide con el propósito de nuestra institución de contribuir positivamente al desarrollo del país, su economía, la industria y el ambiente.

El propósito principal del proyecto fue adaptar y transferir un producto post cosecha diseñado para combatir la pudrición en bayas causada por el hongo *Botrytis cinerea*. De esta forma se buscó aplicarlo para proteger las frutas de la infección postcosecha, mejorando así la calidad del producto hasta que llegue al consumidor final. El producto base de la investigación es el recubrimiento postcosecha que se desarrolló en la primera etapa (Proyecto VIE 1510168: Ensayos de uso de quitosano estructurado para medir factibilidad como antifúngico contra *Botrytis cinerea* en plantas de fresa (Periodo: Julio 2022-Junio 2023)), donde se obtuvieron resultados promisorios en fresa y gracias a este primer proyecto se verificó la necesidad de ampliar este recubrimiento a otras frutas de igual o más sensibilidad a la enfermedad en estudio. Para aplicar el recubrimiento en arándano, mora y frambuesa, así como optimizar detalles en fresa, se debía adaptar la formulación y la dosificación en función de la severidad y rapidez de la enfermedad para cada baya. Posteriormente transferir el conocimiento generado a los productores beneficiarios e incentivar el trabajo conjunto para que adopten la tecnología en sus prácticas agrícolas.

El proceso de desarrollo del producto incluyó la colaboración activa de productores, consumidores e industriales del sector para asegurar que el recubrimiento se adapte a las necesidades específicas de cada etapa de la agrocadena de bayas. Los extensionistas-investigadores juegan un papel clave en la evaluación y adaptación del prototipo de recubrimiento, trabajando en conjunto con los productores para garantizar su efectividad. Los principales resultados esperados incluyen la implementación de un tratamiento postcosecha efectivo que reduzca significativamente las pérdidas de frutos causadas por *Botrytis cinerea*. Se espera que esta innovación no solo mejore la rentabilidad para los productores al reducir la dependencia de fungicidas, sino que también fomente prácticas agrícolas sostenibles y seguras para el medio ambiente y la salud pública. A través de la colaboración entre productores, extensionistas y científicos, el proyecto busca crear una solución escalable y adaptable que pueda beneficiar a toda la agroindustria de bayas del país, garantizando productos de mayor calidad y seguridad para el consumo.

9. Estrategia de abordaje

A continuación, se presentan las actividades de la estrategia de abordaje que se realizaron para el logro de los componentes del proyecto:

C1: Establecer y sistematizar los requisitos técnicos del recubrimiento para el control postcosecha del hongo *Botrytis cinerea* en cuatro bayas de interés comercial (fresa, frambuesa, mora y arándano) basados en criterios de productores, industriales y consumidores.

1.1. Entrevistas a productores, industriales y consumidores finales de bayas.
Mediante el uso de cuestionarios y entrevistas dirigidas se generaron fichas técnicas con los requerimientos y características deseables para la formulación de recubrimientos postcosecha que buscan mejorar la vida útil de las bayas en estudio. La información se obtuvo de la experiencia de los productores, los industriales y los consumidores relacionados.

Las preguntas de la entrevista realizada a productores e industriales se detallan en el apéndice 01. La encuesta aplicada a los consumidores finales se detalla en el apéndice 01.

1.2. Sistematizar la información compilada mediante las entrevistas y encuestas.
El análisis de la consulta aplicada a productores e industriales se detallan en el apéndice 01, así como la estadística descriptiva de los resultados de la encuesta aplicada a los consumidores finales.

1.3. Confeccionar las fichas técnicas de especificaciones del recubrimiento.
Con la información analizada de las herramientas de consulta se confeccionaron las fichas técnicas base para la adaptación y evaluación del recubrimiento para las bayas del estudio. Ver detalle en el apéndice 02.

C2: Sistematizar el impacto de *Botrytis cinerea* sobre la producción de las bayas en estudio.

2.1. Recopilación y análisis de información del sector sobre el impacto de *Botrytis* en la producción de las bayas en estudio.

Mediante entrevistas con productores se recolectó información sobre el nivel de afectación de *Botrytis cinerea* en la producción de las bayas en estudio. Parte de los datos que se consultaron fueron: Tamaño de la producción, Nivel de afectación, Tipo de control actual implementado, Impacto económico de la enfermedad en el manejo del cultivo.

Además, se realizó la investigación sobre datos históricos y registros publicados para el análisis del escenario local en cuanto al efecto de la enfermedad en el sector. A partir del conjunto de la información se generó una publicación informativa sobre el contexto actual y la relevancia de manejar esta enfermedad de forma sostenible. Esta nota se encuentra en

proceso de revisión en el medio de divulgación InvestigaTEC, el cual, según la edición del medio de comunicación, es consultada por productores agrícolas (apéndice 03).

C3: Evaluar el efecto antifúngico del recubrimiento de quitosano (prototipo actual) en las frutas en estudio.

3.1. Evaluación de efectividad en las condiciones de cada fruta.

Se formularon lotes del recubrimiento de quitosano (prototipo actual) para establecer ensayos sobre las bayas en estudio. Para cada fruta se ensayaron cinco concentraciones del ingrediente activo y un control sin recubrimiento (0, 1500, 2000, 2500, 3000 y 4000 ppm). Estas dosis se establecieron tomando en cuenta los resultados del proyecto previo 1510168 y los estudios previos que han evaluado la capacidad del ingrediente activo en dosis variables en función de la interacción patógeno-polímero (0, 500, 1000, 2000 ppm) (Jia et al., 2016; Muñoz y Moret, 2010; Reglinski, et al., 2010), siguiendo metodologías ya probadas para este tipo de evaluación (Alves et al., 2013).

Cinco grupos de 10 frutas se sumergieron por separado en la solución del recubrimiento por un minuto y luego se colocaron al flujo de aire a temperatura ambiente para promover el secado del exceso de la solución. Luego del secado se colocaron en recipientes plásticos del tipo *AirBasket* para fruta fresca y se refrigeraron a 4-6°C simulando condiciones de almacenamiento antes de llegar al consumidor final. Esto se repitió cuatro veces para cada concentración del ingrediente activo y para cada fruta en estudio. Cada prueba incluyó un control sin recubrimiento con la misma cantidad de frutas.

Se realizó la evaluación de la contaminación secuencial de los grupos contabilizando el porcentaje de frutas visiblemente afectadas por el hongo *Botrytis cinerea* por un periodo de 13 días hasta que el control alcanzó la contaminación total. Para verificar el estado de la fruta se inspeccionó cada una con pinzas de forma meticulosa y se evaluó la variable binaria *Contaminado/No contaminado* según el parámetro de presencia visible de micelio y maceración de tejido.

Se realizó un análisis estadístico de comparación mediante chi-cuadrado para verificar si el progreso de la pudrición en el tiempo es similar entre las dosis evaluadas. Además, se realizaron pruebas de proporciones en puntos de la curva seleccionados y a los 13 días cuando finalizó la observación. El detalle de los resultados se presenta en el apéndice 04.

C4: Transferir resultados a los beneficiarios del proyecto.

4.1 Organizar y realizar actividad de transferencia de resultados.

Se organizaron y realizaron las siguientes actividades para transferir los resultados:

- Reunión y charla de resultados asociados a los componentes del proyecto donde se socializaron los principales hallazgos con los grupos de productores beneficiarios. En esta actividad además se realizó una actividad de grupo focal con los productores para compilar necesidades relacionadas para el manejo de enfermedades y prácticas agrícolas (Evidencias en el apéndice 05).
- Se publicó una nota sobre el impacto de *Botrytis cinerea* en las bayas en estudio, en el medio de comunicación InvestigaTEC (Evidencias en el apéndice 03).
- Se realizó una actividad demostrativa del uso del recubrimiento para obtener criterio de usuarios y retroalimentación. Con esto se buscó interacción que promoviese la alianza entre los grupos asistentes para disponer de una estrategia que implemente de forma adecuada el aprovechamiento de los resultados. En esta actividad se repartieron muestras del prototipo del recubrimiento para que los productores realicen pruebas propias en sus productos y según sus particularidades de manejo postcosecha (Evidencias en el apéndice 06).
- Se participó en una reunión en la Corporación Hortícola Nacional para socializar los resultados del proyecto y para repartir muestras del recubrimiento postcosecha (Evidencias en el apéndice 07).

10. Valoración general de los resultados obtenidos

Atendiendo a la indicación de esta sección nos enfocaremos en un abordaje general, de manera que los detalles específicos se retoman en los resultados de los apéndices que muestran los análisis técnicos correspondientes.

El proyecto logró contribuir a la atención de la problemática de las pérdidas económicas y de calidad asociadas a la pudrición gris causada por *Botrytis cinerea* en los cultivos de fresa, mora, frambuesa y arándano en la región de mayor actividad agrícola de Cartago. Lo anterior mediante la adaptación y transferencia de un recubrimiento postcosecha basado en biopolímeros. Este producto, previamente validado en fresa, fue optimizado para su uso en diferentes frutas rojas, considerando la diversidad de sistemas de cultivo, condiciones climáticas y prácticas agrícolas reportadas por los productores. Desde un enfoque cualitativo, la participación activa de productores, industriales y consumidores fue clave para identificar las necesidades reales del sector. Las entrevistas y encuestas revelaron una alta disposición a adoptar tecnologías postcosecha, siempre que estas sean seguras para la salud humana y animal, no alteren las características sensoriales de los frutos, y sean prácticas y económicamente viables. Esta retroalimentación permitió establecer criterios técnicos claros para el recubrimiento, como la facilidad de aplicación, la posibilidad de lavado, y la extensión mínima de vida útil deseada (entre 4 y 7 días adicionales). Este consenso fue fundamental para el diseño final del producto.

A nivel cuantitativo, los ensayos demostraron que la aplicación del recubrimiento en concentraciones entre 2000 y 2500 ppm logra reducir significativamente la incidencia de pudrición

por *Botrytis* en fresa y arándano, alcanzando una disminución de pérdidas entre un 20% y 30% en comparación con los controles. En estas frutas, se observó una extensión de la vida útil promedio de 4 a 5 días, lo que representa un impacto directo en la reducción de pérdidas postcosecha y en la mejora de la calidad del producto disponible para el consumidor final. Por el contrario, los resultados en mora y frambuesa no mostraron una reducción significativa en la severidad de la enfermedad, incluso con concentraciones de hasta 4000 ppm, lo que sugiere la necesidad de explorar formulaciones adicionales o estrategias complementarias de manejo para estas especies más susceptibles.

El trabajo con los productores permitió identificar retos adicionales que limitan la adopción de prácticas postcosecha efectivas, como la falta de conocimiento técnico específico, la baja disponibilidad de soluciones adaptadas al clima tropical y las limitaciones económicas para invertir en insumos innovadores. Las tres actividades de transferencia de resultados, que incluyeron reuniones de grupo focal, entrega de muestras del recubrimiento y espacios de discusión técnica, fueron fundamentales para fortalecer las capacidades locales y fomentar la adopción de prácticas más sostenibles. Mediante las diferentes actividades logramos establecer un grupo de 13 productores de frutos rojos que activamente participaron y quieren seguir participando en proyectos de investigación y extensión, lo cual nos orienta sobre las prioridades para ellos.

Con la información obtenida se seleccionaron los datos sobre nivel de afectación por cultivo y la proporción de la inversión en control químico que representa para los productores lidiar con esta enfermedad. A esta información se le sumó aspectos sobre la importancia del patógeno a nivel mundial y se construyó una nota técnica-informativa sobre la amenaza que también representa para para la producción nacional de frutos rojos.

Paralelamente se logró colaborar con los productores en la identificación de una plaga que está proliferando en la zona, y se reportó mediante un artículo científico como la presencia de *Drosophila suzukii* en la zona norte de Cartago y la Zona de Los Santos. Esto permitió también que un pasante de la Universidad Nacional realizara su Tesis de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía dentro de nuestro laboratorio en el CIB.

Durante el proyecto contamos con el apoyo de cuatro estudiantes asistentes en diferentes niveles y se logró trasladar el conocimiento generado a la docencia mediante la incorporación de ejercicios y temas relacionados con postcosecha en los cursos afines.

Como una conclusión general, los resultados del proyecto validan la efectividad del recubrimiento postcosecha en fresa y arándano como una herramienta prometedora para mitigar las pérdidas por pudrición, aportando a la sostenibilidad económica y ambiental del sector de bayas. El impacto logrado sienta las bases para futuras investigaciones y transferencias tecnológicas orientadas a mejorar el manejo de enfermedades postcosecha en sistemas de producción de frutas en Costa Rica, con un enfoque participativo y adaptado a las condiciones locales.

11. Logro del propósito y los componentes

PROPÓSITO: Evaluar y transferir el recubrimiento a base de quitosano para el control postcosecha del hongo *Botrytis cinerea* en cuatro bayas de interés comercial (fresa, frambuesa, mora y arándano).				
Componentes	**Actividades**	**Indicadores**	**% Logro**	**Comentarios**
01: Establecer y sistematizar los requisitos técnicos del recubrimiento para el control postcosecha del hongo *Botrytis cinerea* en cuatro bayas de interés comercial (fresa, frambuesa, mora y arándano) basados en criterios de productores, industriales y consumidores.	1.1 Entrevistar a productores, industriales y encuestar consumidores finales de bayas.	1.1.1 Ocho entrevistas realizadas a productores e industriales y 109 encuestas realizadas a consumidores finales.	**100%**	La información colectada de los consumidores finales también se socializó con los productores para validar su percepción.
	1.2 Sistematizar la información compilada mediante las entrevistas y encuestas.	1.2.1 Un documento resumen donde se presentan los principales hallazgos de las entrevistas y encuestas.		Se presenta en el apéndice 01.
	1.3 Confeccionar las fichas técnicas de especificaciones del recubrimiento.	1.3.1 Una ficha de requerimientos técnicos basada en criterios de productores, industriales y consumidores para el prototipado de recubrimientos postcosecha para las bayas incluida en el estudio (fresa, frambuesa, mora y arándano).		Se presenta en el apéndice 02.

02: Sistematizar el impacto de *Botrytis cinerea* sobre la producción de las bayas en estudio.	2.1 Recopilación y análisis de información del sector sobre el impacto de *Botrytis* en la producción de las bayas en estudio.	2.1.1. Una nota técnica con la información sistematizada y resumida del impacto de la enfermedad causada por *Botrytis* en las bayas en estudio.	**100%**	Ver apéndice 03 donde se incluye la información base internacional sobre la afectación de las bayas por la enfermedad en estudio y la situación nacional con respecto a la información proporcionada por los productores.
03: Evaluar el efecto antifúngico del recubrimiento de quitosano (prototipo actual) en las frutas en estudio.	3.1 Evaluar la efectividad en las condiciones de cada fruta.	3.1.1. Un documento resumen que reúne los datos procesados estadísticamente sobre la efectividad del recubrimiento de quitosano adaptado a los requerimientos de los frutos de fresa, frambuesa, mora y arándano.	**100%**	Ver apéndice 04 donde se detallan los análisis estadísticos de efectividad de las dosis del recubrimiento aplicado en las cuatro frutas en estudio.
		3.1.2 Una dosis de recubrimiento adaptada según su actividad antifúngica para cada fruta en estudio.		Ver apéndice 04 donde se detallan los análisis estadísticos de efectividad de las dosis del recubrimiento aplicado en las cuatro frutas en estudio.
04: Transferir resultados a los beneficiarios del proyecto.	4.1 Organizar y realizar actividad de transferencia de resultados.	4.2.1 Una actividad de transferencia de resultados realizado con productores y agroindustriales beneficiarios del proyecto.	**100%**	Ver apéndices 05, 06 y 07 donde se organizaron actividades con los productores para la presentación de resultados, entrega de muestras del producto, y recolección de información relevante sobre las necesidades del sector de bayas.

12. Logros no contemplados en el proyecto

Como parte de la colaboración que se estableció con los productores fue posible ayudarles en la identificación de una plaga que está en la zona y es una amenaza para los frutos rojos, especialmente para la mora y la frambuesa. Logramos colectar e identificar morfológica y molecularmente el insecto plago como Drosophila suzukii, la cual no estaba reportada en nuestro país. A partir de esto se redactó y publicó un artículo científico donde hicimos el reporte correspondiente: Chacón-Cerdas, R., González-Herrera, A., Alvarado-Marchena, L., & González-Fuentes, F. Report of the establishment of Drosophila suzukii (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) in Central America. Entomological Communications 2024, 6, ec06003. https://doi.org/10.37486/2675-1305.ec06003. (Ver apéndice 11)

A partir de este trabajo paralelo se generó una tesis de licenciatura en Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional.

Se estableció además un grupo de colaboración con 13 productores de frutos rojos de la zona norte de Cartago y la zona de los Santos, esto es la base para presentar nuevas propuestas en atención a sus necesidades técnicas.

13. Detalle de evidencias

Refiérase a las actividades realizadas que evidencien los logros que se alcanzaron.

Fecha de actividad/Gira/ reunión	**Número de apéndice / enlace / carpeta / respaldo digital**
Gira 01 de campo a la zona norte de Cartago	NA
Reunión con productores e industriales en el ITCR. Presentaciones de la estrategia de abordaje del proyecto y aplicación de entrevistas en grupo focal a septiembre 2023.	Apéndice 05
Gira 02 de campo a la zona norte de Cartago	NA
Gira 03 de campo a la zona norte de Cartago	NA
Gira 04 de campo a la zona norte de Cartago	NA
Reunión de resultados a noviembre de 2024 en un encuentro con productores en el ITCR para realizar inventario de necesidades del sector agrícola de bayas, colecta de datos y entrega de prototipo de recubrimiento para los productores.	Apéndice 06

Reunión con miembros de la Corporación Hortícola Nacional (CHN) el 12 de febrero del 2025 para establecer nuevos puntos de colaboración en temas de proyectos de extensión y presentar resultados específicos del proyecto actual. Bases para la negociación de la potencial producción del recubrimiento para abarcar más productores a través de la CHN.	Apéndice 07
Gira 05 de campo a la zona de Los Santos	NA

14. Integración de la academia

Participación de estudiantes asistentes

Nombre del estudiante	Carrera	Actividades realizadas
María Laura Mora Fallas	Bachillerato en Ingeniería en Biotecnología TEC	• Asistencia en la formulación de los recubrimientos y el monitoreo de los ensayos en laboratorio. • Asistencia en la preparación de consumibles, desinfección de fruta y preparación de soluciones de trabajo. • Asistencia en la convocatoria de productores a las reuniones.
Álvaro León Ávila	Bachillerato en Ingeniería en Biotecnología TEC	• Asistencia para el registro de datos y evidencias sobre el progreso de los ensayos de recubrimiento en laboratorio. • Asistencia en la búsqueda de referencias bibliográficas recientes sobre el patógeno en estudio. • Asistencia en la convocatoria de productores a las reuniones.
Sebastián Ávila Parageles	Bachillerato en Ingeniería en Biotecnología TEC	• Asistencia para el registro de datos y evidencias sobre el progreso de los ensayos de recubrimiento en laboratorio.
José Fernando Vásquez Carvajal	Licenciatura en Ingeniería Agronómica UNA	• Asistencia en las colectas de fruta y la selección para ensayo. • Asistencia a giras de colecta de material vegetal. • Selección de muestras contaminadas con larvas para actividades adicionales y complementarias del proyecto.

Participación de estudiantes con trabajos de grado y posgrado

Nombre de obra	Tipo de obra (TFG, prácticas de especialidad, Tesis)	Autores	Enlace al documento
Como parte de las actividades complementarias del proyecto nació la necesidad de monitorear una potencial plaga detectada en diversas fincas de los productores en las mismas giras de colecta de fruta, lo cual también parece estar asociado con la diseminación de la enfermedad de pudrición en la fruta. Esto derivó en un TFG para uno de los asistentes del proyecto: *Análisis de la migración y distribución de Drosophila suzukii en Costa Rica con trampeos y determinación de relaciones filogenéticas*.	Trabajo Final de Graduación bajo la modalidad de Artículo Científico para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Costa Rica.	José Fernando Vásquez Carvajal	Ver apéndice 08.

Participación de estudiantes de cursos de grado o posgrado

Curso	Carrera	Objetivo del curso	Actividades realizadas (giras académicas, proyectos de cursos, actividades de clase)	Evidencias (enlace al documento)
Análisis Estadístico para Biotecnología	Bachillerato en Ingeniería en Biotecnología	Generar conocimientos generales, destrezas y habilidades necesarias para la aplicación de la estadística como herramienta para la resolución de problemas específicos en biotecnología	Actividad de clase: ejercicios utilizando datos del proyecto.	Ver apéndice 09.
Fisiología Vegetal	Bachillerato en Ingeniería en Biotecnología	El objetivo general del curso es que el estudiante comprenda, analice y aplique conceptos básicos de la fisiología vegetal para resolver problemas biotecnológicos, diseñar estrategias de manejo de plantas y mejora de procesos de producción vegetal.	Actividad de clase: Estudio de caso sobre la reacción de plantas ante patógenos-Caso *Botrytis cinerea* en función de la condición climatérica de los frutos.	Ver apéndice 10.

15. Cumplimiento del plan de difusión

A continuación, se resumen las acciones de divulgación que implicó el proyecto.

Nombre de obra	Tipo de obra	Estado (aceptado por publicar y publicado)	Base de datos de indexación	Nombre de Evento	Contó con Comité científico (Si ó No)
Reunión con productores e industriales en el ITCR. Presentaciones de la estrategia de abordaje del proyecto y aplicación de entrevistas en grupo focal a septiembre 2023.	----	----	----	----	----
Chacón-Cerdas, R., González-Herrera, A., Alvarado-Marchena, L., & González-Fuentes, F. Report of the establishment of *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) in Central America. Entomological Communications 2024, 6, ec06003. https://doi.org/10.37486/2675-1305.ec06003	Artículo científico	Publicado	Latindex	----	Sí
Erick Vindas-Reyes; Karla Meneses-Montero; Luis Alvarado Marchena; Giovanni Garro-Monge; Luis Barboza-Fallas; Randall Chacón-Cerdas. El hongo de la Pudrición gris (*Botrytis cinerea*): amenaza creciente para el cultivo de frutos rojos en Costa Rica. En revisión en el medio InvestigaTEC	Nota técnica informativa	Sometida y en revisión	----	----	Si
Reunión de resultados a noviembre de 2024 en un	----	----	----	----	----

encuentro con productores en el ITCR para realizar inventario de necesidades del sector agrícola de bayas, colecta de datos y entrega de prototipo de recubrimiento para los productores.					
Reunión con miembros de la Corporación Hortícola Nacional (CHN) el 12 de febrero del 2025 para establecer nuevos puntos de colaboración en temas de proyectos de extensión y presentar resultados específicos del proyecto actual. Bases para la negociación de la potencial producción del recubrimiento para abarcar más productores a través de la CHN.	----	----	----	----	----

16. Ejecución Presupuestaria

Esta información está basada en el estado de presupuesto SIVAD a la fecha consultada de 28 de mayo de 2025.

Partida específica	Monto solicitado (Colones)	Monto ejecutado (Colones)	Porcentaje ejecución	Justificación
2-01-99-01 Otros productos químicos y conexos	1 721 838	1 719 056	99.84%	Los reactivos se licitaron según precios de cotización y cuando se compraron finalmente se seleccionaron aquellas ofertas con el mejor precio que podía no ser la misma opción de la cotización, lo cual provocó que se devolvieran saldos al proyecto en el mes de octubre cuando prácticamente no se podía comprar mucho más. Pero se modificaron los saldos hacia alimentos y bebidas para poder cubrir el evento de cierre de 2024.
2-02-03-01 Alimentos y Bebidas	558 162	547 000	98.00%	Se hizo una modificación de presupuesto para cubrir la alimentación de la actividad de finales del 2024
	2 280 000	2 266 056	99.4%	

17. Limitaciones y problemas encontrados

Uno de los retos encontrados fue la coordinación con los productores, ya que regularmente existen temporadas comerciales altas y bajas, principalmente a finales de año hay menor disponibilidad para hacer reuniones de seguimiento o eventos de entrega de resultados. No obstante, se logró la participación de varios productores que aportaron mucho valor al proyecto en cuanto a la estrategia de aplicación y la información actualizada de sus cultivos y manejo.

Las compras del proyecto fue otra limitación, ya que el sistema de compras te obliga a esperar trámites consolidados, los tiempos de entrega los proveedores en ocasiones no los respetan, los procesos se declaran sin oferente y hay que empezar a correr contra el tiempo, las solicitudes de bienes se le deben hacer correcciones, no hay seguridad que te apliquen las modificaciones de presupuesto a tiempo, los cierres de compras del departamento de aprovisionamiento te dan una ventana de tiempo reducida, no se conoce el remanente de presupuesto hasta que prácticamente no hay tiempo para comprar más y todo eso repercute en la ejecución global del presupuesto y por ende en la adquisición de los insumos, materiales, reactivos y otros que ocupas para cumplir con todas las actividades.

El sistema de remuneración del TEC también fue un problema, en nuestro proyecto contamos con personas interinas que esperaron más de dos meses para recibir el salario adecuadamente y esto ocasionó desmotivación, problemas económicos entre los investigadores que sumó innecesariamente estrés a la ejecución global.

18. Lecciones aprendidas, conclusiones y recomendaciones

Parte del aprendizaje nos deja de recomendación gestionar mejor las agendas para lograr integrar la mayor cantidad de productores posibles a las actividades de extensión. También, mejorar la coordinación con los entes técnicos para reclutar más productores y aprovechar la información base disponible en estas instituciones para mejorar la toma de decisiones y complementarnos más.

Definitivamente se debe encontrar la forma de que los procesos de contratación y compra de los proyectos sean más ágiles, incluir más ítems dentro de las licitaciones abreviadas, encontrar alguna figura administrativa que simplifique el trámite de caja chica. Una planeación de compras previas al inicio de los proyectos podría adelantar los procesos, quizás en diciembre se puedan pre-fabricar las órdenes de compra del siguiente año y habilitar los presupuestos desde el primer día de trabajo.

Con los productores del sector de bayas que hemos trabajado detectamos y priorizamos los temas de mayor relevancia para ellos, de manera que hemos incorporado en todas las reuniones como buena práctica siempre hacer una evaluación de necesidades, para ir madurando y negociando con ellos los futuros proyectos, evitando que las actividades dentro de los objetivos sean ocurrencias desactualizadas de los extensionistas/investigadores y que realmente

respondan al estado actual del sector agrícola. El control fitosanitario, nutrición eficiente, manejo de suelos y la producción sostenible son algunas de las prioridades del sector de bayas. Muchos de estos temas se han debilitado por falta de información, investigación y extensión en los cultivos ya consolidados y los emergentes.

19. Agradecimientos

Los extensionistas queremos agradecer a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del ITCR por el financiamiento del proyecto, su apoyo logístico y administrativo, así como la orientación de parte de sus colaboradores para trámites de compras y gestiones. Agradecemos también a todos los y las productoras que aportaron su tiempo y conocimiento para apoyarnos en el cumplimiento de los objetivos, incluyendo las personas y empresa que donaron fruta, permitieron el establecimiento de ensayos en sus fincas y nos brindaron datos importantes para compilar la información agronómica de la enfermedad en estudio. La valiosa colaboración de los estudiantes, asistentes técnicos, y colegas que aportaron ideas y su trabajo para poder completar satisfactoriamente los objetivos. El apoyo de los colegas del Comité Técnico del Centro de Investigación en Biotecnología y las autoridades de la Escuela de Biología, que gracias a su gestión proactiva lograron facilitar las actividades de extensión de este tipo.

20. Referencias

Alves, E., L. Gilvaine-Ciavareli, E. Ampélio-Pozza & M. de Carvalho-Alves. 2013. Scanning Electron Microscopy for Fungal Sample Examination, p. 133–150. In Vijai Kumar Gupta, Maria G. Tuohy, Manimaran Ayyachamy, Kevin M. Turner & Anthonia O'Donovan (eds.). Laboratory Protocols in Fungal Biology.

Jia, R., Duan, Y., Fang, Q., Wang, X., & Huang, J. 2016. Pyridine-grafted chitosan derivative as an antifungal agent. Food chemistry, 196, 381-387. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.053.

Muñoz, Z., & Moret, A. 2010. Sensitivity of *Botrytis cinerea* to chitosan and acibenzolar-S-methyl. Pest management science, 66(9), 974-979. https://doi.org/10.1002/ps.1969.

Reglinski, T., Elmer, P. A. G., Taylor, J. T., Wood, P. N., & Hoyte, S. M. 2010. Inhibition of *Botrytis cinerea* growth and suppression of botrytis bunch rot in grapes using chitosan. Plant Pathology, 59(5), 882-890. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02312.x.

Cheung N, Tian L, Liu X, Li X. The Destructive Fungal Pathogen *Botrytis cinerea*-Insights from Genes Studied with Mutant Analysis. Pathogens. 2020 Nov 7;9(11):923. https://doi.org/10.3390/pathogens9110923.

Presidencia. 2022. Túnel de congelado rápido mejorará producción de mora en Cartago, Los Santos y Pérez Zeledón. Consultado el 01-3-2023. Disponible en: https://www.presidencia.go.cr/comunicados/2022/01/tunel-de-congelado-rapido-mejorara-produccion-de-mora-en-cartago-los-santos-y-perez-zeledon/.

INEC. 2015. Censo Nacional Agrícola 2014 de Costa Rica. Cultivos Agrícolas: Total de fincas con cultivo de fresa por extensión sembrada y cosechada en hectáreas, según provincia. Consultado el 01-3-2023. Disponible en: https://inec.cr/estadisticas-fuentes/censos/censo-agropecuario-2014?filtertext=fresa.

Qushim B., Wu F., Guan Z., Peres N. 2018. The economic impact of botrytis fruit rot on strawberry production in Florida; Proceedings of the 2018 Annual Meeting; Jacksonville, FL, USA. 2–6 February 2018.

Petrasch S, Knapp SJ, van Kan JAL, Blanco-Ulate B. Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*. Mol Plant Pathol. 2019 Jun;20(6):877-892. https://doi.org/10.1111/mpp.12794.

Nishimoto R. Global trends in the crop protection industry. J Pestic Sci. 2019 Aug 20;44(3):141-147. doi: 10.1584/jpestics.D19-101.

Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., and Foster, G. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Mol. Plant Pathol. 13:414-430. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x

Kozhar, O and Peever, T. L. 2018. How Does *Botrytis cinerea* Infect Red Raspberry? Ecology and Epidemiology, 108(11): 1287-1298. https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-18-0016-R.

Abbey, Joel; Percival, David; Asiedu, Samuel K; Prithiviraj, Balakrishnan; and Schilder, Annemiek. 2020. Management of Botrytis blossom blight in wild blueberries by biological control agents under field conditions. Crop Protection, 131: 105078. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105078.

Isaza, L; Zuluaga, Y.P; and Marulanda, M.L. 2019. Morphological, pathogenic and genetic diversity of *Botrytis cinerea* Pers. in blackberry cultivations in Colombia. Rev. Bras. Frutic., 41(6): (e-490). http://dx.doi.org /10.1590/0100-29452019490.

Hildebrand, P. D., McRae, K. B., & Lu, X. (2001). Factors affecting flower infection and disease severity of lowbush blueberry by *Botrytis cinerea*. Canadian Journal of Plant Pathology, 23(4), 364–370. https://doi.org/10.1080/07060660109506957

Li L, Wang L, Li J, Jiang S, Wang Y, Zhang X, Ding J, Yu T, Mao S. (2014). Insights into the mechanisms of chitosan-anionic polymers-based matrix tablets for extended drug release. Int J Pharm. 2014 Dec 10;476(1-2):253-65. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.09.057.

Lopez-Moya F, Suarez-Fernandez M, Lopez-Llorca LV. (2019). Molecular Mechanisms of Chitosan Interactions with Fungi and Plants. Int J Mol Sci. 15;20(2): 332. https://doi.org/10.3390/ijms20020332.

Rajestary, R., Landi, L., & Romanazzi, G. (2021). Chitosan and postharvest decay of fresh fruit: Meta-analysis of disease control and antimicrobial and eliciting activities. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 20(1), 563-582. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12672.

Herrera-Romero, I., Ruales, C., Caviedes, M., & Leon-Reyes, A. (2017). Postharvest evaluation of natural coatings and antifungal agents to control *Botrytis cinerea* in *Rosa* sp. Phytoparasitica, 45(1), 9-20. https://doi.org/10.1007/s12600-017-0565-2.

21. Apéndices y anexos

01: RESULTADOS DE REQUERIMIENTOS PARA PROTECTOR POST-COSECHA.

Presentación: Este apéndice es un documento técnico que reúne los principales hallazgos de la consulta a diferentes actores de la agro-cadena de las frutas incluidas en este estudio: fresa, mora, frambuesa y arándano. Su objetivo es determinar aspectos relevantes a la hora de aplicar productos postcosecha a manera de barrera para proteger la vida útil y calidad de estas frutas. Las personas entrevistadas desempeñan diferentes roles en la agro-cadena, participando como productores, industriales, consumidores finales, o con varios de estos roles al mismo tiempo.

Se aplicó un grupo focal y entrevistas dirigidas donde se colectó la información para definir las características básicas y deseables que debía cumplir el recubrimiento de las frutas según los diferentes actores consultados. Uno de ellos, los productores, los cuales debido a las condiciones del mercado también industrializan sus frutas (mínimamente procesadas (lavado, empacado, troceado)) y las comercializan vendiéndolas en supermercados, verdulerías o mediante venta directa a consumidores que las usan para consumo en casa o para fabricación de subproductos procesados.

En el caso de consumidores, se estableció un cuestionario con preguntas cerradas y abiertas que se distribuyó en una población meta, donde se realizó el inventario de requerimientos que las personas perciben valiosos para adquirir fruta con tratamiento postcosecha.

Las definiciones de los roles de los actores de la agrocadena se detallan a continuación:

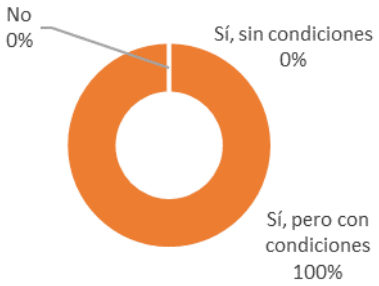
- **Definición de productor:** Dirige el cultivo de plantas de fresa, mora, frambuesa o arándano orientado a obtener una ganancia comercial; se involucra en la adquisición de material de propagación, el manejo de agroquímicos, el riego, la evaluación y selección de materiales, la cosecha, y la toma de decisiones agronómicas.
- **Definición de industrial:** Está a cargo de procesar las frutas, y bajo esta etapa agrega más valor al producto mediante operaciones de diverso impacto, estas operaciones pueden ser mínimas como el lavado, troceado y empaque para consumo fresco, o transformación completa mediante cocción y mezcla en alimentos procesados. Además, puede también participar de la distribución de la fruta o sus derivados hasta los puntos de venta.
- **Definición de comerciante:** Se define el perfil del comerciante como aquella persona o empresa que vende las frutas o sus derivados en un punto de venta físico estacionario o móvil, o por canal virtual, gestiona la rotación de inventario y coloca el precio para el consumidor final.

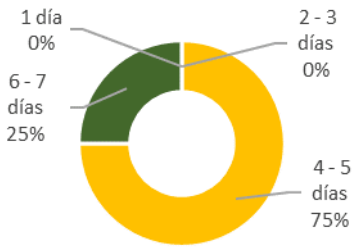
- **Definición de consumidor final:** Se define el perfil del consumidor final como aquella persona que compra fruta fresca o productos procesados donde estas frutas están en los primeros tres ingredientes.

Resultados de las entrevistas y grupo focal a los productores e industriales para la selección de características deseables en el recubrimiento postcosecha.

Se realizó una reunión con actores de la agro-cadena de las frutas en estudio con roles de productores/industriales/comerciantes en diversas proporciones. Se realizaron preguntas generadoras donde principalmente se anotaron las características que debía tener un producto que se utilice como protector postcosecha contra pudrición causada por *Botrytis*. En la Tabla 1 a continuación se presentan los resultados de la información obtenida.

Tabla 1. Resultados de la consulta a productores/industriales.

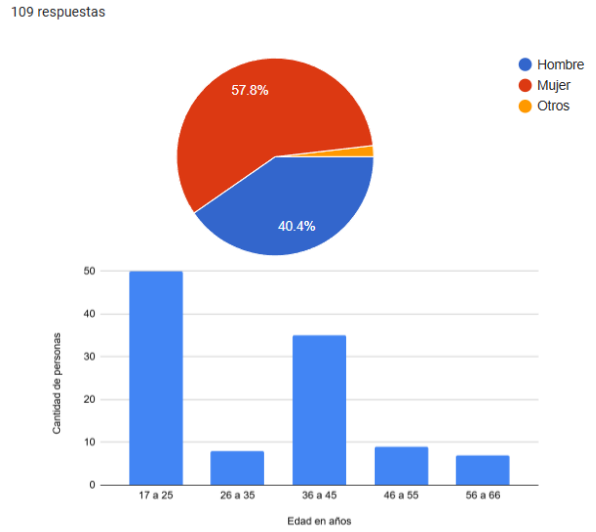
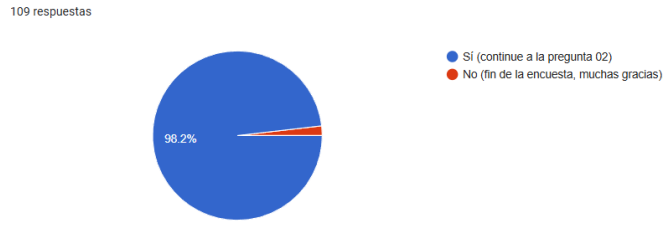
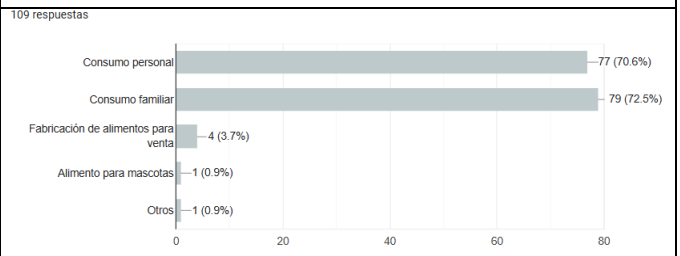
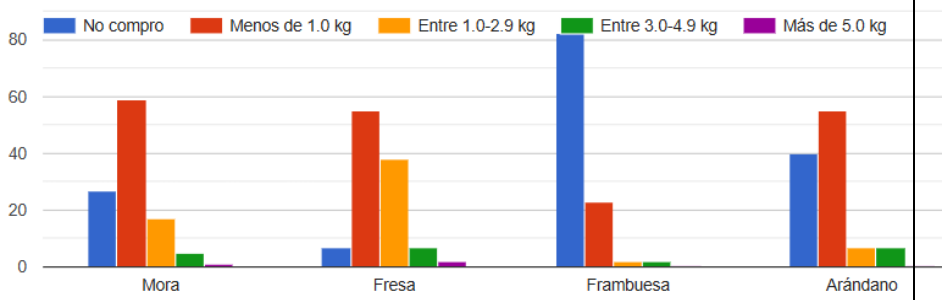
Preguntas	Opciones / Abierta	Resultados (n=8)
Pregunta 01: ¿Usaría usted un recubrimiento postcosecha para proteger las frutas (fresa, mora, frambuesa, arándano) de la pudrición por *Botrytis* y con esto aumentar la vida útil?	• Sí, sin condiciones • Sí, pero con condiciones • No	
Pregunta 02: En caso de que su respuesta anterior fuera afirmativa y condicionada, mencione cuales serían las características **obligatorias** que debería tener ese producto:	Respuesta abierta	• No tóxico para las personas. • No debe cambiar el sabor, consistencia, color ni olor de la fruta o sus derivados. • Sea biodegradable en poco tiempo. • Fácil de aplicar y de lavar. • Que la calidad sea constante.
Pregunta 03: En caso de que su respuesta 01 fuera afirmativa y condicionada, mencione cuales serían las características **deseables** que debería tener ese producto:	Respuesta abierta	• No debe incrementar el costo de producción de forma significativa. • Vida útil larga que permita almacenar el producto incluso a temperatura ambiente. • Disponible para pedidos de forma rápida.

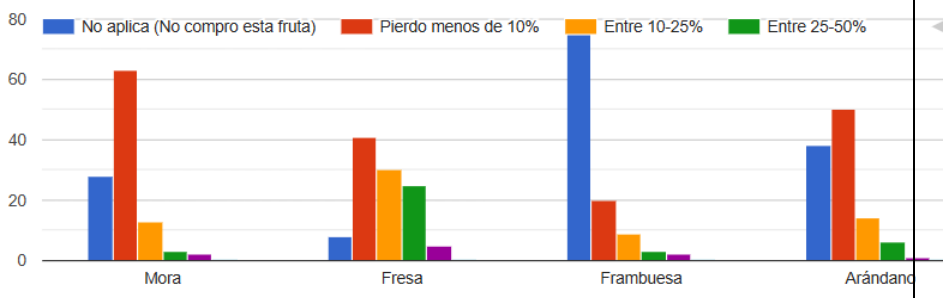
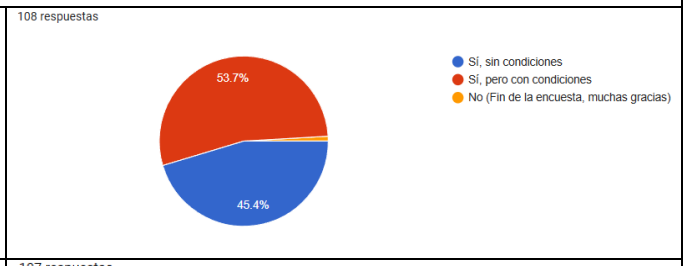
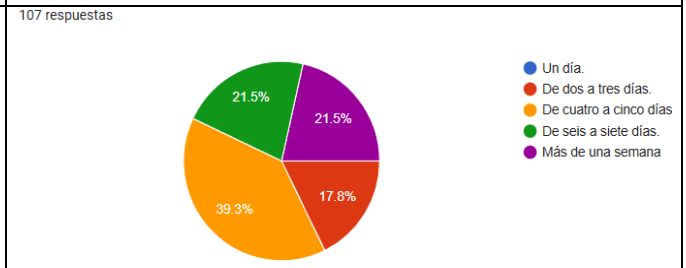
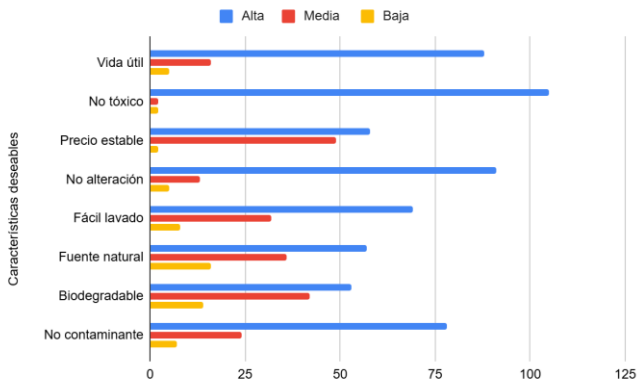
Pregunta 04: Pensando en el propósito del recubrimiento postcosecha, ¿Cuánto sería la cantidad mínima de días en que se debería aumentar el tiempo de vida útil de las frutas para que el producto postcosecha sea comercialmente interesante?	• Un día. • De dos a tres días. • De cuatro a cinco días. • De seis a siete días.	
Pregunta 05: De acuerdo con su respuesta de la pregunta 4, ¿Cuál sería la principal razón para seleccionar la cantidad de días mínimos de vida útil extendida?	Respuesta abierta	• La fruta refrigerada llega a los hogares de los consumidores con mayor probabilidad de ser utilizada. • Permitiría realizar envíos con tiempos de transporte mayores a un día, incluso fuera del país. • Se supera el tiempo que el supermercado exige al productor para *recall* de fruta por pudrición.
Pregunta 06: Además de los argumentos de la pregunta 05, ¿Existen otros beneficios relacionados con el uso de esta tecnología?	Respuesta abierta	• Menos desperdicio de alimentos con lo que ayudaría a la economía de los hogares. • Consumo de fruta y sus derivados más sanos que contiene menos toxinas de hongos y menos químicos postcosecha. • Posibilidades de aplicar este tipo de tratamiento a otras frutas y verduras con problemas similares.

Resultados de la encuesta aplicada a los consumidores finales para la selección de características deseables en el recubrimiento postcosecha.

Se estableció una encuesta dirigida al consumidor final, enfocado en la persona que compra y consume fruta fresca. Se caracterizó demográficamente la muestra, se consultó por sus preferencias de consumo, la cantidad de fruta que compra y aspectos relacionados con su percepción y potencial aceptación de fruta que ha sido aplicada con el protector postcosecha en estudio. A continuación, se resumen los resultados más relevantes (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados de la consulta a consumidores finales.

Preguntas	**Resultados (N=109)**
Complete los siguientes datos demográficos.	
Pregunta 01: ¿Compra fruta fresca de mora, frambuesa, fresa, arándano, o productos derivados de estas?	
Pregunta 02: En caso de que usted compre fruta fresca (mora, frambuesa, fresa, arándano), ¿Cuál es el propósito de su compra?	
Pregunta 03: En caso de que usted compre fruta fresca (mora, frambuesa, fresa, arándano) indique las cantidades mensuales aproximadas.	

Pregunta 04: Además, ¿Cuánto de la fruta que compra no logra consumir debido a que se pudre rápidamente antes de que la pueda utilizar? Indique los porcentajes.	
Pregunta 05: ¿Consumiría usted fruta fresca o sus derivados, si fueran tratadas en su etapa postcosecha con un protector contra la pudrición, de forma que aumenten su vida útil?	
Pregunta 06: Pensando en el propósito del recubrimiento postcosecha para las frutas frescas, ¿Cuánto sería la cantidad mínima de días en que se debería aumentar el tiempo de vida útil para lograr un mejor aprovechamiento?	
Pregunta 07: En caso de que usted considere viable consumir frutas con el recubrimiento natural protector ¿Cuáles serían las características que debe tener ese producto? Califique cada una de las siguientes características propuestas según el nivel de prioridad baja, media o alta.	• Sea eficiente prolongando la vida útil de las frutas. • No tóxico para las personas ni animales. • No incremente de forma exagerada el precio de las frutas o sus derivados. • No debe cambiar el sabor, consistencia, color ni olor de la fruta o sus derivados. • Se pueda lavar fácilmente cuando se consume la fruta fresca. • Sea de origen natural. • Sea biodegradable en poco tiempo. • No contamine el ambiente. 

02: FICHA TÉCNICA DE LAS FRUTAS SEGÚN CARACTERÍSTICAS DE VIDA ÚTIL, EMPAQUE, EVIDENCIA DE DETERIORO Y REQUERIMIENTOS POSTCOSECHA ASOCIADOS.

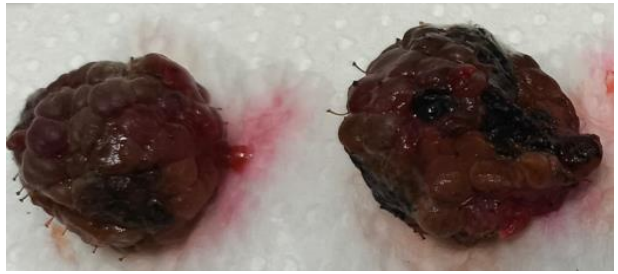
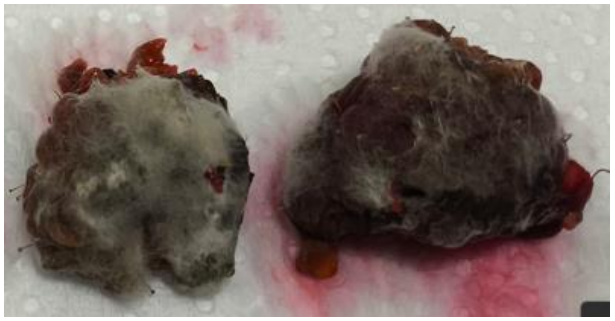
En la tabla 3 se presenta información postcosecha relacionada con el desempeño esperado del recubrimiento.

Tabla 3. Fichas resumen de características de las frutas en estudio asociadas a la expectativa del recubrimiento postcosecha.

Fruta	Características de vida útil en refrigeración (0-5°C + 90-95% HR).	Presentación más frecuente para consumo al detalle	Características de empaque	Evidencia de deterioro por pudrición	Requerimiento post-cosecha
Arándano	2-3 semanas	Bandejas plásticas (125-500 g) con producto fresco para consumo inmediato, bolsas resellables (250-1000g) con frutas congeladas.	Envases plásticos ventilados, resistentes a aplastamiento, transparentes, con perforaciones para respiración.	Piel arrugada, pérdida de brillo y firmeza, manchas oscuras, moho.	Ralentizar el inicio del deterioro de la fruta en al menos cinco días.

Fruta	Características de vida útil en refrigeración (0-5°C + 90-95% HR).	Presentación más frecuente para consumo al detalle	Características de empaque	Evidencia de deterioro por pudrición	Requerimiento post-cosecha
Mora	3-5 días	Bandejas plásticas (125-250 g) con fruta lista para consumo, bolsas plásticas transparentes selladas manualmente con fruta congelada (500-1000g)	Envases plásticos rígidos, con ventilación, transparentes, resistentes a aplastamientos, dimensiones de mayor ancho que alto.	Pérdida de firmeza y brillo, pudrición blanda, olor fermentado, crecimiento de moho y levaduras.	Aumentar la vida útil de la fruta en al menos siete días.

Fruta	Características de vida útil en refrigeración (0-5°C + 90-95% HR).	Presentación más frecuente para consumo al detalle	Características de empaque	Evidencia de deterioro por pudrición	Requerimiento post-cosecha
Fresa	5-7 días	Bandejas plásticas (250-1000 g) con fruta lista para consumo, tarros plásticos con fruta congelada para restaurantes que consumen a granel (5-25kg)	Envases plásticos ventilados, con tapas ajustadas, transparentes, con buen drenaje para evitar acumulación de humedad. Los envases para venta a granel pueden o no tener ventilación y son de plásticos de alta densidad reutilizable y esterilizable.	Manchas de apariencia acuosas, despigmentación, ablandamiento y sinéresis, coloración marrón, presencia de moho blanco y gris.	Aumentar la vida útil de la fruta en al menos cinco días.

Fruta	Características de vida útil en refrigeración (0-5°C + 90-95% HR).	Presentación más frecuente para consumo al detalle	Características de empaque	Evidencia de deterioro por pudrición	Requerimiento post-cosecha
Frambuesa	2-5 días	Bandejas plásticas (125-250 g).	Envases plásticos rígidos, ventilados, con soporte interno para evitar aplastamiento y con almohadilla absorbente retardadora en caso de sinéresis, sin perforaciones.	Pérdida de firmeza, manchas acuosas, olor a fermentación, moho blanco y gris.  	Aumentar la vida útil de la fruta en al menos cinco días.

03: EVIDENCIA DE LA NOTA TÉCNICA-INFORMATIVA SOBRE EL IMPACTO DE *BOTRYTIS* A NIVEL NACIONAL.

La información sobre el impacto de las enfermedades fúngicas asociadas con pudrición en fruta y flores se maneja de forma general por parte de los productores, de manera que la mayoría de los registros de pérdidas están ligadas al complejo de hongos que se controla químicamente en el cultivo de bayas, por lo que no es preciso el impacto de únicamente el hongo *Botrytis cinerea* sobre la producción de las bayas en estudio. Sin embargo, basados en los reportes científicos sobre la alta incidencia de *Botrytis cinerea* en la etapa de cosecha y postcosecha, se puede asumir que es el principal responsable de los síntomas de pudrición reportados por los agricultores.

La información disponible de otros países, junto con la recopilación de datos de los productores, fue la base de la nota técnica que se redactó para actualizar la información del impacto de la enfermedad causada por *Botrytis cinerea* en las frutas del estudio. A continuación, se presenta la nota técnica generada.

------ INICIO DE LA EVIDENCIA DE LA NOTA TÉCNICA ----

ESTA INFORMACIÓN TIENE UN EMBARGO HASTA DICIEMBRE DE 2025 DEBIDO A QUE ESTÁ EN PROCESOD DE REVISIÓN PARA PUBLICACIÓN EN REVISTA

---- FIN DE LA NOTA TÉCNICA GENERADA ----

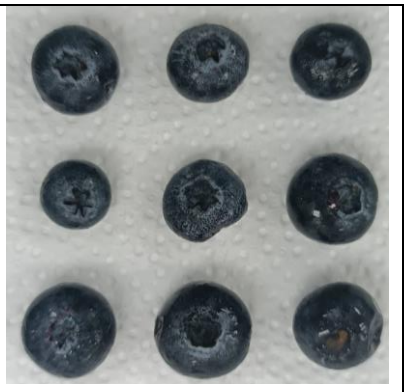
04: RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE CINCO DOSIS DE INGREDIENTE ACTIVO Y UN CONTROL POR FRUTA EN ESTUDIO.

En las tablas 5-8 se resumen los principales resultados de los ensayos multidosis del efecto del recubrimiento post-cosecha en la porcentaje de pudrición progresiva.

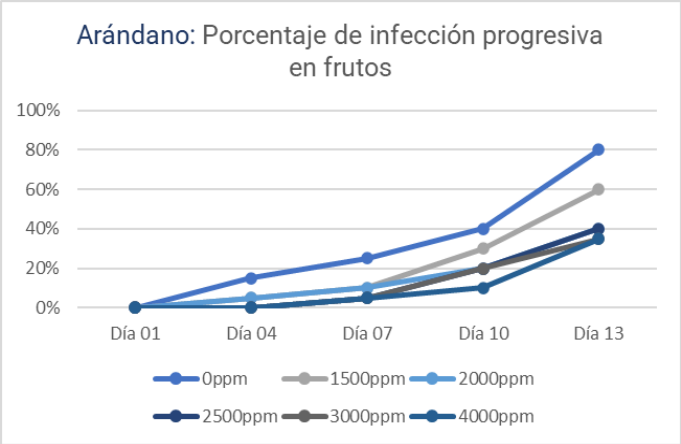
Tabla 5. Resultados de los ensayos multidosis del efecto del recubrimiento post-cosecha en la porcentaje de pudrición progresiva en arándanos.

Principal resultado: La dosis de 2000ppm mantiene el 90% de los arándanos consumibles en la primera semana y la pudrición se manifiesta luego de dos semanas en menos del 40%. Esta es la dosis recomendada debido a que es estadísticamente equivalente a las dosis mayores (p>0.050) y es significativamente diferente al control (p<0.05 pudrición regular de fruta que no fue aplicada con el recubrimiento).

A pesar de que la dosis de 1500ppm también fue significativamente mejor que el control, su porncentaje de contaminación fue estadísicamente mayor que el de 2000ppm.



Monitoreo en el tiempo:



Análisis estadístico:

La prueba de chi-cuadrado indicó que existió diferencia significativa entre el progreso de la pudrición entre los tratamientos (p<0.050).

ppm	0d	4d	7d	10d	13d	All
			%			
Control	0	15	25	40	80	160
1500	0	5	10	30	60	105
2000	0	5	10	20	40	75
2500	0	0	5	20	40	65
3000	0	0	5	20	35	60
4000	0	0	5	10	35	50
All	0	25	60	140	290	515

	Chi-cuadrado	DF	Valor p
Pearson	25,796	15	0,040
Likelihood Ratio	32,729	15	0,005

La prueba de comparación de proporciones mediante aproximación normal dio los siguientes resultados utilizando un nivel de confianza del 95%. La comparación se realizó con los datos de la última evaluación realizada a los 13 días:

Concentración 1 (ppm)	Concentración 2 (ppm)	Z-valor (Aproximación a la Normal) de la diferencia	Valor p de la comparación
0 (Control)	1500	3,16	0,002
0	2000	6,32	0,000
0	2500	6,32	0,000
0	3000	7,23	0,000
0	4000	7,23	0,000
1500	2000	2,89	0,004
1500	2500	2,89	0,004
1500	3000	3,66	0,000
1500	4000	3,66	0,000
2000	2500	0,00	1,000
2000	3000	0,73	0,465
2000	4000	0,73	0,465
2500	3000	0,73	0,465
2500	4000	0,73	0,465
3000	4000	0,00	1,000

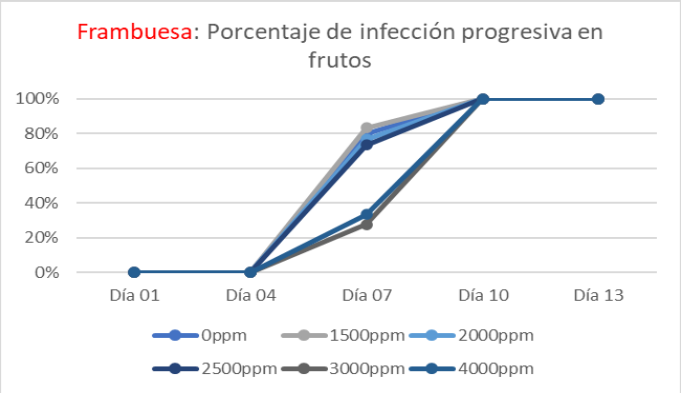
Tabla 6. Resultados de los ensayos multidosis del efecto del recubrimiento post-cosecha en la porcentaje de pudrición progresiva en frambuesa.

Principal resultado: Las dosis de 3000 y 4000ppm mantiene el 60% de la frambuesa consumible en la primera semana, siendo en este punto las dos dosis mencionadas estadísticamente mejores que las demás y el control ($p<0.050$).

Las concentraciones de 1500, 2000 y 2500 ppm fueron estadísticamente iguales al control.

Luego de 10 días de observación todos los tratameintos alcanzaron el 100% de contaminación.

Monitoreo en el tiempo:



Análisis estadístico:

La prueba de chi-cuadrado indicó que existió diferencia significativa entre el progreso de la pudrición entre los tratamientos (p<0.050).

ppm	0d	4d	7d	10d	13d	All
			%			
Control	0	0	80	100	100	280
1500	0	0	83	100	100	283
2000	0	0	77	100	100	277
2500	0	0	73	100	100	273
3000	0	0	28	100	100	228
4000	0	0	33	100	100	233
All	0	0	374	600	600	1574

	Chi-cuadrado	DF	Valor p
Pearson	40,685	10	0,000
Likelihood Ratio	44,174	10	0,000

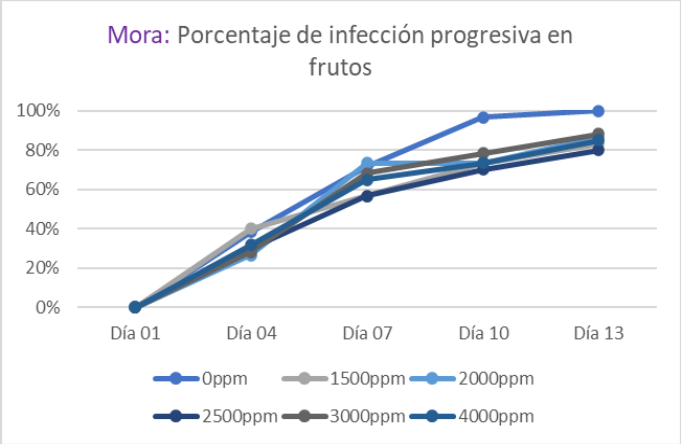
La prueba de comparación de proporciones mediante aproximación normal dio los siguientes resultados utilizando un nivel de confianza del 95%. La comparación estadística se realizó con los datos del día siete, ya que los demás momentos de evaluación no presentaron diferencia numérica.

Concentración 1 (ppm)	Concentración 2 (ppm)	Z-valor (Aproximación a la Normal) de la diferencia	Valor p de la comparación
0 (Control)	1500	-0.55	0.585
0	2000	0.52	0.605
0	2500	1.17	0.241
0	3000	8.65	0.000
0	4000	7.61	0.000
1500	2000	1.06	0.287
1500	2500	1.72	0.086
1500	3000	9.40	0.000
1500	4000	8.31	0.000
2000	2500	0.65	0.513
2000	3000	7.96	0.000
2000	4000	6.97	0.000
2500	3000	7.13	0.000
2500	4000	6.19	0.000
3000	4000	-0.77	0.442

Tabla 7. Resultados de los ensayos multidosis del efecto del recubrimiento post-cosecha en la porcentaje de pudrición progresiva en mora.

Principal resultado: No mostró efectividad en mora incluso a la dosis de 4000ppm. Todas las concentraciones tuvieron comportamientos similares en cuanto a la contaminación progresiva. No se realizó análisis estadístico entre proporciones a un punto específico de la curva debido a que a nivel práctico los frutos no mostraron calidad rescatable.

Monitoreo en el tiempo:



Análisis estadístico:

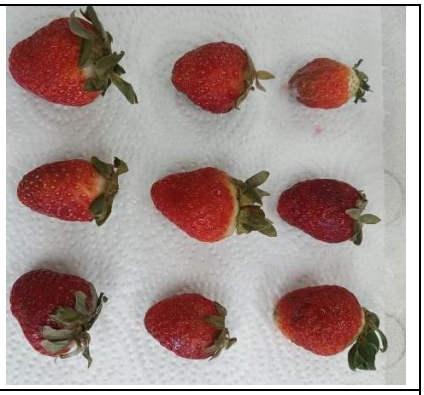
La prueba de chi-cuadrado indicó que existió diferencia significativa entre el progreso de la pudrición entre los tratamientos ($p<0.050$).

ppm	0d	4d	7d	10d	13d	All
			%			
Control	0	38	72	97	100	307
1500	0	40	57	73	83	253
2000	0	27	73	73	87	260
2500	0	30	57	70	80	237
3000	0	28	68	78	88	262
4000	0	32	65	73	85	255
All	0	195	392	464	523	1574

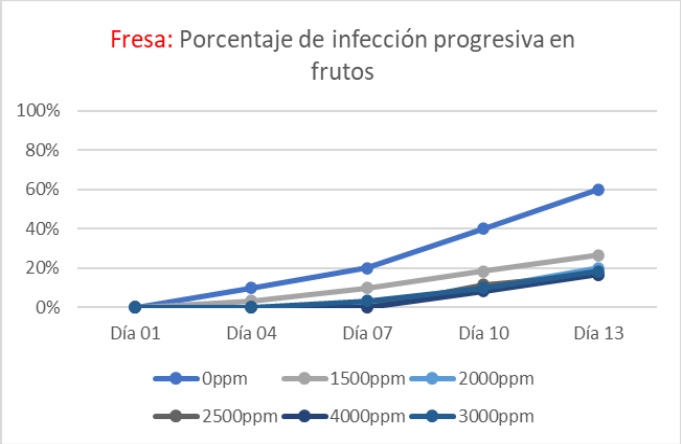
	Chi-cuadrado	DF	Valor p
Pearson	6,802	15	0,963
Likelihood Ratio	6,662	15	0,963

Tabla 8. Resultados de los ensayos multidosis del efecto del recubrimiento post-cosecha en la porcentaje de pudrición progresiva en fresa.

Principal resultado: Dosis superiores a 2500ppm mantienen el 70% de la fresa consumible hasta por dos semanas. Además, ralentiza la contaminación fúngica inicial en cuatro días. Todas las concentraciones evaluadas fueron estadísticamente mejores que el control (p<0.050).



Monitoreo en el tiempo:



Análisis estadístico:

La prueba de chi-cuadrado indicó que existió diferencia significativa entre el progreso de la pudrición entre los tratamientos (p<0.100).

ppm	0d	4d	7d	10d	13d	All
			%			
Control	0	10	20	40	60	130
1500	0	3	10	18	27	58
2000	0	0	2	10	20	32
2500	0	0	0	12	17	29
3000	0	0	3	10	18	31
4000	0	0	0	8	17	25
All	0	13	35	98	159	305

	Chi-cuadrado	DF	Valor p
Pearson	23.570	15	0,073
Likelihood Ratio	33.633	15	0,004

La prueba de comparación de proporciones mediante aproximación normal dio los siguientes resultados utilizando un nivel de confianza del 95%. La comparación estadística se realizó con los datos del día

siete, ya que los demás momentos de evaluación no presentaron diferencia numérica.

Concentración 1 (ppm)	Concentración 2 (ppm)	Z-valor (Aproximación a la Normal) de la diferencia	Valor p de la comparación
0 (Control)	1500	4.99	0.000
0	2000	6.32	0.000
0	2500	6.97	0.000
0	3000	6.75	0.000
0	4000	6.97	0.000
1500	2000	1.17	0.241
1500	2500	1.72	0.086
1500	3000	1.53	0.125
1500	4000	1.72	0.086
2000	2500	0.55	0.585
2000	3000	0.36	0.718
2000	4000	0.55	0.585
2500	3000	0.19	0.852
2500	4000	0.00	1.000
3000	4000	0.19	0.852

La efectividad de los tratamientos postcosecha en el control de patógenos está sujeta a una compleja interacción de factores, tanto relacionados con el patógeno como con las características de la planta o fruto. En primer lugar, la diversidad genética y fenotípica entre las cepas del patógeno puede resultar en variaciones significativas en su virulencia y en su capacidad para evadir los mecanismos de acción de los ingredientes activos (Safianos et al., 2023), lo que implica que un tratamiento que resulta eficaz contra una cepa determinada podría no serlo para otra.

Además, la susceptibilidad intrínseca de las frutas juega un rol crucial; diferencias en la composición y estructura de la cutícula, grosor de la cáscara, así como en la presencia y concentración de metabolitos antifúngicos endógenos, pueden modificar la respuesta del tejido frente a la infección, haciendo que algunas variedades sean más propensas a la colonización fúngica que otras por razones mecánicas, bioquímicas o ambas (Li et al., 2022).

Otro aspecto determinante es la característica climatérica de las frutas, que al regular procesos de maduración postcosecha mediante la producción de etileno, puede influir en los cambios metabólicos y estructurales que afectan la penetrabilidad y eficacia del agente antifúngico aplicado (Li et al 2024; Fernández-Trujillo et al., 2000).

Por otra parte, la pérdida del efecto residual del agente aplicado es un factor crítico. En el caso de los fungicidas, disminuyen su concentración activa tras el tiempo dejando el fruto vulnerable a nuevas infecciones, especialmente bajo condiciones ambientales favorables para el desarrollo del patógeno, incluso el momento pre- o postcosecha en que se aplican influye sobre su efectividad a largo plazo y por ende en la vida útil de la fruta (Diskin et al., 2019; Beniwal et al., 2018; Sugar and Basile, 2008; Ellis et al., 2008). Además, el uso continuado de fungicidas ejerce una presión selectiva que puede favorecer el aumento de la resistencia en las cepas fúngicas a lo largo del

tiempo, reduciendo progresivamente la efectividad de los tratamientos y requiriendo la implementación de estrategias de manejo integradas y rotativas (Yin et al., 2023; Safianos et al., 2023).

Ingredientes activos como extractos botánicos, aceites esenciales, polímeros de recubrimiento y preservantes también son algunas de las opciones para tratar la fruta, no obstante, también presentan cierta degradabilidad que va vulnerando su vida útil conforme se almacena (Muthusamy et al., 2024; Shahbaz et al., 2022; Zhang and Lui, 2011).

También la manipulación de la fruta influye en la calidad microbiológica durante el almacenamiento. Frutas que llevan un mínimo proceso antes del empaque, y donde regularmente el lavado o desinfección postcosecha es limitado, o bien si tienen mucha manipulación postcosecha, puede incidir en la efectividad del producto de control, ya que la carga de microorganismos antes de la aplicación y los residuos de materia orgánica sobre la piel de los frutos también pueden perjudicar el desempeño del producto (Jdaini et al., 2022; Khadkat et al., 2017).

En conjunto, estos factores subrayan la necesidad de abordar el control postcosecha desde una perspectiva multifactorial, que considere tanto la heterogeneidad del patógeno y la variabilidad del hospedador, como la dinámica de la residualidad del producto y el potencial desarrollo de resistencia, para optimizar la protección de los cultivos y garantizar la seguridad en la cadena agroalimentaria.

Parte de las razonas por las que este proyecto se enfocó en un recubrimiento de quitosano potenciado como una alternativa para la protección de bayas en la etapa postcosecha es debido a que este polímero natural tiene múltiples propiedades físico-químicas y de acción biológica que cumplen con las características deseables del sector productor y los consumidores finales (Li et al., 2014; Reglinski et al., 2010; Muñoz and Moret, 2010). El mecanismo de acción de este polímero es ampliamente reportado en múltiples aplicaciones (Rajestary et al., 2021; Herrera et al., 2017). Su mecanismo de acción está fundamentado en la inhibición del crecimiento del micelio y la germinación de la espora, ya que deforma y daña la estructura de la hifa (Jia et al., 2016), esto debido a que las cargas del compuesto neutralizan las membranas biológicas negativas, lo que las permeabiliza y somete a estrés formando especies reactivas de oxígeno (Lopez-Moya et al., 2019).

05: EVIDENCIAS DE LA REUNIÓN DONDE SE REALIZÓ EL PRIMER GRUPO FOCAL CON LOS PRODUCTORES.

Se organizó una reunión tipo Grupo Focal con productores/industriales/comerciantes de la agrocadena de las bayas del proyecto (fresa, mora, frambuesa, arándano) con el objetivo de recopilar información sobre las características necesarias y deseables del producto post-cosecha. A la reunión asistieron ocho productores de los principales representantes de la zona norte de Cartago, así como dos representantes de los entes financiadores del proyecto, la Corporación Hortícola Nacional y la Dirección de Extensión del ITCR. En la Tabla 9 se indican los participantes.

Tabla 9. Participantes de la primera reunión tipo Grupo Focal con productores/industriales/comerciantes de la agrocadena de las bayas del proyecto.

Se omite lista en esta versión por protección de datos personales de los participantes

En la figura 2 se presentan algunas fotos de la actividad.

Figura 2. Asistentes a la actividad de grupo focal del proyecto en septiembre 2023.

06: EVIDENCIAS DE LA REUNIÓN DONDE SE REALIZÓ EL ENCUENTRO CON LOS PRODUCTORES Y LA DEMOSTRACIÓN DE APLICACIÓN DEL PRODUCTO.

La invitación al evento se realizó mediante grupos de difusión que se tenían con los productores y los contactos que gestionó la Dirección de Extensión con los patrocinadores de la ronda de proyectos de Ley de Cemento 2023-2024. La figura 3 presenta la invitación junto con el programa utilizado.

Hora	Actividad
8:00 am	Apertura: Proyectos relacionados al sector productor de bayas • Centro de Investigación en Biotecnología • Direción de Extensión • Corporación Hortícola Nacional-INDER
8:30 am	Bio-insumo protector postcosecha: Estudio de requerimientos.
9:00 am	Refrigerio
9:30 am	Pruebas de efectividad del protector postcosecha y degustación de fruta
10:00 am	Grupo focal: Afectación nacional de la pudrición postcosecha en bayas.
10:30 am	Pruebas de efectividad de bio-estimulantes para bayas.
11:30 am	Grupo focal: Necesidades del sector productor de bayas
12:15 pm	Entrega de una muestra del protector postcosecha
12:30 pm	Almuerzo

Figura 3. Invitación y agenda del encuentro con productores de bayas realizado en noviembre 2024.

La lista de los asistentes a la actividad se presenta a continuación en la tabla 10.

Tabla 10. Lista de asistentes al encuentro de productores de bayas. Noviembre 2024.

Se omite lista en esta versión por protección de datos personales de los participantes

La figura 4 presenta algunas fotos de evidencia del evento realizado y la entrega de la muestra del recubrimiento a los productores.

Algunas personas asistentes a la actividad

Degustación de fruta con y sin aplicación del recubrimiento

Presentaciones de resultados y espacio de intercambio de experiencias

Muestras del recubrimiento para pruebas entregadas en la actividad

Productores y personeros de la Corporación Hortícola en la entrega de muestras del recubrimiento.

Actividades de grupo focal con los asistentes y recopilación de información de manejo postcosecha.

Figura 4. Evidencias de asistentes y actividades realizadas en el encuentro con productores de bayas realizado en noviembre 2024.

07: EVIDENCIA DE LA DIVULGACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL PROYECTO EN REUNÓN CON LA CORPORACIÓN HORTÍCOLA NACIONAL.

Se recibió la invitación por parte de la Dirección de Extensión para participar de una reunión con miembros de la Corporación Hortícola Nacional (CHN) el día 19 de febrero de 2025, donde se realizó la presentación de resultados del presente proyecto y se repartió muestras del bioinsumo a los productores asistentes.

Además, se conversó sobre los posibles proyectos dentro del convenio que la CHN suscribió recientemente con el ITCR y la posibilidad de activar intercambios académicos y servicios especializados para las necesidades de los agremiados. La mayoría de los asistentes formaban parte de la Junta Directiva y representaban a organizaciones como UPA, UTRAC, Cámara de Paperos y ACEDA. La figura 5 presenta la lista de asistentes a la reunión.

Se omite lista por protección de datos personales de participantes

Figura 5. Evidencias de la reunión del 19 de febrero de 2025 con la Corporación Hortícola Nacional.

08: TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN BAJO LA MODALIDAD DE ARTÍCULO CIENTÍFICO PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIATURA EN INGENIERÍA AGRONÓMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COSTA RICA. ESTUDIANTE: LIC. JOSÉ FERNANDO VÁSQUEZ CARVAJAL.

Se omite por protección de datos personales de participantes y por derecho del repositorio de la UNA de publicarlo

09: EVIDENCIA DE ACTIVIDAD EN CLASE DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA BIOTECNOLOGÍA SOBRE LA TEMÁTICA DEL PROYECTO.

Utilizando el mismo enfoque de los datos del proyecto, se planteó un estudio de caso para una evaluación grupal del curso de Análisis Estadístico para Biotecnología. En esta evaluación se les solicitó a los estudiantes que realizaran dos pruebas estadísticas para verificar si la aplicación de tres diferentes dosis de un producto fungicida tenían un comportamiento diferente en el tiempo, y si había alguna de ellas que podía aumentar significativamente la vida útil de frutas. A continuación, el enunciado del caso.

Extracto del trabajo grupal asignado para el curso Análisis Estadístico para Biotecnología IB-2113, segundo semestre 2024.

…

Caso 01: Usted es analista de datos para un instituto de investigación en tecnología postcosecha. Le asignan que determine si existe diferencia estadística significativa para la efectividad de tres dosis de un extracto botánico con actividad fungicida aplicado para aumentar la vida útil en anaquel de una variedad de arándanos que son muy sensibles a la pudrición postcosecha.

Se debe realizar una única aplicación del producto al momento de la cosecha, luego se empaca la fruta en bandejas comerciales y se establece el monitoreo de la incidencia de la pudrición en el tiempo. Las observaciones se deben realizar cada tres días hasta que el 100% de la fruta del tratamiento control esté contaminada (fruta sin aplicación).

Los datos obtenidos a partir de 12 repeticiones fueron:

Nota: La cantidad de fruta inicial se detalla en la celda: R1-12(X): X=cantidad inicial de fruta. Dentro de la matriz se indica las unidades de fruta contaminadas.

Día	Tratamiento	R1 (17)	R2 (26)	R3 (35)	R4 (31)	R5 (28)	R6 (46)	R7 (27)	R8 (39)	R9 (19)	R10 (65)	R11 (54)	R12 (36)
03	Control	10	17	18	17	12	19	13	12	10	28	27	19
06		5	15	10	12	11	27	15	20	9	24	33	17
09		7	12	20	21	15	19	14	20	8	36	23	25
12		8	15	15	15	12	24	15	16	11	35	24	17
15		16	24	35	30	25	44	25	39	18	61	50	35
03	Dosis 10%	5	12	14	19	9	22	7	20	12	33	25	25
06		8	10	12	15	11	26	8	15	8	33	22	21
09		13	8	10	16	18	20	14	20	10	37	32	17
12		5	11	15	17	14	21	11	14	14	41	25	12
15		6	10	23	11	14	24	17	18	8	29	23	15
03	Dosis 20%	5	7	3	9	5	8	4	5	2	7	11	3
06		2	6	7	8	7	9	6	8	6	15	14	7

09		4	4	10	5	5	12	6	11	5	8	11	7
12		4	5	6	8	8	5	3	11	3	18	12	9
15		8	5	6	7	7	7	5	15	1	17	10	10
03		4	8	13	7	11	10	7	10	6	22	15	5
06		7	9	10	11	3	15	7	6	6	23	18	12
09	Dosis 40%	7	9	11	12	10	13	5	9	3	23	20	13
12		2	11	11	9	8	19	9	11	8	19	11	7
15		5	9	10	7	7	19	15	11	5	21	15	12

1- Realice la prueba de chi-cuadrado para determinar si existen diferencias estadísticas en el comportamiento de la pudrición en la fruta durante los 15 días de evaluación. 10pts.
2- Realice la comparación estadística del porcentaje de contaminación de la fruta a los 9 y 15 días de observación. 10pts.

Demuestre los pasos de operaciones que realizó para llegar a sus resultados.

10: EVIDENCIA DE ACTIVIDAD EN CLASE DE FISIOLOGÍA VEGETAL SOBRE LA TEMÁTICA DEL PROYECTO.

Respecto a los hallazgos del proyecto y con la información base que existe en la literatura se les planteó a los estudiantes del curso de Fisiología Vegetal la resolución de un caso de estudio que involucraba aspectos fisiológicos de la maduración de los frutos, la relación planta-patógeno y como esto se podía combinar para favorecer o ralentizar el desarrollo de enfermedades como la pudrición de los frutos, causada en primera instancia por *Botrytis cinerea*. A continuación, el enunciado del caso.

Extracto del trabajo grupal asignado para el curso Fisiología Vegetal IB-2205, primer semestre 2024.

…

Caso 02: Usted trabaja en una empresa productora y exportadora de bayas en Costa Rica, la cual entre sus principales cultivos incluye mora, frambuesa, fresa y arándano. Actualmente en época seca (enero-abril) la pudrición de frutos (asociada a *Botrytis cinerea*) en los cuatro cultivos se encuentra bajo control químico y representa el 8% de las pérdidas precosecha de la empresa. Sin embargo, según el registro histórico, en la época lluviosa las pérdidas suben al 22% y es necesario duplicar la aplicación del fungicida preventivo en planta.

1- ¿Cómo influye el cambio de clima en la variación de las pérdidas precosecha? Justifíquelo con una explicación que involucre aspectos de la planta y del patógeno. 10pts (400 palabras máximo).

En cuanto a las pérdidas postcosecha, de la fruta que cumple con la calidad adecuada para empaque, se pierde por pudrición un 17% en los siguientes cuatro días. Este 17% se compone de 8% mora, 5% fresa, 3% frambuesa y 1% arándano. Con su equipo científico usted valora varias hipótesis que podrían explicar esa relación, por ejemplo:

- Diferencia en las cepas del patógeno
- Diferente susceptibilidad entre las frutas
- Efecto de la característica climatérica de las frutas en la infección
- Pérdida del efecto de la aplicación del fungicida (Regularmente se usa el producto folpet que tiene residualidad de 12 días).
- Aumento de la resistencia del patógeno en el tiempo.

2- Justifique técnicamente cada una de las hipótesis anteriores para que seleccione la o las que tienen más probabilidad de ser la principal causa. 25pts (1000 palabras máximo cubriendo todas las hipótesis)

Independientemente de la o las causas principales del problema, usted decide que de forma paralela va a investigar sobre alternativas de bajo impacto ambiental para mitigar la problemática de pérdida de fruta postcosecha, de manera que solicitó a su equipo que realizara una búsqueda de dos posibles soluciones.

3- Indique y justifique las dos posibles soluciones que encontró en la búsqueda. 10pts (400 palabras máximo cubriendo las dos soluciones)

11: EVIDENCIA DEL ARTÍCULO CIENTÍFICO PUBLICADO SOBRE LA PLAGA EN MORA.

Disponible para descarga en el link:
https://www.entomologicalcommunications.org/index.php/entcom/article/view/ec06003

Firmado digitalmente por RANDAL ENRIQUE CHACON CERDAS (FIRMA)
Fecha: 2025.06.11 16:33:01 -06'00'

_____

Nombre y firma de la persona coordinadora del proyecto

ENTOMOLOGICAL Communications

Entomological Communications, 6, 2024: ec06003
doi: 10.37486/2675-1305.ec06003
e-ISSN: 2675-1305
Open Access Full Text Article

Scientific Note

Report of the establishment of *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) in Central America

Randall Chacón-Cerdas[1], Allan González-Herrera[2], Luis Alvarado-Marchena[1], Francisco González-Fuentes[2,3]

1. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Cartago, Costa Rica. 2. Universidad Nacional de Costa Rica, Heredia, Costa Rica. 3. Chemtica Internacional S.A., Santo Domingo, Heredia, Costa Rica.
Corresponding author: francisco.gonzalez.fuentes@una.cr

Edited by: Daniell R. R. Fernandes

Received: December 13, 2023. Accepted: February 07, 2024. Published: February 29, 2024.

Abstract. Over the last decade, high-end fruits such as berries, have faced the impact of *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) across Asia, Europe, and the Americas. Yet, none of the countries from Central America has officially reported this pest. We carried out surveys in the blackberry fields of Costa Rica. We placed a proprietary mixture of liquid attractants into red-cup traps with lateral holes, as it has been widely demonstrated as best to capture *D. suzukii*. Subsequently, we collected both adults and larvae for analysis. The adults were identified using key morphological features of *D. suzukii*, while the larvae were used for molecular analysis of the samples. The results revealed the first record of establishment of *D. suzukii* infesting blackberry in Costa Rica, Central America. These discoveries reveal the spread of the pest in Latin America and the importance of intensifying the surveillance process in other countries in this region.

Keywords: Costa Rica, SEM, monitoring traps, blackberry.

Drosophila suzukii (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae), commonly named the spotted wing *Drosophila* (SWD), is currently one of the most devastating pests in fruit production around the world (Garcia et al. 2022). Part of the success of this species is the serrated ovipositor, contrary to closely related species, that allows this pest to lay its eggs into thin epicarps of ripening intact fruits (Crava et al. 2020). This ovipositor has allowed this species to find a new ecological niche apart from other species of the same genus, which normally feed on yeasts from rotting fruits (Garcia 2020). This aspect has facilitated SWD to become a serious threat to agriculture worldwide, especially to berries with thin epicarp, which are important economic fruits such as blackberries, blueberries, raspberries, and strawberries (Atallah et al. 2014; Crava et al. 2020; Ioriatti et al. 2020).

Although SWD had its origin in Asia, it has quickly spread through the world in the last 15 years, probably facilitated via international trade, with a presence now across its native Asia, Europe, and more recently North and South America, Africa and Oceania (Garcia et al. 2022). The simultaneous invasion of Spain, Italy, and the United States occurred in 2008, which quickly led to the invasion of closer territories (Cini et al. 2014; Rota-Stabelli et al. 2013). By 2011, the presence of SWD had been reported in several states in the United States and Canada, and by the same year, it was already detected in Mexico (Andreazza et al. 2017; Garcia et al. 2022). In South America, by 2012 and in 2013 the pest was detected in Brazil (Deprá et al. 2014), followed by Uruguay in 2014 (González et al. 2015), Argentina in 2015 (de la Vega et al. 2020) and in Chile in 2017 (Garcia et al. 2022). Interestingly, *D. suzukii* had been reported in Costa Rica and Ecuador back in the late 90s, but the lack of specimens in entomological collections raises rational doubts about the probable misidentification of the samples and the invasion and/or establishment of the pest in these countries back then (Hauser 2011).

Most of these records of the presence of SWD have been within the same climatological conditions and consequently, host range. However, particularly in Latin America, the relative proximity of suitable non-host crop species sharing the same geographical space as preferred hosts is a driving force that might help the establishment of the pest (Castro-Sosa et al. 2017). This is also facilitated by the climatic conditions, as many highlands of neotropical countries offer optimal minimum and maximum temperatures to complete the SWD life cycle all year round, without the barrier that winter is in temperate countries. Interestingly, most prediction models do not rank neotropical countries as highly suitable environments for SWD establishment (Santos et al. 2017; Reyes & Lira-Noriega 2020).

Due to rumors about dipteran larvae attacking blackberries growing in Costa Rica during 2021-2022, the objective was to verify whether *D. suzukii* occurs in these areas through selective capture and to identify key morphological characteristics and molecular analyses. We carried out surveys in a blackberry crop located in El Cedral de León Cortés, San José, Costa Rica (9°42'41" N 84°00'33" W). The crop corresponded to a commercial 0.2 ha plot of the tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichos* Schtdl. var. Enana). Evaluations were conducted from November 2021 until January 2023, collecting multiple samples along the development of the crop. Our surveys covered all stages of fruit development. To collect SWD adults, six red-black stripe cup traps with hemispherical dome-shaped lids with 4 mm holes across the red and black surface were distributed at equidistant sites of the blackberry field. The reason for using this trap design was based on the results obtained in Mexico in a comparison of several different designs to increase SWD captures and decrease bycatches (Lasa et al. 2017). Similarly, each trap was baited with the product P258-L (ChemTica Internacional, Heredia), which consists of a proprietary mixture of liquid components that attract SWD and lower bycatches. The traps were monitored weekly for 4 weeks and the insects collected within the traps were transferred to clean plastic vials with ethanol (75%). Pre-selection of individuals as candidate SWD specimens was based on the observation of the most striking morphological characteristic of males SWD which corresponds to the presence of characteristic black apical spots at each wing. Female adults on the other hand were pre-selected from samples by looking at any sign of protruding, enlarged ovipositor of flies with similar characteristics to the males (red eyes, 2-3 mm body size). The specimens were processed and observed by scanning electron microscopy (SEM) using a Hitachi TM-3000 instrument at 5000

© The Author(s) 2024. Published by Sociedade Entomológica do Brasil.

This article is published by Sociedade Entomológica do Brasil and licensed under Creative Commons Licence 4.0, CC-BY. Share — copy and redistribute the material in any medium or format. Adapt — remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

kV to identify distinctive features related to female and male adults.

During the weekly visits to check captures of adults in traps we also checked for fallen fruits. Hence, whenever possible, we collected fruits that fell to the ground during the field season for use in molecular analyses. For each collection at least 25 fallen fruits with living dipteran larvae inside were preserved in a collection vial and brought live to the laboratory, and were labeled as isolates 1, 2, and 3. In the laboratory, 50 milligrams of larval tissue were weighed and placed in 0.5 mL of TRIzol™ reagent. The samples were homogenized for three minutes using a Retsch® macerator, followed by vortexing and incubation at room temperature (RT, approx. 21°C) for five minutes. Subsequently, 0.2 volumes of chloroform (100 µL) were added, manually shaken for 15 seconds, and incubated again at RT for three minutes. The next step involved centrifugation at 17,200 x g / 4°C for 15 minutes, followed by recovery of the supernatant, which was mixed with an equal volume of 100% isopropanol. After manual shaking for 15 seconds, the mixture was incubated for 10 minutes at RT. The samples were centrifuged again (17,200 x g / 4°C for 10 minutes), the pellet was recovered, resuspended in 500 µL of 75% ethanol stored at -20°C, and centrifuged for five minutes at 17,200 x g / 4°C. The supernatant was discarded, and the pellet was air-dried for three minutes at room temperature and then resuspended in 25 µL of water for PCR. DNA concentration and purity were quantified using a Thermo Scientific® nanoDrop Lite, with concentrations around 80 ng/µL and absorbance ratios (260/280nm) near 1.8±0.2. The primers for detection were those reported by Freda & Braverman (2013) for cytochrome oxidase subunit I: COI_s 5'-TTTCTACAAATCATAAAGATATTGG-3' and COI_as 5'-TAAACTTCAGGGTGTCCAAAAAATCA-3'.

PCR reactions with 20 µL were performed using Platinum™ SuperFi II DNA Polymerase (Invitrogen, USA) adding 0.5 µM of primers, and 100 ng of genomic DNA. The thermal profile included an initial denaturation at 98°C for 30 seconds, followed by 30 cycles of 98°C for 10 seconds, 60°C for 10 seconds, and 72°C for 20 seconds; then, a final extension of 5 minutes at 72°C. PCR products were visualized on a 2% agarose gel dissolved in TAE buffer and stained with BrEt. The molecular marker used was 1Kb MassRuler™ DNA Ladder Mix from Thermo Scientific® to confirm bands near 650 bp. The amplicons were purified using the Thermo Scientific GeneJET PCR Purification Kit. Sequencing was performed using the Sanger method.

A phylogenetic reconstruction of the samples and their matches with National Center for Biotechnology Information (NCBI) database accessions was conducted using a BLAST (basic local alignment search). Multiple sequence alignment was performed using the MUSCLE tool from EMBL-EBI (Edgar 2014), and analysis was carried out with MEGA v11.0 software (Tamura et al. 2021) to calculate genetic distances based on the number of base pair substitutions between sequences, eliminating positions with missing data according to the Tamura-Nei model (Tamura & Nei 1993). The phylogenetic tree was generated through the Maximum Likelihood method with a 500-repetition bootstrap. An estimate of evolutionary divergence between sequences was performed following the Tajima and Nei model (Tajima & Nei 1984) and evolutionary analysis was conducted using MEGA v11.0 software (Tamura et al. 2021).

Weekly captures for the period evaluated consistently showed positive captures of adults attracted to the traps set in the blackberry crops of Costa Rica. Assessment and sorting of captures per trap showed that on average 87% of captured insects were *D. suzukii* based on morphological identification (Fig. 1). Furthermore, the sex ratio in captured flies tended to be female-biased which is also a feature that has been reported for SWD trapping (Whitener et al. 2022).

The SEM micrographs revealed anatomical features reported for SWD, such as the serrated ovipositor in females (Varón-González et al. 2020) and the presence of sexual combs on the first and second tarsi of the front legs (Kopp 2011) (Fig.1).

The phylogenetic analysis confirmed that the collected individuals correspond to the species *D. suzukii* (Fig. 2), and their divergence links them to multiple previously described accessions of this species (Tab. 1).

The trapping, anatomical, and molecular evidence from the collected individuals indicates that the pest *D. suzukii* is established blackberry crops in Costa Rica, posing a potential threat to the local production of this fruit.

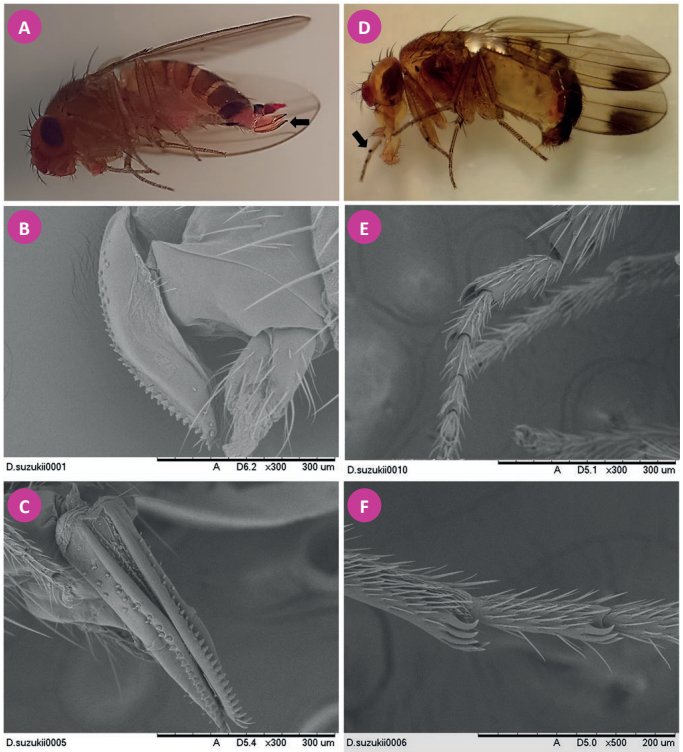


Figure 1. Key anatomical characteristics observed by light and electron microscope from field-collected samples: A, B, C) serrated ovipositor in females. C, D, E) presence of sexual combs on the first and second tarsi of the front legs in males. Arrows indicates highlighted details by electron microscopy.

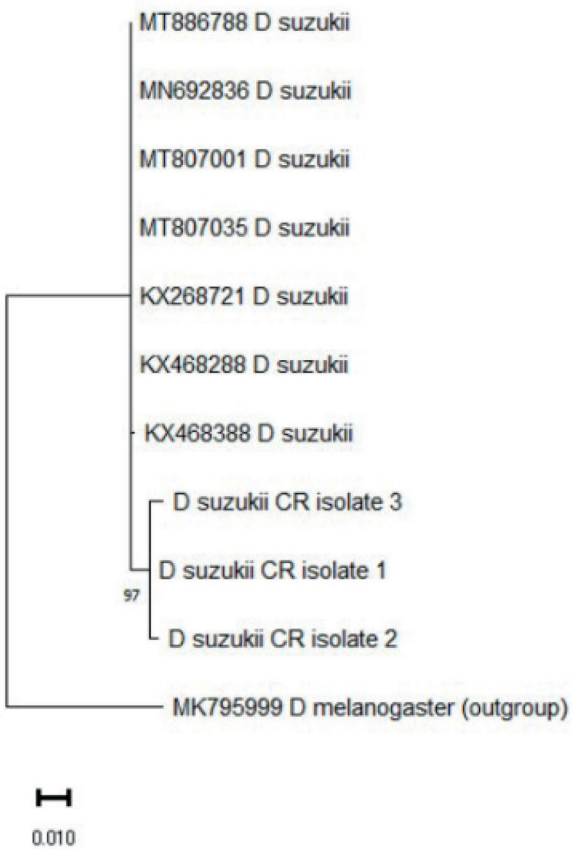


Figure 2. Evolutionary analysis by maximum likelihood method showing the cluster of samples processed from our collections closer to other *D. suzukii* accessions than to *D. melanogaster* used here as an outgroup.

Table 1. Evolutionary divergence between sequences showing the similarity of isolates from Costa Rica with those accessions of *D. suzukii,* in stark contrast with the isolate of *D. melanogaster* used as an outgroup.

Accesion	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1. *D. suzukii* CR isolate 1		0,002	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,014
D. suzukii CR isolate 2	0,003		0,003	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,014
D. suzukii CR isolate 3	0,005	0,008		0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,014
4. *D. suzukii* GB: KX468288	0,006	0,009	0,011		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,013
5. *D. suzukii* GB: KX268721	0,006	0,009	0,011	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,013
6. *D. suzukii* GB: MT807035	0,006	0,009	0,011	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,001	0,013
7. *D. suzukii* GB: MT807001	0,006	0,009	0,011	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,001	0,013
8. *D. suzukii* GB: MT886788	0,006	0,009	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,001	0,013
9. *D. suzukii* GB: MN692836	0,006	0,009	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,001	0,013
10. *D. suzukii* GB: KX468388	0,008	0,011	0,012	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002		0,013
11. *D. melanogaster* GB: MK795999	0,099	0,102	0,104	0,092	0,092	0,092	0,092	0,092	0,092	0,093	

Acknowledgments

We thank blackberry farmers from Costa Rica who allowed us to set traps and collect samples from their farms. Also, thanks to the Vice-presidency of research and extension of the Costa Rica Institute of Technology.

Funding Information

Funded by Vice-presidency of Research and Extension, Costa Rica Institute of Technology, Project VIE 151019.

Authors' Contributions

RCC: Conceptualization, Investigation and Writing-original draft; LAM: Investigation and Writing-review and editing; AGH: Conceptualization, Supervision and Writing-review and editing; FGF: Conceptualization, Investigation, Supervision and Writing-original draft.

Conflict of Interest statement

The authors declare no conflict of interest.

References

Andreazza, F.; Bernardi, D.; dos Santos, R. S. S.; Garcia, F. R. M.; Oliveira, E. E.; Botton, M.; Nava, D. E. (2017) *Drosophila suzukii* in Southern Neotropical Region: Current Status and Future Perspectives. *Neotropical Entomology*, 46: 591-605. doi: 10.1007/s13744-017-0554-7

Atallah, J.; Teixeira, L.;, Salazar, R.; Zaragoza, G.; Kopp, A. (2014) The making of a pest: The evolution of a fruit-penetrating ovipositor in *Drosophila suzukii* and related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1781): 20132840. doi: 10.1098/rspb.2013.2840

Castro-Sosa, R.; Castillo-Peralta, M. R.; Monterroso-Rivas, A. I.; Gomez-Díaz, J. D.; Flores-González, E; Rebollar-Alviter, Á. (2017) Potential Distribution of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in Relation to Alternate Hosts in Mexico. *Florida Entomologist*, 100(4): 787-794. doi: 10.1653/024.100.0403

Cini, A.; Anfora, G.; Escudero-Colomar, L. A.; Grassi, A.; Santosuosso, U.; Seljak, G.; Papini, A. (2014) Tracking the invasion of the alien fruit pest *Drosophila suzukii* in Europe. *Journal of Pest Science*, 87(4): 559-566. doi: 10.1007/s10340-014-0617-z

Crava, C. M.; Zanini, D.; Amati, S.; Sollai, G.; Crnjar, R.; Paoli, M.; Rossi-Stacconi, M. V.; Rota-Stabelli, O.; Tait, G.; Haase, A.; et al. (2020) Structural and transcriptional evidence of mechanotransduction in the *Drosophila suzukii* ovipositor. *Journal of Insect Physiology*, 125: 104088. doi: 10.1016/j.jinsphys.2020.104088

de la Vega, G. J.; Corley, J. C.; Soliani, C. (2020) Genetic assessment of the invasion history of *Drosophila suzukii* in Argentina. *Journal of Pest Science*, 93(1): 63-75. doi: 10.1007/s10340-019-01149-x

Deprá, M.; Poppe, J. L.; Schmitz, H. J.; De Toni, D. C.; Valente, V. L. S. (2014) The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in the South American continent. *Journal of Pest Science*, 87(3): 379-383. doi: 10.1007/s10340-014-0591-5

Edgar, R. C. (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput, *Nucleic Acids Research*, 32(5): 1792-1797. doi: 10.1093/nar/gkh340

Freda, P. J.; Braverman, J. M. (2013) *Drosophila suzukii*, or Spotted Wing Drosophila, Recorded in Southeastern Pennsylvania, U.S.A.. *Entomological News*, 123(1): 71-75. doi: 10.3157/021.123.0116

Garcia, F. R. M. (2020) Basis for Area-Wide Management of *Drosophila suzukii* in Latin America. In: Garcia, F. R. M. (Ed). *Drosophila suzukii* Management, pp. 93-110. Springer. doi: 10.1007/978-3-030-62692-1_5

Garcia, F. R. M.; Lasa, R.; Funes, C. F.; Buzzetti, K. (2022) *Drosophila suzukii* Management in Latin America: Current Status and Perspectives. *Journal of Economic Entomology*, 115(4): 1008-1023. doi: 10.1093/jee/toac052

González, G.; Mary, A. L.; Goñi, B. (2015) *Drosophila suzukii* (Matsumura) found in Uruguay. *Drosophila Information Service*, 98: 103-107.

Hauser, M. (2011) A historic account of the invasion of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) in the continental United States, with remarks on their identification. *Pest Management Science*, 67(11): 1352-1357. doi: 10.1002/ps.2265

Ioriatti, C.; Anfora, G.; Grassi, A.; Puppato, S.; Rossi Stacconi, M. V. (2020) Current status of the *Drosophila suzukii* control in Europe. *Acta Horticulturae*, 1277: 387-396. doi: 10.17660/ActaHortic.2020.1277.55

Kopp, A. (2011) *Drosophila* sex combs as a model of evolutionary innovations. *Evolution & Development*, 13(6): 504-522. doi: 10.1111/j.1525-142x.2011.00507.x

Lasa, R.; Tadeo, E.; Toledo-Hérnandez, R. A.; Carmona, L.; Lima, I.; Williams, T. (2017) Improved capture of *Drosophila suzukii* by a trap baited with two attractants in the same device. *PLOS ONE*, 12(11): e0188350. doi: 10.1371/journal.pone.0188350

Reyes, J. A.; Lira-Noriega, A. (2020) Current and future global potential distribution of the fruit fly *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *The Canadian Entomologist*, 152(4): 587-599. doi: 10.4039/tce.2020.3

Rota-Stabelli, O.; Blaxter, M.; Anfora, G. (2013) *Drosophila suzukii*. *Current Biology*, 23(1): R8-R9. doi: 10.1016/j.cub.2012.11.021

Santos, L. A.; Mendes, M. F.; Krüger, A. P.; Blauth, M. L.; Gottschalk, M. S.; Garcia, F. R. M. (2017) Global potential distribution of *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae). *PLOS ONE*, 12(3): e0174318. doi: 10.1371/journal.pone.0174318

Tajima, F.; Nei, M. (1984) Estimation of evolutionary distance between

nucleotide sequences, *Molecular Biology and Evolution*, 1(3): 269-285. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040317

Tamura, K.; Nei, M. (1993) Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3): 512-526.doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023

Tamura, K.; Stecher, G.; Kumar, S. (2021) MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7): 3022-3027. doi: 10.1093/molbev/msab120

Varón-González, C.; Fraimout, A.; Delapré, A.; Debat, V.; Cornette, R. (2020) Limited thermal plasticity and geographical divergence in the ovipositor of *Drosophila suzukii*. *Royal Society Open Science*, 7(1): 191577. 10.1098/rsos.191577

Whitener, A. B.; Smytheman, P.; Beers, E. H. (2022) Efficacy and Species Specificity of Baits and Lures for Spotted-Wing Drosophila, *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Economic Entomology*, 115(4): 1036-1045. doi: 10.1093/jee/toac020