



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO



DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

EVALUACIÓN DEL ÁCIDO JASMÓNICO Y γ -AMINOBUTÍRICO EN FRUTOS DE DURAZNO (*Prunus persica*) Y SENSIBILIDAD DE AISLAMIENTOS DE *Monilinia fructicola* A FUNGICIDAS

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

Presenta:

GEORGINA JIMÉNEZ ARCE



APROBADA



Bajo la supervisión de: DR. MATEO VARGAS HERNÁNDEZ

CO-DIRECTOR: DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR



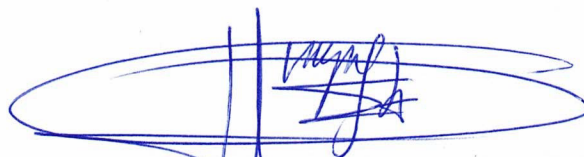
Chapingo, Estado de México, mayo de 2025

**EVALUACIÓN DEL ÁCIDO JASMÓNICO Y γ -AMINOBUTÍRICO EN FRUTOS
DE DURAZNO (*Prunus persica*) Y SENSIBILIDAD DE AISLAMIENTOS DE
Monilinia fructicola A FUNGICIDAS**

Tesis realizada por GEORGINA JIMÉNEZ ARCE bajo la supervisión del Comité Asesor
indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado
de:

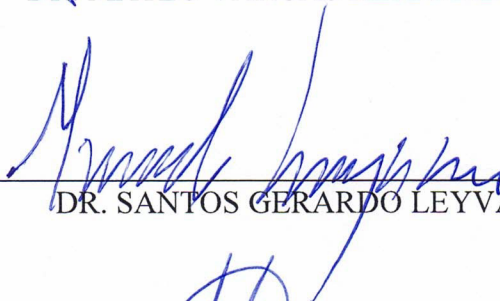
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR:



DR. MATEO VARGAS HERNÁNDEZ

CO-DIRECTOR:



DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

ASESOR:



DRA. ISABEL NATIVITAS LIMA

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía, mi fortaleza y cuidar de mi en cada momento, permitirme llegar y culminar esta etapa de mi vida, por estar presente en cada reto y en cada logro. Con gratitud infinita por sus bendiciones y amor incondicional.

A mi familia, especialmente a la mujer más importante en mi vida, mi madre; **Olga Arce Acero**, su ejemplo de esfuerzo y valentía me han permitido seguir avanzando cada día, con sus consejos y cuidados he podido afrontar situaciones adversas, te amo mamá. **Mis hermanas, Karina, Cristina, Azucena**, mujeres fuertes y valientes que son ejemplo de resiliencia, aparte de grandes mujeres son grandes mamás. y a mi hermanita, **Ximena** quien me ha demostrado lo fuerte y valiente que es, cada día te admiro más. Con cariño y mucho amor para ustedes.

AGRADECIMIENTOS

A la **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)** por otorgarme el financiamiento para realizar mis estudios de maestría en ciencias.

Y a la **Dirección General de investigación y Posgrado (DGIP)** por el financiamiento del proyecto.

A la **Universidad Autónoma Chapingo** en especial al **Programa de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal** por la oportunidad otorgada de pertenecer a esta gran institución. Y a **Maribel** en quien encontré un gran apoyo.

A mi comité asesor; **Dr. Mateo Vargas Hernández** por su apoyo y confianza brindada en este tiempo. Y especialmente al **Dr. Santos Gerardo Leyva Mir** por todo el apoyo otorgado durante la realización de esta tesis y a la **Dra. Isabel Nativitas Lima** (posdoctorante del SECIHTI con número de proyecto 2708300; CVU: 508529) por su paciencia, ayuda y comprensión, infinitas gracias.

A **Jadiel Josafat**, por todos los momentos compartidos, en especial por el cariño, la amistad, y el gusto de conocernos.

A mis amigos, a todos los que han sido parte de mi vida en cualquier etapa, especialmente **Julio, Flor** y **Jesús** que me han regalado buenos recuerdos, y a los amigos nuevos que me los llevo en el corazón **Julio** y con cariño para **Sarahi** quien ha estado conmigo desde un inicio por los buenos recuerdos y memorias que hemos compartido.

A la **M.C. Concepción Arce Espino** y el **Dr. Alejandro Ley de Coss**, quienes gracias a su consejo me animé a tomar esta oportunidad y tuve la fortuna de conocer a **Ernesto** a quien agradezco por su gentileza y ayuda, gracias.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: Georgina Jiménez Arce

Fecha de nacimiento: 23 de diciembre de 1998

Lugar de nacimiento: Villaflores, Chiapas

CURP: JIAG981223MCSMRR19

Profesión: Ingeniero Agrónomo

Cédula profesional: 12728577

FORMACIÓN ACADÉMICA PROFESIONAL

Comenzó sus estudios profesionales del 2016 a 2020 en la Universidad Autónoma de Chiapas, Facultad de Ciencias Agronómicas, Campus V. Realizó la tesis denominada **“Principales enfermedades del café en etapa de vivero en Villaflores, Chiapas”** con la cual obtuvo el título de Ingeniero Agrónomo. Durante un período corto se desarrolló como asesor técnico en un programa de créditos para el cultivo de maíz en Villaflores, Chiapas.

En 2023 ingresó a la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal para darle continuidad a su formación profesional.

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN GENERAL	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN GENERAL	5
Justificación	7
Objetivo general	8
Objetivos específicos	8
Hipótesis	8
LITERATURA CITADA	9
CAPITULO I. REVISIÓN DE LITERATURA	13
1.1.1. Descripción general del cultivo	13
1.1.2. Importancia del cultivo	13
1.1.3. Clasificación taxonómica, características botánicas y taxonómicas	15
1.1.4. Principales enfermedades que afectan al durazno	16
1.1.4.1. Verrucosis del durazno	16
1.1.4.2. Tiro de munición	17
1.1.4.3. Mildiú polvoroso o cenicilla	18
1.1.4.4. Sarna, roña o mancha negra del fruto	19
1.1.4.5. Roya	19
1.1.4.6. Cancros	20
1.1.5. Pudrición café (<i>Monilinia</i> spp.)	21
1.1.5.1. Importancia, distribución mundial y nacional	21
1.1.5.1. Clasificación taxonómica	22
1.1.5.2. Características de las colonias	23
1.1.5.3. Descripción morfológica	23
1.1.5.4. Síntomas	24
1.1.5.5. Ciclo biológico	24
1.1.5.6. Manejo de la enfermedad	26
LITERATURA CITADA	27
CAPITULO II. EFECTO DEL ÁCIDO γ-AMINO BUTÍRICO (AGAB) Y ÁCIDO JASMÓNICO (AJ) EN LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA A <i>Monilinia fructicola</i>, EN FRUTOS DE DURAZNO.....	35
RESUMEN	35
2. 1. Introducción.....	36
2. 2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
2.2.1. Aislamiento del patógeno y material vegetal	38
2.2.2. Experimento 1: Pruebas con ácido γ -aminobutírico (AGAB) y ácido jasmónico (AJ).	38

2.2.2.1. Primera metodología de aplicación	39
2.2.2.2. Segunda metodología de aplicación	39
2.2.2.3. Análisis estadístico	40
2.2.3. Experimento 2: Pruebas con ácido jasmónico	41
2.2.3.1. Fenoles totales	42
2.2.3.2. Análisis estadístico	42
2.3. RESULTADOS	43
2.3.1 Experimento 1: Pruebas con ácido γ -aminobutírico (GAB) y ácido jasmónico..	43
2.3.2. Experimento 2: Pruebas con ácido jasmónico	44
2.4 DISCUSIÓN	47
2.5. CONCLUSIONES	50
LITERATURA CITADA	51
CAPITULO III. SENSIBILIDAD DE <i>Monilinia</i> spp. A FUNGICIDAS DE DIFERENTES GRUPOS QUÍMICOS	57
RESUMEN	57
3. 1. Introducción.....	59
3. 2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	61
3.2.1. Aislamiento y caracterización morfológica de <i>Monilinia</i> spp.....	61
3.2.2. Postulados de Koch	61
3.2.3. Identificación molecular	62
3.2.4. Caracterización de las colonias de <i>Monilinia</i> spp.	64
3.2.5. Fungicidas evaluados en las pruebas de sensibilidad	66
3.2.6 Prueba de sensibilidad <i>in vitro</i> con la técnica de medio enmendado con fungicida	67
3.2.7. Análisis estadístico	68
3. 3. RESULTADOS	69
3.3.1. Aislamientos y caracterización de <i>Monilinia</i> spp.....	69
3.3.2. Postulados de Koch	69
3.3.3. caracterización de las colonias	71
3.3.4. Pruebas de sensibilidad.....	76
3.3.4.1. Porcentaje de inhibición	76
3.3.4.2. Crecimiento micelial.....	82
3.3.4.3. Concentración efectiva 50	86
2. 4. DISCUSIÓN	90
2. 5. CONCLUSIONES.....	94
LITERATURA CITADA	95

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Concentraciones y tratamientos propuestos de ácido jasmónico (AJ) y ácido γ -aminobutírico (AGAB) en frutos de durazno en el experimento 1, año 2023.....	38
Cuadro 2. Concentraciones y tratamientos propuestos de ácido jasmónico (AJ) en frutos de durazno en el experimento 2, año 2024.....	41
Cuadro 3. Efecto de los diferentes tratamientos de ácido jasmónico (AJ) y γ -aminobutírico (AGAB) sobre la severidad de <i>M. fructicola</i> en frutos de durazno, en tres evaluaciones del experimento 1 año 2023	44
Cuadro 4. Efecto de los diferentes tratamientos con ácido jasmónico (AJ) sobre la severidad de <i>M. fructicola</i> en frutos de durazno, en cuatro evaluaciones del experimento 2 año 2024	45
Cuadro 5. Contenido de fenoles totales (mg g ⁻¹ pf), en frutos de durazno tratados con diferentes concentraciones de ácido jasmónico (AJ) a través de la combinación de los ensayos, año 2024.....	45
Cuadro 6. Regresión lineal simple de los fenoles totales en los frutos de durazno tratados con ácido jasmónico (AJ) a través de la combinación de los ensayos, año 2024.....	47
Cuadro 7. Fungicidas evaluados en la sensibilidad de <i>M. fructicola</i> (FRAC, 2024).	66
Cuadro 8. Fungicidas y concentraciones utilizadas en las pruebas de sensibilidad de aislamientos de <i>M. fructicola</i>	67
Cuadro 9. Características de los aislamientos de <i>M. fructicola</i> obtenidos de <i>Prunus persica</i> en diferentes localidades.....	69
Cuadro 10. Crecimiento micelial de los aislamientos de <i>M. fructicola</i> incubados a diferentes temperaturas.....	71
Cuadro 11. Caracterización de las colonias de <i>M. fructicola</i>	72
Cuadro 12. Caracterización de las colonias de <i>M. fructicola</i>	72
Cuadro 13. Caracterización de las colonias de <i>M. fructicola</i>	72
Cuadro 14. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial en aislamientos de <i>M. fructicola</i> de Zitácuaro, Michoacán, en respuesta a diferentes fungicidas.....	77
Cuadro 15. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial en aislamientos de <i>M. fructicola</i> de Tepeyahualco, Puebla, en respuesta a diferentes fungicidas.....	79
Cuadro 16. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial en aislamientos de <i>M. fructicola</i> de Temascaltepec, Estado de México, en respuesta a diferentes fungicidas	81
Cuadro 17. Análisis combinado a través de las dos cepas de Zitácuaro, Michoacán (MM-1 y MM-3), del crecimiento micelial para cada hora de evaluación	82
Cuadro 18. Análisis combinado a través de las cepas de Tepeyahualco, Puebla (MP-1, MP-2 y MP-3) del crecimiento micelial (mm) para cada hora de evaluación.....	84
Cuadro 19. Análisis combinado a través de las cepas de Temascaltepec Estado de México (MT-4, MT-5 y MT-6), del crecimiento micelial para cada una de las horas de evaluación.....	85
Cuadro 20. Concentración efectiva que inhibe el 50% (CE ₅₀) del crecimiento micelial de <i>M. fructicola</i>	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Frutos 4 días post-inoculación. A). Zitácuaro, Mich. (MM-3). B). Temascaltepec, edo. Mex. (MT-4). C). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-6). D). Tepeyahualco, Pue. (MP-3). E). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-5). F). Testigo.....	70
Figura 2. Frutos 7 días post-inoculación. A). Zitácuaro, Mich. (MM-3). B). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-4). C). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-6). D). Tepeyahualco, Pue. (MP-3). E). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-5). F). Tepeyahualco, Pue. (MP-2). G). Tepeyahualco, Pue. (MP-1). H). Testigo.....	70
Figura 3. Crecimiento de colonias de <i>M. fructicola</i> en PDA a $19 \pm 1^\circ\text{C}$ incubadas durante siete días. A). Zitácuaro, Mich. (MM-1). B). Zitácuaro, Mich. (MM-3). C). Tepeyahualco, Pue. (MP-1). D). Tepeyahualco, Pue. (MP-2). E). Tepeyahualco, Pue. (MP-3). F). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-4). G). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-5). y H). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-6).	73
Figura 4. Crecimiento de colonias de <i>M. fructicola</i> en PDA a $21 \pm 1^\circ\text{C}$ incubadas durante siete días. A). Zitácuaro, Mich. (MM-1). B). Zitácuaro, Mich. (MM-3). C). Tepeyahualco, Pue. (MP-1). D). Tepeyahualco, Pue. (MP-2). E). Tepeyahualco, Pue. (MP-3). F). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-4). G). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-5). y H). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-6).	74
Figura 5. Crecimiento de colonias de <i>M. fructicola</i> en PDA a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ incubadas durante siete días. A). Zitácuaro, Mich. (MM-1). B). Zitácuaro, Mich. (MM-3). C). Tepeyahualco, Pue. (MP-1). D). Tepeyahualco, Pue. (MP-2). E). Tepeyahualco, Pue. (MP-3). F). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-4). G). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-5). H). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-6).	75
Figura 6. Crecimiento micelial, análisis combinado de las cepas de Zitácuaro, Michoacán (MM-1 y MM-3) para cada hora de evaluación	83
Figura 7. Crecimiento micelial, análisis combinado entre las cepas de Tepeyahualco, Puebla (MP-1, MP-2 y MP- 3) para cada hora de evaluación.....	84
Figura 8. Crecimiento micelial, análisis combinado entre las cepas de Temascaltepec, Edo. de México (MT-4, MT-5 y MT-6) para cada hora de evaluación	86
Figura 9. Concentración efectiva que inhibe el 50% (CE_{50}) para los fungicidas que actúan en un sitio de acción	87
Figura 10. Concentración efectiva que inhibe el 50% (CE_{50}) para los fungicidas con acción multi-sitio.....	87
Figura 11. Concentración efectiva que inhibe el 50% (CE_{50}) media y rango en que se encontraron los valores para los fungicidas que actúan en el sitio de acción, en el análisis de los aislados obtenidos en los estados de Michoacán, Estado de México y Puebla	88
Figura 12. Concentración efectiva que inhibe el 50% (CE_{50}) media y rango en que se encontraron los valores para los fungicidas multi-sitio, en el análisis de los aislados obtenidos en los estados de Michoacán, Estado de México y Puebla	89

EVALUACIÓN DEL ÁCIDO JASMÓNICO Y γ -AMINOBUTÍRICO EN FRUTOS DE DURAZNO (*Prunus persica*) Y SENSIBILIDAD DE AISLAMIENTOS DE *Monilinia fructicola* A FUNGICIDAS

RESUMEN GENERAL

El durazno (*Prunus persica* L.) es de los cultivos frutales más importantes a nivel mundial, se cultiva en lugares con climas templados y para México representa un aporte de 3,231,021.82 miles de pesos (SIAP, 2023), además, en el último ciclo productivo reportado el país se posicionó en el décimo primer lugar entre los países con mayor producción a nivel mundial (FAOSTAT, 2024). El cultivo es susceptible a diversas enfermedades, sin embargo, la pudrición café se describe como de las más importantes debido a las pérdidas que causa antes y después de la cosecha. El uso de fungicidas químicos se considera el método predominante para el manejo de la enfermedad. Sin embargo, existen otras alternativas como la activación de los mecanismos de defensas de las plantas, que se ha extendido en el manejo postcosecha de la pudrición café mediante la aplicación de productos exógenos llamados inductores de resistencia. Por lo anterior, el objetivo principal se centró en caracterizar morfológica e identificar molecularmente los patógenos asociados a la pudrición café en los Estado de México, Michoacán y Puebla; evaluar el efecto de los ácidos jasmónico (AJ) y γ -aminobutírico (AGAB) como inductores de resistencia en frutos de durazno (*Prunus persica*); y realizar pruebas de sensibilidad de *Monilinia* spp. a diferentes fungicidas químicos. Se realizaron muestreos en diferentes huertos de durazno, los aislamientos se purificaron mediante la técnica de cultivo monospórico y se realizaron preparaciones semipermanentes para la caracterización morfológica, para la identificación molecular se realizó extracción de ADN con el método CTAB. Para evaluar la inducción de resistencia en

frutos de durazno se utilizaron los ácidos jasmónico (AJ) y γ -aminobutírico (AGAB); los frutos fueron atomizados con 0.4, 0.8 y 1.2 mM de AJ y 25, 50 y 75 mM de AGAB y posteriormente inoculados con una concentración de esporas de *M. fructicola* (1×10^5). El experimento se repitió dos veces, en la segunda evaluación se utilizó únicamente AJ y se amplió el rango de concentraciones. Para la prueba de sensibilidad se utilizaron los fungicidas benomil, tiabendazol boscalid+piraclostrobin e iprodione; y como fungicidas con actividad multi-sitio captan y oxiclورو de cobre, se probaron cinco dosis por fungicida mediante la técnica de medio enmendado con fungicida y se determinó la concentración efectiva 50 (CE₅₀). En la prueba de inductores se encontró que los ácidos en promedio fueron mejores que el testigo y la concentración más alta de 1.2 mM de AJ en la primera prueba y 2.0 mM de AJ en la segunda reportaron la menor severidad en los frutos. Para la prueba de sensibilidad los resultados indicaron que los aislamientos reportados en este trabajo fueron sensibles a los fungicidas. Aunque el uso de inductores puede ser una alternativa prometedora para el manejo de enfermedades en postcosecha se subraya la necesidad de realizar más estudios que permitan validar mejor el uso de estos productos, y se recomienda el monitoreo constante de la sensibilidad del patógeno a los fungicidas utilizados en su control para descartar o corroborar el desarrollo de resistencia.

Palabras clave: Pudrición café, postcosecha, resistencia inducida, severidad, fungicidas, CE₅₀.

EVALUATION OF JASMONIC ACID AND γ -AMINOBUTYRIC ACID IN PEACH FRUIT (*Prunus persica*) AND SENSITIVITY OF AISLAMENTS OF *Monilinia fructicola* TO FUNGICIDES

ABSTRACT

The peach (*Prunus persica* L.) is one of the most important fruit crops worldwide, grown in temperate climates. In Mexico, it represents a contribution of 3,231,021.82 thousand pesos (SIAP, 2023). Additionally, in the last reported production cycle, the country ranked eleventh among the counties with the highest production worldwide (FAOSTAT, 2024). The crop is susceptible to various diseases; however, brown rot is described as one of the most significant due to the losses it causes both pre- and post-harvest. The use of chemical fungicides is regarded as the predominant method for disease management. However, there are other alternatives, such as activating plant's defense mechanisms, which have gained attention in postharvest brown rot management through the application of exogenous products known as resistance inducers.

Therefore, the main objective of this study was to morphologically characterize and molecularly identify the pathogens associated with brown rot in the states of Mexico, Michoacan, and Puebla evaluate the effect of jasmonic acid (JA) and γ -aminobutyric acid (GABA) as resistance inducers in peach fruits (*Prunus persica*); and conduct sensitivity tests of *Monilinia* spp. to different chemical fungicides.

Sampling was carried out in different peach orchards, and isolates were purified using the single-spore culture technique. Semi-permanent preparations were made for morphological characterization. For molecular identification, DNA extraction was performed using the CTAB method. To evaluate resistance induction in the peach fruits, jasmonic acid (JA) and γ -aminobutyric acid (GABA) were applied. The fruits were sprayed with 0.4, 0.8, and 1.2

mM of JA and 25, 50, and 75 mM of GABA, then inoculated with *M. fructicola* spores at a concentration of 1×10^5 . The experiment was repeated twice; in the second evaluation, only JA was used, and the concentration range was expanded.

For the sensitivity test, fungicides benomyl, thiabendazole, boscalid + pyraclostrobin, and iprodione were used, as well as multi-site fungicides captan and copper oxychloride. Five doses per fungicide were tested using the fungicide-amended medium technique, and the effective concentration 50 (EC₅₀) was determined.

The results showed that, in the inducer test, on average, the acids performed better than the control, and the highest concentrations 1.2 mM of JA the first trial and 2.0 mM of JA in the second resulted in the lowest disease severity in the fruit. Regarding the sensitivity test, results indicated that the isolates analyzed in this study were sensitive to the tested fungicides. Although the use of inducers appears to be a promising alternative for postharvest disease management, further studies are needed to better validate their effectiveness. Additionally, constant monitoring of pathogen sensitivity to fungicides is recommended to confirm or rule out the development of resistance.

Key words: Brown rot, postharvest, induced resistance, severity, fungicides, EC₅₀.

INTRODUCCIÓN GENERAL

El durazno (*Prunus persica* L.) es el cultivo frutal de zonas templadas más importante a nivel mundial después de la manzana (Manganarís *et al.*, 2022). México se posiciona en el décimo primer lugar en el ranking de los principales productores de durazno a nivel mundial según datos del ciclo productivo 2022 (FAOSTAT, 2024). De acuerdo con los datos del SIAP, (2023) el cultivo se siembra en una superficie de 34,279.05 ha con un valor de la producción de 3,231,021.82 miles de pesos.

La susceptibilidad del cultivo a enfermedades fúngicas es uno de los problemas fitosanitarios más importantes ya que pueden afectar el rendimiento, la calidad de la fruta y la longevidad de los árboles (Luo *et al.*, 2022). La producción de durazno se ve afectada por varias enfermedades (Gura *et al.*, 2023), de las cuáles, la pudrición café causada por *Monilinia* spp. se describe como de las más importantes ya que afecta flores, brotes nuevos, frutos jóvenes, hasta llegar a colonizar parcial o totalmente la fruta madura (Schnabel y Brannen, 2022). Además, es responsable de importantes pérdidas en postcosecha (Álvarez-García *et al.* 2023). Por ello, se requiere un diagnóstico preciso y oportuno para determinar las mejores prácticas de manejo y prevenir futuras pérdidas (Gauthier, 2020). El uso de fungicidas sintéticos se considera el método predominante para el manejo de las enfermedades fúngicas (Zhang *et al.*, 2018). Entre los grupos más utilizados para el control de *Monilinia* spp. se encuentran los benzimidazoles, las dicarboximidas, los inhibidores de la demetilación (Egüen *et al.*, 2014) y los inhibidores de la respiración, estos últimos se han utilizado para controlar la enfermedad en todo el mundo (Durak *et al.*, 2021).

La activación de los mecanismos de defensas de las plantas mediante la inducción de diferentes vías de señalización es otra alternativa para el manejo de las enfermedades (Kamle *et al.*, 2020; Vlot *et al.*, 2021). En algunos estudios se ha reportado que la utilización del

ácido β -aminobutírico y ácido jasmónico inducen resistencia a enfermedades, incluyendo el aumento en la transcripción de genes y la actividad de enzimas relacionadas con la defensa, de manera general, se mejora el sistema de defensas de las plantas reduciendo el crecimiento del patógeno (Wang *et al.*, 2018; Ezzat *et al.*, 2021). En otras investigaciones, para el manejo postcosecha de las enfermedades, se demostró que la resistencia inducida por el jasmonato de metilo (MeJA) y el ácido β -aminobutírico (ABAB) mejora las actividades enzimáticas y la expresión génica relacionadas con la defensa (Yang *et al.*, 2017; Pan *et al.*, 2020). Por lo anterior, el objetivo principal en la presente investigación fue caracterizar morfológica e identificar molecularmente los patógenos asociados a la pudrición café en los Estado de México, Michoacán y Puebla; evaluar el efecto de los ácidos jasmónico (AJ) y γ -aminobutírico (AGAB) como inductores de resistencia en frutos de durazno (*Prunus persica*); y realizar pruebas de sensibilidad de *Monilinia* spp. a diferentes fungicidas químicos.

Justificación

Más del 50% de las pérdidas postcosecha en durazno a nivel mundial se atribuyen a *Monilinia* spp., llegando incluso a más del 60% (Obi *et al.*, 2018). El principal problema en el manejo químico de *Monilinia* spp. se debe a la aparición de cepas resistentes (Ons *et al.*, 2020). Por lo anterior es necesario realizar pruebas de sensibilidad a los fungicidas más utilizados, para determinar la resistencia, aptitud y competitividad de los aislados obtenidos en campo a los fungicidas más utilizados (Egüen *et al.*, 2014). A la par, se deben buscar alternativas en el manejo de las enfermedades y la activación de los mecanismos de defensa (Shine *et al.*, 2019) es de las más importantes. Ya que, las plantas tienen la capacidad defensiva frente a los patógenos (De kesel *et al.*, 2021) y estas defensas se pueden activar mediante la aplicación exógena de compuestos artificiales (Hönig *et al.*, 2023). Se encuentran diversos reportes que las enfermedades postcosecha pueden manejarse mediante la inducción de resistencia con la aplicación de productos que activan la expresión de genes relacionados con la defensa y desencadenan mayor actividad enzimática. Sin embargo, en México la información es limitada. Por lo tanto, el objetivo general fue caracterizar morfológica e identificar molecularmente los patógenos asociados a la pudrición café en los Estado de México, Michoacán y Puebla; evaluar el efecto de los ácidos jasmónico (AJ) y γ -aminobutírico (AGAB) como inductores de resistencia en frutos de durazno (*Prunus persica*); y realizar pruebas de sensibilidad de *Monilinia* spp. a diferentes fungicidas químicos.

Objetivo general

Caracterizar morfológica e identificar molecularmente los patógenos asociados a la pudrición café en el Estado de México, Michoacán y Puebla; evaluar el efecto de los ácidos jasmónico (AJ) y γ -aminobutírico (AGAB) como inductores de resistencia en frutos de durazno (*Prunus persica*) y realizar pruebas de sensibilidad de *Monilinia* spp. a diferentes fungicidas químicos.

Objetivos específicos

- Caracterizar morfológica y molecularmente el agente causal de la pudrición café del durazno, en el Estado de México, Puebla y Michoacán.
- Evaluar la aplicación de ácido jasmónico (AJ) y γ -aminobutírico (AGAB) sobre la reducción de la severidad en frutos de durazno en postcosecha.
- Realizar pruebas de sensibilidad de aislados de *Monilinia* spp. a fungicidas de diferentes grupos químicos.
- Determinar la CE₅₀ de los fungicidas evaluados.

Hipótesis

Los ácidos evaluados disminuirán el porcentaje de severidad causado por *Monilinia* spp. en frutos de durazno en postcosecha.

Los fungicidas probados inhibirán el crecimiento micelial de *Monilinia* spp. al compararlos con un tratamiento control.

La CE₅₀ calculada será diferente para los fungicidas utilizados.

LITERATURA CITADA

- Álvarez-García, S., Moumni, M. y Romanazzi, G. (2023). Antifungal activity of volatile organic compounds from essential oils against the postharvest pathogens *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructicola*, *Monilinia fructigena*, and *Monilinia laxa*. *Frontiers in Plant Science*, 14. 14:1274770. doi: 10.3389/fpls.2023.1274770
- De Kesel, J., Conrath, U., Flors, V., Luna, E., Magerony, M., Mauch-Mani, B., Pastor, V., Pozo, M., Pieterse, C., Ton, J. y Kyndt, T. (2021). The induced Resistance Lexicon: Do's and Don'ts. *Trends in Plant Science*. 26(7), 685-691. doi. 10.1016/j.tplants.2021.01.001
- Durak, M. R., Arslan, K., Silan, E., Yildiz, G. y Ozkilinc, H. (2021). A novel approach for in vitro fungicide screening and the sensitivity of *Monilinia* populations from peach orchards in Turkey to respiratory inhibitor fungicides. *Crop Protection*, 147. 105688. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105688>
- Egüen, B., Melgarejo, P. y De cal, A. (2014). Sensitivity of *Monilinia fructicola* from Spanish peach orchards to thiophanate-methyl, iprodione and cyproconazole: fitness analysis and competitiveness. *Eur J Plant Pathol*, 141, 789-801. doi 10.1007/s10658-014-0579-2
- Ezzat, A., Szabó, S., Szabó, Z., Hegedus, A., Berényi, D. y Holb, I. J. (2021). Temporal Patterns and Inter-Correlations among Physical and Antioxidant Attributes and Enzyme Activities of Apricot Fruit Inoculated with *Monilinia laxa* under Salicylic Acid and Methyl Jasmonate Treatments under Shelf-Life Conditions. *Journal of Fungi*, 7,341. doi.org/10.3390/jof7050341

- FAOSTAT. (2024). Base de datos estadísticos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en: <http://faostat.fao.org>. Fecha de consulta: septiembre del 2024.
- Gauthier, N. (2020). Peach Fruit Diseases. Plant Pathology Fact Sheet. University of Kentucky. 4 p.
- Gura, W. P., Gelain, J., Sikora, E. J., Vinson, E. L., Brannen, P. M. y Schanabel, G. (2023). Low frequency of resistance to thiophanate-methyl in *Monilinia fructicola* populations from southeastern United States peach orchards. Pesticide Biochemistry and Physiology, 197, 105642. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105642>
- Hönig, M., Roeber, V., Schmülling, T. y Cortleven, A. (2023). Chemical priming of plant defense responses to pathogen attacks. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1146577. doi: 10.3389/fpls.2023.1146577
- Kamle, M., Borah, R., Bora, H., Jaiswal, A., Singh, R. y Kumar, P. (2020). Systemic Acquired Resistance (SAR) and Induced Systemic Resistance (ISR): Role and Mechanism of Action Against Phytopathogens. In: Hesham, AL., Upadhyay, R., Sharma, G., Manoharachary, C., Gupta, V. (eds) Fungal Biotechnology and Bioengineering. Fungal Biology. Springer, Cham. doi.org/10.1007/978-3-030-41870-0_20
- Luo, C. X., Schnabel, G., Hu, M y De cal, A. (2022). Global distribución and management of peach diseases. *Phytopathology Research*. 4(30). doi.org/10.1186/s42483-022-00134-0
- Manganaris, G. A., Minas, I., Cirilli, M., Torres, R., Bassi, D., & Costa, G. (2022). Peach for the future: A specialty crop revisited. *Scientia Horticulturae*, 305, 111390.

- Obi, V., Barriuso, J. y Gogorcena, Y. (2018). Peach Brown Rot: Still in Search of an Ideal Management Option. *Agriculture*, 8(8), 125. doi. 10.3390/agriculture8080125
- Ons, L., Bylemans, D., Thevissen, K. y Cammue, B. (2020). Combining Biocontrol Agents with Chemical Fungicides for Integrated plant Fungal disease Control. *Microorganisms*, 8(12), 1930. doi10.3390/microorganisms8121930
- Pan, L., Zhao, X., Chen, M., Fu, Y., Xiang, M. y Chen, J. (2020). Effect of exogenous methyl jasmonate treatment on disease resistance of postharvest kiwifruit. *Food Chemistry*, 305, 125483. doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125483
- Schnabel, G. y Brannen, P. M. (2022). Biology, epidemiology, and management of diseases of peach driving the spray program in the southeastern United States. *Scientia Horticulturae*, 295, 110818. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110818>
- Shine, M. B., Xiao, X., Kachroo, P. y Kachroo, A. (2019). Signaling mechanisms underlying systemic acquired resistance to microbial pathogens. *Plant Science*, 279, 81-86. doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.01.001
- Siap. (2023). Cierre de producción agrícola 2023 por cultivo. <http://www.siap.gob.mx> Consulta 27 de octubre del 2023.
- Vlot, a., Sales, J., Lenk, M., Bauer, K., Brambilla, A., Sommer, A., Chen, Y., Wenig, M. y Nayem, S. (2021). Systemic propagation of immunity in plants. *New Phytologist*, 229(3), 1234. doi10.1111/nph.16953
- Wang, J., Cao, S., Wang, L., Wang, X., Jin, P. y Zheng, Y. (2018). Effect of β -Aminobutyric Acid on Disease Resistance Against *Rhizopus* Rot in Harvested Peaches. *Frontiers in Microbiology*, 9:1505. doi: 10.3389/fmicb.2018.01505
- Yang, J., Sun, C., Zhang, Y., Fu, D., Zheng, X. y Yu, T. (2017). Induced resistance in tomato fruit by γ -aminobutyric acid for the control of alternaria rot caused by *Alternaria*

alternata. *Food Chemistry*, 221, 1014–1020.

<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.11.061>

Zhang, H.Y., Mahunu, G.K., Castoria, R., Yang, Q.Y., Apaliya, M.T., 2018. Recent developments in the enhancement of some postharvest biocontrol agents with unconventional chemicals compounds. *Trends Food Sci. Technol*, 78, 180–187.

CAPITULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1.1. Descripción general del cultivo

El durazno (*Prunus persica* L. Batsch) pertenece a la familia de las rosáceas y se cree su origen fue en China hace aproximadamente 8000 años, aunque se pensaba que era originario de Persia (Hans *et al.*, 2020). A Persia los duraznos se introdujeron a través de la Ruta de la Seda y gradualmente se extendieron a la India, Grecia, Roma, Egipto, Europa y América (Ezzat *et al.*, 2024). En América, su ingreso aconteció junto con las expediciones de Colón, se extendió desde los Estados Unidos y México hasta la totalidad del continente (Lambaré y Pochettino, 2012). China al ser el centro de origen del durazno, cuenta con una enorme población de parientes silvestres y razas locales, además, posee la mayor diversidad genética que cualquier otro país (Li y Wang, 2020).

La producción de duraznos es un desafío en muchos países debido a la susceptibilidad del cultivo a muchas enfermedades fúngicas que afectan el rendimiento, la calidad de la fruta y la longevidad de los árboles. Por lo tanto, para la producción de duraznos de buena calidad se requiere de un eficiente manejo de las plagas y enfermedades (Luo *et al.*, 2022).

1.1.2. Importancia del cultivo

El durazno es una fruta popular e importante que se produce ampliamente en todo el mundo (Luo *et al.*, 2022), en términos de producción es el segundo cultivo frutal de clima templado más importante del mundo solo después de la manzana (Manganarís *et al.*, 2022). Anualmente más de 70 países realizan encuestas sobre la producción de duraznos y nectarinas; su cultivo es principalmente por su fruta la cual se consume fresca, cocida, seca o congelada (CABI, 2019). China lidera la producción mundial de durazno, sin embargo,

ocupa el noveno lugar en cuanto al rendimiento obtenido por ha^{-1} , en rendimiento, lo superan países como Jordania, Irán, Grecia, Egipto y Chile (FAOSTAT, 2024).

México ocupa el noveno lugar dentro de los países con mayor superficie cosechada, sin embargo, se posicionó en el décimo primer lugar en cuanto producción a nivel mundial en el ciclo productivo 2022 (FAOSTAT, 2024). De acuerdo con los datos del SIAP, (2023) en México, el cultivo se siembra en una superficie de 34,279.05 ha; de las cuales 32,252.84 fueron cosechadas con una producción de 257,773.88 t y un valor de la producción de 3,231,021.82 miles de pesos. De acuerdo con los datos reportados del 2022 al 2023 hubo un aumento en el rendimiento del cultivo; en el 2022 el rendimiento fue de 7.26 (t/ha) y para el 2023 se reportó un rendimiento de 7.99 (t/ha). Los estados con mayor superficie sembrada fueron Zacatecas, Michoacán y Puebla; pero Aguascalientes, Estado de México y Sonora fueron los estados con mejores rendimientos. El durazno tiene gran demanda en el país y en otros países, ya que, puede ser consumido en fresco o bien utilizado para la industrialización. El consumo anual per cápita en México es de 1.5 kg incluyendo el consumo en fresco o bien industrializado (Procuraduría Federal del Consumidor, 2022).

El cultivo representa una actividad con implicación económica y social. Demanda mano de obra, es una importante fuente de ingresos y puede llegar a ser más rentable que los cultivos anuales (Arroyo *et al.*, 2023).

1.1.3. Clasificación taxonómica, características botánicas y taxonómicas

Superreino	Eukaryota
Reino:	Plantae
Subreino	Viridiplantae
Phylum	Streptophyta
Superdivisión	Embriofita
División	Traqueofitas
Subdivisión	Spermatophytina
Clase	Magnoliopsida
Superorden	Rosanae
Orden	Rosales
Familia	Rosaceas
Genero	<i>Prunus</i> L.
Especie	<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch

(NCBI, 2024).

Prunus persica es un árbol caducifolio, restringido a condiciones climáticas de regiones templadas cálidas o inviernos frescos, pero no severos. Los árboles pueden alcanzar una altura máxima de 7.6 m con copa densa y ancha, aunque generalmente se mantienen por debajo de los 4.5 m mediante poda. Las hojas son simples, color verde oscuro, lanceoladas a elípticas con margen aserrado, son caducas, de 7.6 a 15.2 cm de largo, dispuestas de forma alterna en las ramas. Las ramitas son ramificadas y glabras, las flores surgen de ramas largas. La flor tiene forma de copa, con el cáliz en forma de tubo campanulado, pentalobulado y con pétalos rosados (CABI, 2019). Los frutos son jugosos y de forma que varía de picuda a

redonda plana, de color amarillo a rojo, con cáscara que presenta pubescencia, envuelven una semilla grande y dura en el centro. Los duraznos pueden clasificarse en dos tipos: los de hueso suelto y de hueso adherido (Hans *et al.*, 2020).

1.1.4. Principales enfermedades que afectan al durazno

Dentro de los factores limitantes en la producción de durazno, las enfermedades pueden causar una grave reducción del rendimiento y disminuir la calidad de la producción, por lo que la detección e identificación rápida y oportuna son de gran importancia (Yao *et al.*, 2021). Las condiciones climáticas durante la temporada de crecimiento del cultivo suelen ser las óptimas para las infecciones, por lo que el manejo de las enfermedades es un aspecto importante para la producción de fruta de calidad (Schnabel y Brannen, 2022).

El durazno es invadido por diversos patógenos, las enfermedades fúngicas económicamente más importantes descritas en varios países son: pudrición café (Luo *et al.*, 2022) verrucosis del durazno, tiro de munición, mildiú polvoroso o cenicilla, sarna, roña o mancha negra del fruto, roya, canchales y la podredumbre de la raíz y corona (Khan *et al.*, 2021).

1.1.4.1. Verrucosis del durazno

Agente causal: *Taphrina deformans* (Burk.) Tulasne

La enfermedad no se ve favorecida por altas temperaturas, por lo que puede estar presente en todas las áreas que se cultive durazno, excepto en los trópicos, sin embargo, en las regiones subtropicales donde se producen variedades de durazno con poco requerimiento de frío, puede hacerse presente en los meses más fríos de la temporada de crecimiento (CABI, 2021).

Los síntomas se caracterizan por la producción de tumores en hojas y frutos debido a la

hiperplasia e hipertrofia celular, además se incluye manchas y enrollamiento en las hojas, frutos deformes y escobas de bruja (Svetaz *et al.*, 2017). Los síntomas se observan aproximadamente un mes después de la floración (CABI, 2022) o a principios de primavera, se forman zonas rojizas en las hojas en desarrollo, estas hojas se engrosan, enroscan y deforman, las hojas afectadas se vuelven amarillas o marrones y mueren, las flores se deforman, se arrugan y no suelen cuajar (Rossi *et al.*, 2007). *T. deformans* tiene bajo impacto económico en huertos con buen manejo, pero, en casos graves puede llegar a ocurrir pérdida total del rendimiento debido a una defoliación extensa, lo que retrasa el crecimiento y provoca la muerte de los árboles (CABI, 2021).

1.1.4.2. Tiro de munición

Agente causal: *Wilsonomyces carpophilus* (Lev.) Adaskaveg, Ogawa y Butler

W. carpophilus tiene presencia mundial y afecta a todas las especies de *Prunus* (Khan *et al.*, 2021). Causa la enfermedad de tiro de munición, manchas necróticas y lesiones necróticas en las hojas, ramitas y frutos en árboles de durazno (Khalilabad y Fotouhifar, 2023). En las hojas, las lesiones aparecen como pequeñas áreas de color púrpura que progresivamente se expanden hasta convertirse en manchas de color marrón de 3 a 10 mm de diámetro (OEPP, 2004) los tejidos infectados se caen dando la apariencia de un agujero. La infección en el fruto suele aparecer como pequeñas manchas púrpuras que se convierten en lesiones blancas o grises, a menudo acompañadas de gomosidad (Evans *et al.*, 2008) se desarrollan principalmente en la parte superior, que se vuelve áspera y corchosa. En los brotes, pueden desarrollarse lesiones que formen canchales abiertos que produzcan gomitas (OEPP, 2004). La

utilización de fungicidas y la identificación de hongos antagónicos contra *W. carpophilus* pueden controlar eficazmente la enfermedad (Chen *et al.*, 2021).

1.1.4.3. Mildiú polvoroso o cenicilla

Agente causal: *Sphaerotheca pannosa* (Wallr. Ex. P.) Lev. *Podosphaera tridactyla* (Wallr.) de Bary. *Podosphaera clandestina* (Wallr. Ex. P.) Lev. *Podosphaera leucotricha* (Ell. Y Ev.) Salmón

La enfermedad está presente en todo el mundo donde se cultiva durazno y es una de las enfermedades económicamente más importantes del durazno (Khiavi *et al.*, 2021). Afecta árboles y plántulas en etapa de vivero donde el problema se agrava. La identificación del oídio es difícil porque se ha encontrado a más de una especie de hongos causantes de la enfermedad en frutales de hueso (Khan *et al.*, 2021). *Podosphaera pannosa* es ampliamente reconocido como el causante del mildiú polvoroso en el durazno (Marimón *et al.*, 2020). El hongo infecta hojas, brotes jóvenes y frutos (Melgarejo *et al.*, 2010). Las hojas infectadas se cubren de micelio blanco y harinoso y pueden enroscarse y atrofiarse (Illinois, 2017). En la fruta, la enfermedad aparece en forma de manchas redondas y blanquecinas las cuales crecen hasta que cubren gran parte del fruto. Las manchas blancas son producidas por el micelio del hongo y sus esporas (Crassweller *et al.*, 2006). Cuando los daños son graves en la fruta la hacen inaceptables para la industria, lo que provoca pérdidas económicas significativas (Marimón *et al.*, 2020).

1.1.4.4. Sarna, roña o mancha negra del fruto

Agente causal: Telo: *Venturia carpophila* EE Fisher. Ananorfo: *Cladosporium carpophilum* (Thuemen) y *Cladosporium tenuissimum* (Cooke).

C. carpophilum es un hongo específico del durazno que se distribuye en todo el mundo (Zhou *et al.*, 2021). En México, se reportó la especie *C. tenuissimum* como el agente causal de la enfermedad (Nativitas *et al.*, 2023). El daño que causa el hongo a la fruta hace que no sea comercializable, por lo tanto, se considera una enfermedad económicamente importante en el durazno (Schnabel y Layne, 2004). En los brotes jóvenes se desarrollan lesiones circulares a ovaladas, verdosas de 3 a 6 mm, que se vuelven marrones con un borde elevado de púrpura a marrón oscuro (Khan *et al.*, 2021). La roña es una enfermedad muy prevalente, se observa principalmente en la fruta en etapas medias o tardía del desarrollo, produce lesiones de color marrón oscuro a negro, puede provocar el agrietamiento de la fruta lo que la vuelve susceptible a otras enfermedades, como la pudrición café (Schnabel y Brannen, 2022). Las lesiones son más notorias en el extremo del tallo de la fruta, donde las esporas se lavan desde las áreas infectadas de las ramitas hacia la fruta. A diferencia de la mancha bacteriana, no hay picaduras en la piel ni síntomas en las hojas (Peter, 2023). Las prácticas sanitarias como la poda y la eliminación de ramitas sintomáticas ayudan a reducir el inóculo durante el invierno (Douglas, 2003). Sin embargo, la aplicación de fungicidas es el principal método de control para la enfermedad en todo el mundo (Zhou *et al.*, 2021).

1.1.4.5. Roya

Agente causal: *Tranzschelia discolor* (Fuckel) Tranzschel y Litv.

T. discolor es el patógeno asociado como agente causal de la roya en el durazno (Sun *et al.*, 2023). La roya es una enfermedad foliar importante ya que puede causar defoliación severa en los árboles infectados (Nesi *et al.*, 2014). *T. discolor* es un hongo heteroico que requiere dos huéspedes no relacionados para completar su ciclo de vida. Las especies de *Prunus* se conocen como huéspedes primarios. El patógeno es un hongo macrocíclico que desarrolla cinco estadios de esporas diferentes: basidiospora, picniospora, aeciospora, urediniospora y teliospora, se dispersa por el viento, lluvia e insectos (Osinaga y Antezana, 2012). Los síntomas de la enfermedad ocurren en las superficies inferiores de las hojas infectadas y consisten en pústulas de color marrón anaranjado con urediniosporas, además, en la superficie superior se pueden observar manchas angulares de color verdoso pálido a amarillento clorótico (Chitta *et al.*, 2023). El manejo de la enfermedad se realiza principalmente con aplicaciones de fungicidas químicos (Khan *et al.*, 2021); además, se recomienda realizar podas para eliminar las ramas infectadas y aplicar caldo bordelés después de cada poda y antes de la floración (Osinaga y Antezana, 2012).

1.1.4.6. Cancros

Agente causal: *Leucostoma cincta* (fr. Ex. Fr.) Hohn Sin. *Valsa cincta* (fr. Ex. Fr)

Ana. *Leucocytospora cincta* (Sacc.) *Leucostoma persoonii* Hohn.

Sin. *Valsa leucostoma* (Pers. Ex. Fr.) Ana. *Leucocytospora leucostoma* (Pers.) Hohn

El cancro por *Cytospora*, cancro de *valsa* o cancro por *Leucostoma*, también conocido como cancro perenne es una enfermedad importante presente en todo el mundo principalmente en las zonas templadas, los síntomas en el durazno dependen de la parte infectada, en las ramitas aparecen áreas hundidas y descoloridas, los tejidos infectados se oscurecen con el tiempo y

producen una goma de color ámbar hasta que la ramita muere. La expresión más visible de la enfermedad se observa en el tronco principal, las horquillas de las ramas, las ramas principales y las ramas viejas, en donde se aprecian pequeñas manchas necróticas que se agrandan longitudinalmente, lo que provoca la formación de un área ovalada elíptica de color marrón y hundida que se rodea de tejido calloso elevado y que posteriormente se vuelve de color oscuro. Finalmente, la corteza se arruga y desprende lo que expone la madera muerta (Khan *et al.*, 2021).

1.1.5. Pudrición café (*Monilinia* spp.)

Agente causal: *Monilinia fructicola* (Wint.), *Monilinia fructigena* (Aderh. y Ruhl.) y *Monilinia laxa* (Aderh. y Ruhl.).

Se relacionan, principalmente, a tres especies del patógeno asociados con la pudrición café (Jia *et al.*, 2024). *M. fructicola* es el hongo de la pudrición café americano y se ha extendido a Australia y Asia oriental, *M. laxa* es el hongo de la pudrición café europeo que se ha extendido a gran parte de las zonas productoras de durazno junto a *M. fructigena* el otro hongo europeo (CABI, 2021). Estas especies se distribuyen diferente en el mundo y únicamente se encuentran juntas en el área de origen de los árboles de *Prunus* L. en Asia central y oriental (Abate *et al.*, 2018).

1.1.5.1. Importancia, distribución mundial y nacional

Actualmente las mayores pérdidas del durazno están asociadas a la pudrición café causada por *Monilinia* spp. por lo tanto, se describe como el patógeno más importante en las principales áreas de producción de durazno a nivel mundial (Manganarís *et al.*, 2022), ya que está presente en todas las áreas de producción de durazno (Palwasha y Fahim, 2022). Las

pérdidas pueden ocurrir en pre y postcosecha, se atribuye que más de la mitad de las pérdidas en postcosecha en el mundo es a causa de esta enfermedad (Iqbal *et al.*, 2022; Shan *et al.*, 2024) llegando a alcanzar hasta un 80 % (Lyousfi *et al.*, 2024).

El patógeno es policíclico, se producen muchos ciclos secundarios de infección y puede permanecer años en la plantación y sobrevivir al invierno lo que se traduce en que siempre haya presencia de inóculo, de ahí la importancia (Kreidl *et al.*, 2015).

M. fructicola se describe como la especie que crece más rápido, esporula más abundante, tiene mejor y mayor capacidad de diseminación, además, es más propensa a desarrollar resistencia a los fungicidas (Papavasileiou *et al.*, 2016). *M. fructicola* es una plaga A1 de la EPPO, además, es plaga cuarentenaria para la IAPSC en Europa, el área mediterránea y Sudáfrica donde no se encuentra presente este hongo, también presenta riesgo para oriente Medio y China. *M. laxa* se encuentra presente en la mayoría de las áreas en riesgo por *M. fructicola*, por lo que se busca prevenir la presencia de los dos hongos (CABI, 2021).

1.1.5.1. Clasificación taxonómica

Teleomorfo: *Sclerotinia fructicola* (Winter) Rehm

Phylum: Ascomycota

Class: Leotiomycetes

Order: Helotiales

Family: Sclerotiniaceae

Genus: *Monilinia*

Species: *Monilinia fructicola*.

NCBI (2024).

1.1.5.2. Características de las colonias

M. fructicola crece en medio de cultivo PDA, con un crecimiento medio de 13 mm en 24 horas a 22°C, presenta abundante esporulación, en anillo concéntricos, la colonia es de color grisácea, marrón claro a gris ceniza, con producción abundante de conidios, los márgenes de la colonia son enteros (crecimiento radial uniforme) y la superficie es uniforme (sin rosetas con arcos negros) a medida que las colonias envejecen se puede formar sobre la superficie del agar costras estromáticas irregulares y esclerocios (EPPO, 2020).

1.1.5.3. Descripción morfológica

Presenta hifas primarias de paredes finas de más de 250 µm de largo y 7-10 µm de ancho con una o más ramas iniciadas antes del primer septo, las ramas secundarias y posteriores suelen ser más estrechas. Los conidios son unicelulares, blásticos y se encuentran formados en cadenas ramificadas, de 8-28 × 5-19 µm (en su mayoría de 12-16 × 8-11 µm) hialinos de color gris amarillento/beige en masa, con la espora más joven en el extremo distal, u ocasionalmente ártica, elipsoide, ovoide o limniforme a menudo los extremos son truncados. Los microconidios son unicelulares de 2 µm de diámetro, se forman en fiálides con forma de botella que nacen en microconidióforos, los microconidios pueden producirse en frutos momificados como en medio de cultivo. Los esclerocios son discretos, pero en frutos infectados desarrollan estromas substratales secos en los que las capas estromáticas sustituyen a la mayor parte del pericarpio. Los apotecios se forman erráticamente en los frutos momificados del suelo (EPPO, 2020; EPPO, 2024).

1.1.5.4. Síntomas

El hongo produce una reducción grave del rendimiento, puede infectar flores, ramitas y frutos (Shan *et al.*, 2024). Los primeros síntomas aparecen en primavera. Cuando las flores se infectan se marchitan, se vuelven marrones y permanecen unidas al árbol. El hongo puede producir masas de esporas bronceadas en las flores muertas. La enfermedad puede progresar desde las flores enfermas hasta las ramitas dando lugar a canchales de color marrón rojizo que se marcan y matan las ramitas (Li, 2020). La podredumbre del fruto se considera la fase más destructiva de la enfermedad, aunque es más común en frutos maduros también afecta a frutos inmaduros, los síntomas inician como pequeñas manchas circulares de color marrón claro, las cuales se expanden rápidamente hasta cubrir a todo el fruto, mientras la enfermedad avanza se puede observar la esporulación del hongo de color gris ceniciento sobre la superficie de la lesión (Khan *et al.*, 2021). La podredumbre se desarrolla muy rápido, en días la fruta se vuelve blanda y se pudre, la fruta podrida cae al suelo o cuelga del árbol formando momias marchitas y secas (Bost, 2015). Los mismos síntomas aparecen después de la cosecha provocando la pérdida de la fruta (Manganarís *et al.*, 2022). En casos graves aproximadamente entre 50 y el 75% del fruto puede pudrirse en el huerto y el resto infectarse antes de llegar al mercado (Oliver, 2024).

1.1.5.5. Ciclo biológico

Monilinia fructicola forma ascosporas (esporas sexuales) y conidios (esporas asexuales). Las momias caídas producen estructuras bronceadas en forma de copa, llamadas apotecios, la superficie interior de cada apotecio contiene ocho ascosporas, los apotecios se forman erráticamente por lo que las ascosporas no siempre causan la infección primaria (Bost, 2015).

El hongo hiberna en frutos momificados o en tejidos infectados como ramitas, pedúnculos y canchales de las ramas, los conidios se producen en primavera en condiciones de humedad y se dispersan por el viento (EPPO, 2020). El tizón de la flor es la infección primaria, inicia en primavera y se desarrolla cuando las esporas del hongo se posan y penetran las flores, posteriormente proporcionan el inoculo para infectar otras partes del árbol y árboles vecinos (Byrde y Willetts, 2013). Con las condiciones climáticas favorables la enfermedad avanza rápidamente, las fuertes lluvias en la floración, temperaturas de 20 a 25 °C y bajas temperaturas nocturnas son las condiciones ideales para el patógeno (EPPO, 2020). El tizón de la ramita y los canchales suelen ser la infección secundaria, el hongo crece desde las partes florales hasta las ramitas, estas se extienden gradualmente hacia arriba y abajo de la ramita, el cancro en los tallos se desarrolla a partir de ramitas de frutos marchitos por crecimiento del micelio en las ramas más grandes del árbol. Los frutos verdes son menos susceptibles al hongo, aunque pueden infectarse al inicio de la temporada después de los síntomas en la flor, la pudrición de la fruta se considera la fase más destructiva de la enfermedad a medida que la fruta madura, la infección se propaga de una fruta enferma a otras sanas hasta alcanzar la momificación del fruto el cual puede quedar adherido a los árboles o caer al suelo donde permanece en los meses de invierno (Byrde y Willetts, 2013). Durante una temporada, puede haber muchos ciclos de infecciones secundarias en flores, ramas y frutos, lo que da lugar a una mayor propagación de la enfermedad. Los daños causados por aves, insectos y lesiones mecánicas en los frutos los hacen más vulnerables a la podredumbre de la fruta (Li, 2020).

1.1.5.6. Manejo de la enfermedad

El mejoramiento genético para la resistencia a las enfermedades del durazno, entre ellas la pudrición café, debe ser un objetivo primario. Actualmente la mayoría de los genes de resistencia están ausentes del material genético (Li y Wang, 2020). Entre los métodos de control se describe la eliminación y destrucción de las partes infectadas de la planta incluidas las momias con el propósito de reducir la fuente de inóculo, realizar podas para la buena circulación del aire y la penetración de luz solar ayuda a prevenir las condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad (Khan *et al.*, 2021). Se ha explorado alternativas como la inducción de resistencia, en China cepas bacterianas de *Bacillus licheniformis*, indicaron que la bacteria aumentó la actividad enzimática antioxidante y aumentó la expresión de genes relacionados con la defensa (Ji *et al.*, 2020). *Pseudomonas protegens* inhibió el crecimiento micelial de *M. fructicola* y en vivo se redujo la pudrición café en frutos de durazno inoculados con el hongo (Shan *et al.*, 2024). En México, un estudio con *Bacillus subtilis* indicó que podría utilizarse en el biocontrol de *M. fructicola*, alcanzando niveles altos de inhibición del patógeno (Patiño-Pacheco y Fonseca-Carreño, 2024).

Las aplicaciones de fungicidas en pre y postcosecha es el método que se utiliza generalmente para controlar *Monilinia* spp. (Jia *et al.*, 2024). Los fungicidas específicos del sitio de acción como los Methyl Benzimidazole Carbamates (MBC) (Fisher *et al.*, 2023) en donde se incluye el tiofanato de metilo (Gura *et al.*, 2023), además de los fungicidas inhibidores de la desmetilación (DMI) siguen siendo importantes en el control de la pudrición café, entre ellos el propiconazol (Gura *et al.*, 2024), el grupo de los inhibidores externos de quinona (Qol) (May-De Mio *et al.*, 2011), los inhibidores de la succinato deshidrogenasa (SDHI) y fungicidas con actividad multi sitio tienen buena actividad inhibitoria sobre la germinación de esporas de *M. fructicola* (Song *et al.*, 2021).

LITERATURA CITADA

- Abate, D., Pastore, C., Gerin, D., De Miccolis Angelini, RM, Rotolo, C., Pollastro, S., y Faretra, F. (2018). Caracterización de poblaciones de *Monilinia* spp. en frutas de hueso en el sur de Italia. *Plant Disease*, 102 (9), 1708-1717.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1314-RE>
- Akhon, B. A., Gupta, S. K., y Dhar, M. K. (2023). Dissecting the genome, secretome, and effectome repertoires of *Monilinia* spp.: The causal agent of brown rot disease: A comparative analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 195, 112120.
- Arroyo, P. M. G., Aguilar, A. J., Santoyo, C. V. H., Torres, A. A., Muñoz, R. M., Salas, G. J. M. y Sagarnaga, V. L. M. (2023). Economic viability of peach plantations (*Prunus persica* L. [Batsch]) with different technological levels in three regions of Mexico. *Revista de Geografía agrícola*, 70. <https://doi.org/10.5154/r.rga.2023.70.02>
- Bost, S. (2015). Plant Diseases Brown Rot of Stone Fruits. University of Tennessee. 2 p.
- Byrde, R. J. W., y Willetts, H. J. (2013). *The brown rot fungi of fruit: their biology and control*. Elsevier.
- CABI, (2019). *Prunus persica* (peach). CABI Compendium.
<https://doi.org/10.1079/cabicompendium.44340>.
- CABI, (2021). *Monilinia fructicola* (brown rot). Compendio CABI.
<https://doi.org/10.1079/cabicompendium.34746>.
- CABI, (2021). *Taphrina deformans* (peach leaf curl). CABI Compendium.
<https://doi.org/10.1079/cabicompendium.5273>
- CABI, (2022). *Taphrina deformans* (peach leaf curl). PlantwisePlus Knowledge Bank. Technical Factsheet. <https://doi.org/10.1079/pwkb.species.527>.

- Chen, S. K., Xiao, M., Dlinur, Sun, T. Q., Aierxiding, A., y Ma, R. (2023). Indoor fungicide screening and identification of antagonistic strains against *Wilsonomyces carpophilus*. *Journal of Fruit Science*, 40(10), 2229-2240. DOI : [10.13925/j.cnki.gsxb.20230201](https://doi.org/10.13925/j.cnki.gsxb.20230201)
- Chitta, P., Nontajak, S., Mabangkhu, N. y Bussaban, B. (2023). *Transschelia discolor* as the Causal Agent of Rust on Nectarine, Peach, and Japanese Plum in Highland Areas of Northern Thailand. *Plant Disease*, 107(8), 2316-2319. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-22-2715-SC>
- Crassweller, R. M., Demchak, K. y Sanchez, E. (2006). *Fruit Production for the Home Garder*. College of Agricultura sciences. 192 p.
- Douglas, S. M. (2003). *Disease control for home peach orchards*. Department of Plant Pathology and Ecology, The Connecticut Agricultural Experiment Station. 8 p.
- EPPO. (2020). PM 7/18 (3) *Monilinia fructicola*. *Bulletin* 50(1), 5-18. DOI: 10.1111/epp.12609.
- EPPO. (2024) *Monilinia fructicola*. EPPO datasheets on pests recommended for regulation. <https://gd.eppo.int> (accessed 2024-10-11).
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). (2004). *Stone fruits*. Boletín n°34. Pp. 427-438.
- Evans, K., Frank, E., Gunnell, J., Pace, M. y Shao, M. (2008). *Coryneum or Shothole Blight*. Published by Utah State University Extension and Utah Plant Pest Diagnostic Laboratory. 3 p.

- Ezzat, M., Zhang, W., Amar, M., Nishawy, E., Zhao, L., Belal, M., Han, Y. y Liao, L. (2024). Origins and Genetic Characteristics of Egyptian Peach. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), 8497. doi.org/10.3390/ijms25158497
- Fischer, J. M. M., Dutra, P. S. S., de Araujo, H. E., Glienke, C., y May de Mio, L. L. (2023). Aislamientos de campo de *Monilinia fructicola* cambian el patrón de resistencia a una mayor sensibilidad al tiofanato-metilo en poblaciones recientes. *Eur J Plant Pathol* **166** , 51–64. <https://doi.org/10.1007/s10658-023-02640-z>
- Gura, W. P., Gelain, J., Sikora, E. J., Vinson, E. L., Brannen, P. M., y Schnabel, G. (2023). Low frequency of resistance to thiophanate-methyl in *Monilinia fructicola* populations from southeastern United States peach orchards. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 197, 105642. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105642>
- Gura, W. P., Gelain, J., Sikora, E. J., Vinson, E. L., Brannen, P. M., y Schnabel, G. (2024). Reevaluation of Sensitivity of *Monilinia fructicola* Isolates to the DMI Fungicide Propiconazole in the Southeastern United States and Investigation of the Genetic Element Mona. *Plant Disease*, 108(2), 375-381. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-23-0778-RE>
- Hans, M., Shah, M. A., y Bansal, R. (2020). Peach. *Antioxidants in fruits: Properties and health benefits*, 449-459.
- Iqbal, S., Abbas, A., Mubeen, I., Sathish, M., Razaq, Z., Mubeen, M., ... y Ahmed, M. A. (2022). Taxonomy, distribution, epidemiology, disease cycle and management of brown rot disease of peach (*Monilinia* spp.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50(1), 12630-12630.

- Ji, Z. L., Peng, S., Zhu, W., Dong, J. P., y Zhu, F. (2020). Induced resistance in nectarine fruit by *Bacillus licheniformis* W10 for the control of brown rot caused by *Monilinia fruticola*. *Food Microbiology*, 92, 103558. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103558>
- Jia, F., Chen, M., Liu, C., Chen, S., Liu, W., Huang, K., Sun, X., Ma, G., y Chen, G. (2024). *Streptomyces rapamycinicus* HCD1–10: An effective biocontrol actinomycetes against postharvest Chinese flat peach brown rot caused by *Monilinia fruticola*. *Scientia Horticulturae*, 327, 112836.
- Khalilabad, A. A., y Fotouhifar, K. B. (2023). First detection of *Wilsonomyces carpophilus* causing leaf spot and shot hole disease on *Vitis vinifera*. *Plant Health Progress*, 24(1), 4-8. <https://doi.org/10.1094/PHP-02-22-0014-SC>
- Khan, N.A., Bhat, Z.A., y Bhat, M.A. (2021). Diseases of Stone Fruit Crops. In: Mir, M.M., Iqbal, U., Mir, S.A. (eds) *Production Technology of Stone Fruits*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-8920-1_14
- Khiavi, H. K., Masoumi, S. Y. S., Pirayesh, A., y Jolfaei, H. K. (2021). Evaluation of resistance of different nectarine cultivars to causal agent of peach powdery mildew *Podosphaera pannosa*. *Journal of Novel Researches on Plant Protection*, 10(2).
- Kreidl, S., Edwards, J., Villalta, O. N. (2015). Assessment of pathogenicity and infection requirements of *Monilinia* species causing brown rot of stone fruit in Australian orchards. *Australasian Plant Pathology*, 44(4), 419-430.
- Lambaré, P. y Pochettino, L. (2012). Diversidad local y prácticas agrícolas asociadas al cultivo tradicional de duraznos, *Prunus persica* (Rosaceae), en el noreste de Argentina. *Darwiniana*. 50(2): 174-186.

- Li, Y. (2020). Brown rot of stone fruits. The Connecticut Agricultural Experiment Station. Department of Plant Pathology and Ecology. 2 p.
- Li, Y., y Wang, L. (2020). Genetic resources, breeding programs in China, and gene mining of peach: a review. *Horticultural Plant Journal*, 6(4), 205-215.
- Luo, C. X., Schnabel, G., Hu, M., y De Cal, A. (2022). Global distribution and management of peach diseases. *Phytopathology Research*, 4(1), 30.
- Lyousfi, N., Blenzar, A., Taoussi, M., Laasli, S. E., y Lahlali, R. (2024). Brown Rot Disease Caused by Fungal Pathogens *Monilinia* spp.: A Serious Threat to Pome and Stone Fruit Production Worldwide and Current Threat in Morocco. *Recent Advances in Postharvest Technologies, Volume 2: Postharvest Applications*, 129-166.
- Manganaris, G. A., Minas, I., Cirilli, M., Torres, R., Bassi, D., y Costa, G. (2022). Peach for the future: A specialty crop revisited. *Scientia Horticulturae*, 305, 111390.
- Marimon, N., Eduardo, I., León, M., Berbegal, M., Armengol, J. y Luque, J. (2020). A qPCR-based method for the detection and quantification of the peach powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in epidemiological studies. *Eur J Plant Pathol* 158, 1005–1016 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02136-0>
- May-De Mio, LL, Luo, Y., y Michailides, TJ (2011). Sensibilidad de *Monilinia fructicola* de Brasil al tebuconazol, azoxistrobina y tiofanato-metil e implicaciones para el manejo de enfermedades. *Plant disease* , 95 (7), 821-827. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-10-0511>
- Melgarejo, N. P., García-Jiménez, J., Jordá, G. M. C., López, G. M. M., Andrés, Y. M. F. y Duran-Vila, N. (2010). Patógenos de plantas descritos en España. Ministerios de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 2da Edit. Pp. 716.

- National Center for Biotechnology Information (NCBI). Taxonomy Browser.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>. Fecha de consulta:
septiembre del 2024.
- Nativitas-Lima, I., Leyva-Mir, S. G., Tovar-Pedraza, J. M., Leyva-Madrigal, K. Y.,
Nativitas-Lima, R., Cabrera-Hidalgo, A. J. y Camacho-Tapia, M. (2023). First repost
of peach scab caused by *Cladosporium tenuissimum* in México. Plant disease. Disease
Note. 1 p.
- Nesi, C. N., Alves, G., Ribeiro, P. J., y May De Mio, L. L. (2014). Heterogeneity of peach
rust disease progress within the tree canopy. *European journal of plant
pathology*, 139, 663-677. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0421-x>
- Osinaga, C. y Antezana, O. (2012). Roya del duraznero: *Tranzschelia discolor*. CABI
PlantwisePlus. Hojas volantes para agricultores.
<https://doi.org/10.1079/pwkb.20127801120>
- Palwasha, y Fahim, M. (2022). Significance and implications of farming practices,
knowledge and methods of disease management in developing countries: a case study
of peach farmers in Pakistan. DOI: [10.17582/journal.sja/2022/38.2.595.610](https://doi.org/10.17582/journal.sja/2022/38.2.595.610)
- Papavasileiou, A., Madesis, P. B., y Karaoglanidis, G. S. (2016). Identification and
differentiation of *Monilinia* species causing brown rot of pome and stone fruit using
High-Resolution Melting (HRM) Analysis. *Phytopathology*, 106(9), 1055–
1064. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-16-0016-R>
- Patiño-Pacheco, M. J., y Fonseca-Carreño, J. A. (2024). Biological control of *Monilinia*
fructicola (G. Winter) Honey using two isolates of *Bacillus subtilis* on
peaches. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 18(1).
<https://doi.org/10.17584/rcch.2024v18i1.16733>

- Peter, K. A. (2023). Enfermedad del melocotón: sarna. Disponible en: <https://extension.psu.edu/peach-disease-scab>. Fecha de consulta: 10 de octubre del 2023.
- Procuraduría Federal del Consumidor (2022). Durazno. Terciopelo en tu boca. Disponible en: <https://www.gob.mx/profeco/documentos/durazno-terciopelo-en-tu-boca?state=published>. Fecha de consulta: 18 de septiembre del 2024.
- Rossi, V., Bolognesi, M. y Giosué, S. (2007). Seasonal Dynamics of *Taphrina deformans* Inoculum in Peach Orchards. *Ecology and Epidemiology*. 97(3): 352-358.
- Schnabel, G. y Brannen, P. M. (2022). Biology, epidemiology, and management of diseases of peach driving the spray program in the southeastern United States. *Scientia Horticulturae*, 295, 110818. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110818>
- Schnabel, G., y Layne, D. R. (2004). Comparison of reduced-application and sulfur-based fungicide programs on scab intensity, fruit quality, and cost of disease control on peach. *Plant Dis*, 88(2), 162-166. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.2.162>
- Shan, X., Zhang, C., Li, J., Duan, Y., y Huang, Y. (2024). *Pseudomonas protegens* controlled brown rot (*Monilinia fructicola*) on peach fruit in postharvest by suppressing fungal development and inducing plant defense-related genes. *Postharvest Biology and Technology*, 213, 112971. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2024.112971>
- Song, H. W., Xu, N. N., Gao, D. L., Hu, Z. J., Zhuang, Z. G., Liu, Y., Wu, X., y Zhuang, Z. X. (2021). Inhibitory effects of sixteen fungicides on mycelial growth and spore germination of *Monilinia fructicola*. *Plant Diseases and Pest*, 12(1), 31-35. DOI: [10.19579/j.cnki.plant-d.p.2021.01.007](https://doi.org/10.19579/j.cnki.plant-d.p.2021.01.007)

- Sun, X., Yuan, S., Shen, S., Geng, H., Liu, J., Cui, Z., ... y Wang, H. (2023). First Report of Rust Caused by *Tranzschelia discolor* on Peach Leaves in Shenzhou, China. *Plant Disease*, 107(4), 1235. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-22-1667-PDN>
- Svetaz, L., Bustamante, C. A., Goldy, C., Rivero, N., Muller, G. L., Valentini, G. H., Fernie, A. R., Drincovich, M. F. y Lara, M. V. (2017). Unravelling early events in the *Taphrina deformans*–*Prunus persica* interaction: an insight into the differential responses in resistant and susceptible genotypes. *Plant, Cell, and Environment* 40(1):1456-1473.
- University of Illinois. (2017). Powdery mildew of stone fruits. Report on Plant disease. 3 p.
- Yao, N., Ni, F., Wang, Z., Luo, J., Sung, W. K., Luo, C., & Li, G. (2021). L2MXception: an improved Xception network for classification of peach diseases. *Plant Methods*, 17, 1-13. <https://doi.org/10.1186/s13007-021-00736-3>
- Zhou, Y., Fan, F., Chaisiri, C., Zhu, Y. T., Zhao, Y., Luo, M. K., Li, X. C., Yin, L. F., Yin, W. X., y Luo, C. X. (2021). Sensitivity of *Venturia carpophila* from China to five fungicides and characterization of carbendazim-resistant isolates. *Plant Disease*, 105(12), 3990-3997. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0694-RE>
- Zhou, Y., Zhang, L., Fan, F., Wang, Z., Huang, Y., Yin, L., Yin, W. y Luo, C. (2021). Genome Sequence of *venturia carpophila*, the Causal Agent pf Peach scab. *MPMI* 34(7), 852-856. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-20-0321-A>

CAPITULO II. EFECTO DEL ÁCIDO γ -AMINO BUTÍRICO (AGAB) Y ÁCIDO JASMÓNICO (AJ) EN LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA A *Monilinia fructicola*, EN FRUTOS DE DURAZNO

RESUMEN

Las enfermedades postcosecha representan una amenaza significativa para la producción de durazno. En las últimas décadas, se han evaluado diversas alternativas para su manejo, incluyendo el uso de inductores de resistencia. En este estudio se evaluó la aplicación exógena de ácido γ -aminobutírico (AGAB) y ácido jasmónico (AJ) en frutos de durazno inoculados con *Monilinia* spp. Los frutos fueron atomizados con diferentes concentraciones y el testigo fue tratado con agua destilada estéril. Posteriormente, se les realizaron heridas con una aguja de insulina en las dos direcciones perpendiculares alrededor de la sección ecuatorial y se inocularon con una suspensión de esporas (1×10^5) del patógeno. Los frutos fueron almacenados en cámaras húmedas, y se registró la severidad de la enfermedad midiendo el diámetro de la lesión en las dos direcciones.

Se realizaron dos experimentos, en el primer año se usaron las concentraciones de 0.4, 0.8 y 1.2 mM de AJ y 25, 50 y 75 mM de AGAB. En el segundo solo se utilizó AJ con dosis de 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75 y 2.0 mM, además se incluyeron evaluaciones de fenoles totales. En el primer año, los resultados indicaron que la aplicación de 1.2 mM de AJ redujo la severidad de *Monilinia* en un 48.6%, y resultó ser el mejor de los tratamientos. En el segundo año las concentraciones con 1.5, 1.75 y 2.0 mM de AJ fueron los mejores tratamientos, redujeron la severidad contra *Monilinia*, entre 61.7 a 69.7%. Además de aumentar la acumulación de fenoles totales entre 81.5 a 92.7% en comparación con el testigo. Aunque el uso de inductores puede ser una alternativa prometedora para el manejo de enfermedades en postcosecha, se resalta la necesidad de estudios adicionales para optimizar la aplicación de estos productos y validar su eficacia en condiciones comerciales.

Palabras clave: Postcosecha, resistencia, severidad, inoculación, AJ, AGAB.

2. 1. Introducción

Las enfermedades fúngicas representan una amenaza para la producción de alimentos (McLaughlin *et al.*, 2023). En durazno, gran parte de la pérdida de la fruta se da en la etapa postcosecha por el hongo *Monilinia* spp. (Lyousfi *et al.*, 2024). Tradicionalmente los fungicidas han sido el principal medio para controlar estos patógenos (McLaughlin *et al.*, 2023). Sin embargo, el uso excesivo puede provocar la aparición de cepas de patógenos resistentes (Ons *et al.*, 2020). Además, durante la última década fungicidas utilizados en postcosecha se han retirado del mercado. Por lo tanto, se deben encontrar alternativas para el control de la descomposición postcosecha de productos frescos (Romanazzi *et al.*, 2016). Entre otras alternativas se encuentra la activación de los mecanismos de defensa (Shine *et al.*, 2019).

Al percibir ciertos estímulos, las plantas desarrollan un estado condicionado de mayor capacidad defensiva frente a patógenos, lo que da lugar a la "resistencia inducida" (RI) (De kesel *et al.*, 2021). Las plantas pueden activar sus procesos metabólicos (resistencia inducida), mediante el reconocimiento de inductores de resistencia (RI) (Sandroni *et al.*, 2020). El uso de inductores de resistencia puede proporcionar una estrategia más amigable con el medio ambiente, prevenir la pérdida de cultivos y reducir la dependencia a fungicidas sintéticos (Conrath *et al.* 2015).

Los efectos benéficos de la inducción de resistencia en postcosecha se han demostrado hace tiempo (Romanazzi *et al.*, 2016). Por ejemplo, estudios como el efecto de la luz solar en mango confirmaron que el color rojo que le confiere a la cáscara no indica maduración avanzada, pero sí mayor resistencia a lesiones por frío y al ataque de patógenos (Sivankalyan *et al.*, 2016). Más reciente, se ha demostrado que inductores como compuestos de origen biológico y productos químicos sintéticos se consideran una estrategia sostenible para el

manejo postcosecha de frutas y verduras (Romanazzi *et al.*, 2016). Se ha encontrado que la aplicación de quitosano en uvas y fresas indujo genes relacionados con la defensa y protegió a la fruta contra la infección de *Botrytis cinerea* a través de la señalización del ácido jasmónico (AJ) (Peian *et al.*, 2021). Este último suele ser producido por la planta después del daño ocasionado por patógenos y está involucrado en la resistencia (Laredo-Alcalá *et al.*, 2017). También, se ha demostrado que su derivado el metil jasmonato es beneficioso para controlar la podredumbre blanda (*Botryosphaeria dothidea*) en frutos postcosecha de kiwi (Pan *et al.*, 2020). Más reportes indican que el ácido jasmónico o la vía de señal del ácido jasmónico en frutos de fresa hacen que la fruta sea resistente a *Botrytis cinerea* (Jia *et al.*, 2016). Por otro lado, otros productos estudiados en la inducción de resistencia ha sido los derivados del ácido butírico; el β -aminobutyric (ABAB) γ -aminobutyric (AGAB), este último se acumula rápidamente en plantas expuestas a diversos tipos de estrés (Ji *et al.*, 2018) y se ha reportado que la aplicación exógena de AGAB mejora la resistencia contra *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de mango postcosecha (Chen *et al.*, 2024). Por lo anterior, el objetivo fue evaluar el efecto de la aplicación exógena del ácido γ -aminobutírico (AGAB) y ácido jasmónico (AJ) en la severidad de *Monilinia* spp. en frutos de durazno y el incremento de fenoles totales en frutos.

2. 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. Aislamiento del patógeno y material vegetal

El experimento se realizó con frutos de durazno en madurez comercial, los frutos fueron cosechados a mano y trasladados al laboratorio de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. El aislamiento de *Monilinia* spp. se realizó de frutos con síntomas típicos de pudrición café en frutos de durazno, se utilizó la técnica de cultivo monospórico para la purificación del aislado, y se preparó una suspensión de conidios (1×10^5) para la posterior inoculación.

2.2.2. Experimento 1: Pruebas con ácido γ -aminobutírico (AGAB) y ácido jasmónico (AJ).

En septiembre del 2023 se recolectó de Tepeyahualco, Puebla, frutos de durazno, los cuales se seleccionaron por tamaño, color, libres de enfermedades y lesiones mecánicas y se dividieron en siete grupos. Se definieron las concentraciones (Cuadro 1) y se probaron dos metodologías para la aplicación tomando como referencia lo reportado en trabajos previos de Yao y Tian (2005), Quaglia (2011), Wang *et al.*, (2018), Wang *et al.*, (2019, 2020) y Ezzat *et al.*, (2021).

Cuadro 1. Concentraciones y tratamientos propuestos de ácido jasmónico (AJ) y ácido γ -aminobutírico (AGAB) en frutos de durazno en el experimento 1, año 2023

Tratamiento	Ácido	Concentración (mM)
T1	Control: Agua destilada esterilizada+ etanol.	
T2	AGAB*	25
T3	AGAB	50
T4	AGAB	75
T5	Jasmónico	0.4
T6	Jasmónico	0.8
T7	Jasmónico	1.2

*: Ácido γ -aminobutírico

Para realizar la dilución de los ácidos se utilizó etanol y agua destilada estéril en una proporción 1:10, para homogenizar los tratamientos, al control se le adicionó etanol. Se realizó una solución stock de los ácidos y posteriormente se hicieron diluciones para llegar a la concentración utilizada.

2.2.2.1. Primera metodología de aplicación

Se utilizaron quince frutos por tratamiento, se consideró un fruto por repetición, los frutos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2%, se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril, y se dividieron en siete grupos. Después de dejarlos secar, cada durazno se inyectó en dos lados alrededor de la sección ecuatorial con 30 µL de cada concentración y se colocaron en cámara húmeda, después de doce horas los frutos se inocularon con 15 µL de una suspensión de esporas (1×10^5) de *Monilinia* spp., la inoculación se realizó en las heridas previamente provocadas.

Se observaron síntomas 24 h después de la inoculación, y se evaluó la severidad, con un vernier digital (Truper®), se midió dos diámetros perpendiculares de la lesión a las 24, 30, 36 y 48 h después de la inoculación, las muestras se conservaron en nitrógeno líquido para posteriores análisis.

2.2.2.2. Segunda metodología de aplicación

Se utilizaron cuatro frutos por tratamiento, un fruto por repetición, previamente seleccionados, debido a la disponibilidad del recurso. Los frutos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2%, se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril, y se dividieron en siete grupos. La aplicación de los ácidos se realizó con un atomizador y se cubrió

completamente al fruto, posteriormente se colocaron en cámara húmeda, 24 h después en los frutos se hicieron dos heridas alrededor de la sección ecuatorial, con una aguja para insulina, y se inocularon con 15 µL de suspensión de esporas de *Monilinia* spp. de (1×10^5). Cada 24 h después de la inoculación se tomaron los datos de severidad, con un vernier digital (Truper®), se midió dos diámetros perpendiculares de la lesión hasta obtener cinco registros. Se conservaron las muestras en nitrógeno líquido para posteriores análisis.

2.2.2.3. Análisis estadístico

En las dos metodologías, los tratamientos se arreglaron bajo un diseño completamente al azar, ya que al realizarse bajo condiciones controladas de laboratorio no se requirió controlar fuentes de variación externas.

Para la severidad, primero se realizó una prueba de bondad de ajuste para determinar si se podía utilizar estadística paramétrica clásica en los análisis, o en su caso si era necesario realizar algunas transformaciones y/o utilizar estadística no paramétrica, o modelo lineal generalizado con alguna distribución como la Poisson o Binomial Negativa y función de enlace el logaritmo.

Se utilizó el Modelo Lineal General para el Análisis de Varianza y la prueba de comparaciones múltiples de medias con el método de la diferencia significativa honesta de Tukey; y contrastes ortogonales para probar los efectos promedios de las dosis de ácido jasmónico vs. las dosis de ácido butírico, así como los efectos promedios del testigo vs. las dosis de ácido jasmónico, y testigo vs. ácido butírico, respectivamente.

2.2.3. Experimento 2: Pruebas con ácido jasmónico

En septiembre del 2024 se recolectó de Tepeyahualco, Puebla, frutos de durazno de la variedad diamante, se seleccionaron por tamaño, color, libres de enfermedades y lesiones mecánicas y se dividieron en nueve grupos. Se definieron las concentraciones y metodología de aplicación en base a los resultados del primer experimento (Cuadro 2).

Se realizó una solución stock de 10 mL a una concentración de 118.89 mM del ácido jasmónico, se utilizó etanol y agua destilada estéril para la dilución en una proporción 1:10, para homogenizar los tratamientos, al control se le adiciono etanol, posteriormente se hizo diluciones para llegar a las concentraciones utilizadas.

Cuadro 2. Concentraciones y tratamientos propuestos de ácido jasmónico (AJ) en frutos de durazno en el experimento 2, año 2024

Tratamiento	Concentración (mM)
T1	Control*
T2	0.25
T3	0.50
T4	0.80
T5	1.00
T6	1.25
T7	1.50
T8	1.75
T9	2.00

*Agua destilada + etanol

Se utilizaron ocho frutos por tratamiento, un fruto por repetición, se seleccionaron los frutos por tamaño, color, libres de enfermedades y lesiones mecánicas. Se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2%, se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril, y se dividieron en nueve grupos. Se atomizó cada fruto con la concentración evaluada y se colocaron en cámara húmeda. Seis horas después se realizó dos heridas alrededor de la sección ecuatorial con una aguja para insulina y se inoculó con 15 μ L de suspensión de esporas (1×10^5) de

Monilinia spp. se observaron síntomas 36 h después de la inoculación y se realizó la primera evaluación, se evaluó la severidad con un vernier digital (Truper®) cada 12 h, se midió dos diámetros perpendiculares de la lesión hasta obtener cuatro datos. Las muestras se conservaron en nitrógeno líquido.

2.2.3.1. Fenoles totales

Se midió los fenoles totales en dos ensayos usando el método Folin y Ciocalteu descrito por Waterman y Mole (1994) con ligeras modificaciones. Se pesó 0.1 g de tejido fresco de frutos de durazno, previamente conservados en nitrógeno líquido, y se colocó en viales a los cuales se les agregó 5 ml de alcohol etílico absoluto al 70%, las muestras se homogenizaron durante 10 a 20 segundos o hasta que fue necesario. Las muestras se dejaron reposar en refrigeración durante 24 h. Transcurrido el tiempo de reposo, se tomó 300 μ L de muestra y se depositó en frascos de fondo plano y se llevó a 4 mL con agua destilada estéril, posteriormente se agregó 250 μ L de folin (Sigma-Aldrich®) y se agitó hasta homogenizar las muestras, después de agitar, se dejó reposar durante 9 min, transcurrido el tiempo se agregó 750 μ L de Na_2CO_3 al 20 %, se agitó vigorosamente hasta homogenizar por completo y se dejó reposar durante 2 h en obscuridad, desde que se agregó el Na_2CO_3 . Se tomó las lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro (Genesys 10S Thermo Scientific®, EE.UU.) en el rango de 760 nm, el blanco fue H_2O destilada. La cuantificación de fenoles totales se realizó estableciendo una curva de patrón del ácido gálico, la cual mostró un ajuste con una $r^2=0.9977$, los resultados de fenoles totales se registraron como $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ pf.

2.2.3.2. Análisis estadístico

Al igual que en el experimento 1, los tratamientos se arreglaron bajo un diseño completamente al azar, ya que, no se requirió controlar fuentes de variación externas.

Nuevamente para la severidad primero se realizó una prueba de bondad de ajuste y el análisis utilizando un Modelo Lineal General. Adicionalmente se calculó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad. Se realizó un Análisis de Varianza y una prueba de comparaciones múltiples de medias con el método de la diferencia significativa honesta de Tukey.

2.3. RESULTADOS

2.3.1 Experimento 1: Pruebas con ácido γ -aminobutírico (GAB) y ácido jasmónico

Para la severidad evaluada se encontró diferencia estadística altamente significativa ($p < 0.0001$) en la segunda y tercera evaluación entre los tratamientos probados. En el contraste entre los grupos de tratamientos no se encontró diferencia estadística entre el ácido butírico vs. ácido jasmónico ($p=0.2911$), pero si en la comparación del testigo vs. ácido butírico ($p<0.0001$) y el testigo vs. ácido jasmónico ($p=0.0001$), los ácidos en promedio fueron mejores que el testigo.

Numéricamente el tratamiento con ácido jasmónico a 1.2 mM redujo la severidad de los frutos inoculados, la agrupación de medias con el método Tukey mostró que los tratamientos sometidos a la aplicación de inductores fueron estadísticamente no diferentes, excepto con el testigo en donde se obtuvo la mayor severidad (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de los diferentes tratamientos de ácido jasmónico (AJ) y ácido γ -aminobutírico (AGAB) sobre la severidad de *M. fructicola* en frutos de durazno, en tres evaluaciones del experimento 1, año 2023

Tratamiento	Evaluaciones					
	1		2		3	
Testigo	5.71	A***	20.42	A	25.76	A
25 mMB	2.96	AB	17.81	AB	17.97	B
50 mMB	3.45	AB	14.43	BC	15.51	B
75 mMB	2.55	B	12.60	C	14.74	B
0.4 mMJ	5.18	AB	17.21	AB	19.84	AB
0.8 mMJ	4.25	AB	15.10	BC	19.10	AB
1.2 mMJ	2.60	B	11.83	C	13.24	B
Prob.*	0.0039		<0.0001		<0.0001	
DSH**	2.973		3.852		6.807	

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

2.3.2. Experimento 2: Pruebas con ácido jasmónico

Los primeros síntomas se observaron a las 36 h post-inoculación, siendo el testigo y los tratamientos con 0.25, 1.5, 0.8, 1.0 y 2.0 mM de ácido jasmónico los primeros en manifestar síntomas de infección. Las posteriores evaluaciones indicaron que, desde un punto de vista estadístico, la severidad de la enfermedad fue muy similar entre los tratamientos, sin embargo, el testigo y la concentración más baja (0.25 mM) presentaron consistentemente la mayor severidad. Para la última evaluación, tanto el testigo como el tratamiento de 0.25 mM de ácido jasmónico continuaron mostrando el mayor daño en los frutos. En contraste, el tratamiento con 2.0 mM reportó la menor severidad, lo que sugiere fue el más eficiente en reducir el daño. Sin embargo, este tratamiento mostró un comportamiento estadísticamente igual a los tratamientos 1.5 y 1.75 mM de ácido jasmónico, lo que indica que estas concentraciones también son útiles para reducir la severidad de la enfermedad (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de los diferentes tratamientos con ácido jasmónico (AJ) sobre la severidad de *M. fructicola* en frutos de durazno, en cuatro evaluaciones del experimento 2, año 2024

Tratamiento	Evaluaciones							
	1		2		3		4	
Testigo	5.74	A***	7.16	AB	16.21	AB	25.06	A
0.25 mMJ	4.43	AB	7.94	A	17.89	A	23.74	AB
0.5 mMJ	-	-	6.38	ABC	12.89	BC	20.94	BC
0.8 mMJ	3.07	B	6.26	ABC	11.87	CD	18.49	CD
1.0 mMJ	3.06	B	5.93	ABC	10.53	CDE	16.05	D
1.25 mMJ	-	-	3.12	C	9.48	DEF	12.74	E
1.5 mMJ	3.39	B	3.39	C	8.09	EF	8.95	F
1.75 mMJ	-	-	3.53	BC	6.17	FG	9.58	F
2.0 mMJ	2.74	B	4.77	ABC	4.23	G	7.58	F
Prob.*	0.0005		0.0002		<0.0001		<0.0001	
DSH**	2.030		3.708		3.349		3.158	

*: Probabilidad de error tipo1 en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

Efecto en el contenido de fenoles

El análisis de varianza reveló diferencia estadística altamente significativa ($p<0.0001$) en el contenido de fenoles totales entre los tratamientos probados (Cuadro 5). Los valores más bajos se registraron sin la aplicación y en la concentración más baja de AJ (0.25 mM). En cambio, los tratamientos con las concentraciones más altas de AJ presentaron los niveles más altos de fenoles.

Cuadro 5. Contenido de fenoles totales (mg g⁻¹ PF), en frutos de durazno tratados con diferentes concentraciones de ácido jasmónico (AJ) a través de la combinación de los ensayos, año 2024

Tratamiento	Evaluaciones					
	1		2		3	
Testigo	17.48	E***	18.45	D	17.96	E
0.25 mM	19.58	E	19.85	D	19.71	E
0.5 mM	24.74	D	24.95	C	24.84	D
0.8 mM	25.73	CD	26.03	BC	25.88	D
1.0 mM	28.48	C	29.33	B	28.91	C

1.25 mM	31.48	B	32.77	A	32.13	B
1.5 mM	34.57	A	34.66	A	34.62	A
1.75 mM	32.22	AB	32.96	A	32.59	B
2.0 mM	34.81	A	32.97	A	33.89	AB
Prob.*	<0.0001		<0.0001		<0.0001	
DSH**	2.843		3.443		1.888	

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

El modelo de regresión lineal simple aplicado en el ensayo 1 (Cuadro 6) mostró diferencia estadística altamente significativa ($p<0.0001$) para el coeficiente de regresión, con un coeficiente de determinación de $R^2=0.91$. El modelo ajustado se expresó como: Fenoles totales (mg g^{-1} PF) = $18.76 + 8.87 \times (\text{mM ácido jasmónico})$. Este resultado indica por cada incremento de 1 mM en la concentración de ácido jasmónico, la concentración de fenoles se incrementó en 8.87 mg g^{-1} PF.

En el ensayo 2 (Cuadro 6), se obtuvo un comportamiento similar, con una diferencia estadística altamente significativa ($p<0.0001$) y un coeficiente de determinación de $R^2=0.85$. El modelo ajustado fue: Fenoles totales (mg g^{-1} PF) = $19.69 + 8.26 \times (\text{mM ácido jasmónico})$. Es decir, por cada mM de ácido jasmónico aplicado, la concentración de fenoles se incrementó en 8.26 mg g^{-1} PF.

Cuando se consideraron ambos ensayos de manera conjunta en un análisis combinado (Cuadro 6), el modelo de regresión lineal simple también mostró una diferencia altamente significativa ($p<0.0001$), con un coeficiente de determinación de $R^2=0.88$. El modelo ajustado fue: Fenoles totales (mg g^{-1} PF) = $19.22 + 8.57 \times (\text{mM ácido jasmónico})$.

Estos resultados evidencian que por cada mM de ácido jasmónico aplicado, la concentración de fenoles se incrementó en 8.57 mg g^{-1} PF. En consecuencia, el contenido de fenoles fue directamente proporcional a las dosis crecientes de ácido jasmónico.

Cuadro 6. Regresión lineal simple de los fenoles totales en los frutos de durazno tratados con ácido jasmónico (AJ) en los ensayos individuales y a través de los ensayos, año 2024

Ensayo	β_0^*	β_1^{**}	Prob. (β_1) ***	R^2^{****}
1	18.75	8.87	<0.0001	0.91
2	19.69	8.26	<0.0001	0.85
Combinado	19.22	8.57	<0.0001	0.88

*Intercepto; **Coeficiente de regresión; ***Probabilidad; ****Coeficiente de Determinación.

2.4 DISCUSIÓN

Existen muchos reportes del uso de inductores de resistencia en postcosecha, por lo tanto, también diferentes metodologías, Wang y colaboradores (2018), utilizaron ácido β -aminobutírico para inducir resistencia a frutos de durazno postcosecha contra *Rhizopus*, para la aplicación los frutos fueron perforados alrededor de la sección ecuatorial e inyectados con 30 μ L de la concentración a evaluar. En otro trabajo los frutos de durazno fueron sumergidos en una solución con las concentraciones de metil jasmonato (MeJA) y ácido salicílico (AS) durante una hora (Ezzat *et al.*, 2021), igual lo hicieron Zhao y colaboradores (2021), solo que sumergieron los frutos durante 30 segundos. Ambas metodologías reportaron una mejora en el sistema de defensa, redujeron la severidad de la enfermedad y activaron enzimas relacionadas con la defensa, así como una mayor actividad enzimática (Wang *et al.*, 2018; Ezzat *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2021). Cuando se usó la primera metodología desde el principio existieron dificultades, se realizaron las heridas en los frutos y al intentar inyectarlos, las gotas quedaban en la superficie y en la mayoría de los casos se rompía la tensión superficial, por lo tanto se escurrían, con esta metodología no se puede confirmar si realmente el producto aplicado tendrá efecto en el fruto al ser absorbido o de lo contrario se perderá por escurrimiento, se decidió no utilizar la información obtenida por esta metodología, porque no se vio efecto en las concentraciones. La metodología propuesta por

Ezzat y colaboradores (2018) resultó ser mejor y más práctica para cuando se utilizan muchos frutos, solo se hicieron ligeras modificaciones.

Como se ha descrito las hormonas vegetales o fitohormonas regulan la defensa de las plantas contra patógenos, así como el desarrollo y crecimiento (Berens *et al.*, 2017). El ácido jasmónico (AJ) es una hormona vegetal implicada en la defensa de las plantas contra el estrés biótico y abiótico (Ghorbel *et al.*, 2021). Se ha reportado que la aplicación de metil jasmonato (MeJA) en durazno promueve la señalización de AJ (Chen *et al.*, 2019). Es por lo que en muchos estudios se ha utilizado el MeJA como precursor para activar la defensa de las plantas mediada por AJ. Se probó la eficacia de $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de metil jasmonato MeJA y *Cryptococcus laurentii*, solos y en combinación, los resultaron indicaron que combinando *C. laurentii* a $5 \times 10^7 \text{ UFC ml}^{-1}$ con MeJA se obtiene un menor diámetro de lesión de podredumbre parda y moho azul causados por *M. fructicola* y *P. expansum* (Yao *et al.*, 2005). Además, se ha comprobado que MeJA promueve la degradación de la clorofila en los frutos y la acumulación de antocianina, la mejora de los compuestos volátiles retrasa el ablandamiento del fruto y promueve mayor actividad enzimática (SOD, POD, CAT, PPO) lo que se traduce en el aumento del antiestrés y reduce el contenido de etileno endógeno en la fruta (Wei *et al.*, 2017). Otros trabajos donde se ha utilizado AJ directamente, se ha reportado que la inmersión en soluciones a $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ durante 30 s controla el daño por frío en el fruto de durazno y mantiene el contenido de azúcar soluble (Zhao *et al.*, 2021). Estas investigaciones pueden validar el uso de inductores de resistencia en frutos de durazno postcosecha ya sea sometidos a estrés biótico o abiótico, y justifica lo encontrado en la presente investigación donde todos los tratamientos en los que se utilizó AJ y AGAB redujeron el crecimiento de *Monilinia* en comparación con el testigo, aunque estadísticamente no se pudo determinar el mejor tratamiento. Con 1.2 mM de AJ se obtuvo

la menor severidad de *Monilinia*, este resultado puede explicarse con lo reportado por Cheng y colaboradores (2023), quienes sometieron frutos de durazno a la infección por *Monilinia fructicola*, y confirmaron que tras las primeras 12 h de infección los duraznos respondieron mediante AJ como molécula señal, pero después de 48 h la molécula señal fue ácido salicílico. Los resultados en el segundo experimento, donde solo se utilizó AJ, se encontró que los tratamientos con 1.50, 1.75 y 2.0 mM redujeron la severidad de *Monilinia* en comparación con el testigo y las dosis bajas. Ji y colaboradores (2021), confirmaron que la aplicación de 10 μ M de MeJA redujo la incidencia y severidad de la infección por podredumbre blanda en frutos de durazno y se sugiere que MeJA indujo resistencia contra *R. stolonifer* al regular la biosíntesis de AJ en el fruto, MeJA aumentó la expresión de los genes biosintéticos de AJ. Este último trabajo demuestra que MeJA activó los genes involucrados en la vía biosintética de AJ lo que llevó a mayor producción de esta hormona, por lo tanto, AJ estuvo involucrado en la respuesta de defensa, con esta explicación se puede entender los resultados obtenidos en el primer y segundo experimento, donde con la aplicación directa de AJ hubo reducción de la severidad en las dosis más altas, sin embargo, es necesario precisar que este análisis se hace únicamente tomando como referencia los resultados obtenidos de severidad, y que para entender más a fondo es necesario análisis como expresión de genes y enzimas relacionadas con la defensa. Sin embargo, si se integró prueba de fenoles totales, los resultados indicaron que, con las dosis más altas de AJ, se estimuló la acumulación de fenoles a diferencia del control y las dosis bajas. Se ha mencionado que la producción de enzimas y metabolitos en el durazno cosechado está relacionada con la resistencia a enfermedades como *Monilinia fructicola*, la aplicación externa de inductores de resistencia como el óxido nítrico incrementó significativamente el contenido total de compuestos fenólicos en el durazno (Li *et al.*, 2016). Al igual lo hizo la aplicación de MeJA al reducir significativamente las

enfermedades postcosecha, potencializó la actividad de las enzimas al igual que el nivel de fenoles totales en la fruta tratada, y fue mayor que en el testigo (Jin *et al.*, 2009). Xie y colaboradores (2024), demostraron que la aplicación de MeJA exógeno promueve la acumulación de compuestos fenólicos. Es importante señalar que aunque el aumento en la acumulación de fenoles se dio a través de la aplicación de MeJA, este MeJA exógeno aumenta el contenido de AJ endógeno al mejorar la expresión de genes para la biosíntesis de AJ, además, mejora la resistencia a enfermedades al activar la expresión de genes de transducción de señales de AJ (Xie *et al.*, 2024).

2.5. CONCLUSIONES

El uso de inductores AJ y AGAB redujo la severidad de *Monilinia fructicola*, y promovió la acumulación de fenoles totales en los frutos tratados en comparación con el testigo. No obstante, no fue posible determinar si esta reducción se puede asociar con la activación de genes involucrados en la defensa, o con incremento en la actividad enzimática, se requiere de estudios adicionales para su confirmación. Aunque el uso de inductores puede ser una alternativa prometedora para el manejo de enfermedades en postcosecha, en este estudio los mejores tratamientos lograron reducir la severidad en un 48.6 % con la dosis de 1.2 mM de AJ en el primer experimento, y 50.8% y 69.7 % con la dosis de 1.25 mM y 2.0 mM de AJ, respectivamente, en el segundo experimento. Estos resultados indican niveles altos de severidad en los frutos tratados, lo que subraya la necesidad de realizar más estudios con los que se permita validar mejor el uso de estos productos.

LITERATURA CITADA

- Berens, ML, Berry, HM, Mine, A., Argueso, CT y Tsuda, K. (2017). Evolución de las redes de señalización hormonal en la defensa de las plantas. *Revista anual de fitopatología* , 55 (1), 401-425. 10.1146/annurev-phyto-080516-035544
- Chen, M., Guo, H., Chen, S., Li, T., Li, M., Rashid, A., ... y Wang, K. (2019). Methyl jasmonate promotes phospholipid remodeling and jasmonic acid signaling to alleviate chilling injury in peach fruit. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(35), 9958-9966. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03853>
- Chen, Y., Gong, D., Li, M., Gao, Z., Sun, J., Yang, Y., ... y Hu, M. (2024). γ -Aminobutyric acid enhances resistance in postharvest mango fruits to *Colletotrichum gloeosporioides* by activating related defense mechanisms. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 134, 102422. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2024.102422>
- Cheng, C., Yan, C. Y., Qi, C. T., Zhao, X. L., Liu, L. X., Guo, Y. Y., ... y Liu, Y. G. (2023). Metabolome and transcriptome analysis of postharvest peach fruit in response to fungal pathogen *Monilinia fructicola* infection. *LWT*, 173, 114301. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114301>
- Conrath, U., Beckers, G. J., Langenbach, C. J. y Jaskiewicz, M. R. (2015). Priming for enhanced defense. *Annual Review of Phytopathology*, 53. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120132>
- De Kesel, J., Conrath, U., Flors, V., Luna, E., Magerony, M., Mauch-Mani, B., Pastor, V., Pozo, M., Pieterse, C., Ton, J. y Kyndt, T. (2021). The induced Resistance Lexicon: Do's and Don'ts. *Trends in Plant Science*. 26(7), 685-691. Doi. 10.1016/j.tplants.2021.01.001

- Ezzat, A., Szabó, S., Szabó, Z., Hegedus, A., Berényi, D. y Holb, I. J. (2021). Temporal Patterns and Inter-Correlations among Physical and Antioxidant Attributes and Enzyme Activities of Apricot Fruit Inoculated with *Monilinia laxa* under Salicylic Acid and Methyl Jasmonate Treatments under Shelf-Life Conditions. *Journal of Fungi*, 7:341. doi.org/10.3390/jof7050341
- Ghorbel, M., Brini, F., Sharma, A., y Landi, M. (2021). Role of jasmonic acid in plants: the molecular point of view. *Plant Cell Reports*, 40, 1471-1494. <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02687-4>
- Ji, J., Yue, J., Xie, T., Chen, W., Du, C., Chang, E., ... y Shi, S. (2018). Roles of γ -aminobutyric acid on salinity-responsive genes at transcriptomic level in poplar: Involving in abscisic acid and ethylene-signalling pathways. *Planta*, 248, 675-690. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2915-9>
- Ji, N., Wang, J., Zuo, X., Li, Y., Li, M., Wang, K., ... y Zheng, Y. (2021). PpWRKY45 is involved in methyl jasmonate primed disease resistance by enhancing the expression of jasmonate acid biosynthetic and pathogenesis-related genes of peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 172, 111390. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111390>
- Jia, H., Zhang, C., Pervaiz, T., Zhao, P., Liu, Z., Wang, B., ... y Qian, J. (2016). Jasmonic acid involves in grape fruit ripening and resistant against *Botrytis cinerea*. *Functional & integrative genomics*, 16, 79-94. <https://doi.org/10.1007/s10142-015-0468-6>
- Jin, P., Zheng, Y., Tang, S., Rui, H., y Wang, C. Y. (2009). Enhancing disease resistance in peach fruit with methyl jasmonate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(5), 802-808. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3516>

- Laredo-Alcala, E. I., Martinez-Hernandez, J. L., Guillen-Cisneros, L., & Hernandez-Castillo, F. D. (2017). Jasmonic acid production via liquid fermentation with *Botryodiplodia theobromae* strains natives to southeast mexico. *Agrociencia*, 51(8), 885-893. ISSN 2521-9766
- Li, G., Zhu, S., Wu, W., Zhang, C., Peng, Y., Wang, Q., y Shi, J. (2017). Exogenous nitric oxide induces disease resistance against *Monilinia fructicola* through activating the phenylpropanoid pathway in peach fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(9), 3030-3038. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8146>
- Lyousfi, N., Blenzar, A., Taoussi, M., Laasli, S. E., y Lahlali, R. (2024). Brown Rot Disease Caused by Fungal Pathogens *Monilinia* spp.: A Serious Threat to Pome and Stone Fruit Production Worldwide and Current Threat in Morocco. *Recent Advances in Postharvest Technologies, Volume 2: Postharvest Applications*, 129-166.
- McLaughlin, M., Ron, M., Abbasi, P., Carisse, O., Yurgel, S. y Ali, S. (2023). Why Do We Need Alternative Methods for Fungal Disease Management in Plants?. *Plants*, 12(22), 3822. doi10.3390/plants12223822
- Meena, M., Yadav, G., Sonigra, P., Nagda, A., Mehta, T., Swapnil, P., Harish. y Marwal, A. (2022). Role of elicitors to initiate the induction of systemic resistance in plants to biotic stress. *Plant Stress*, 5, 100103. doi10.1016/j.stress.2022.100103
- Ons, L., Bylemans, D., Thevissen, K. y Cammue, B. (2020). Combining Biocontrol Agents with Chemical Fungicides for Integrated plant Fungal disease Control. *Microorganisms*, 8(12), 1930. doi10.3390/microorganisms8121930
- Pan, L., Zhao, X., Chen, M., Fu, Y., Xiang, M., y Chen, J. (2020). Effect of exogenous methyl jasmonate treatment on disease resistance of postharvest kiwifruit. *Food Chemistry*, 305, 125483. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125483>

- Peian, Z., Haifeng, J., Peijie, G., Sadeghnezhad, E., Qianqian, P., Tianyu, D., ... y Jinggui, F. (2021). Chitosan induces jasmonic acid production leading to resistance of ripened fruit against *Botrytis cinerea* infection. *Food Chemistry*, 337, 127772. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127772>
- Quaglia, M., Ederli, L., Pasqualini, S. y Zazzerini, A. (2011). Biological control agents and chemical inducers of resistance for postharvest control of *Penicillium expansum* Link. on apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 59(3), 307–315. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.09.007>
- Romanazzi, G., Sanzani, S. M., Bi, Y., Tian, S., Gutiérrez Martínez, P. y Alkan, N. (2016). Induced resistance to control postharvest decay of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 82–94. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.08.003>
- Sandroni, M., Liljeroth, E., Muligeta, T. y Alexandersson, E. (2020). Plant resistance inducers (PRIs): perspectives for future disease management in the field. *CABI Reviews*. 15(1):1-10. doi: 10.1079/PAVSNNR202015001
- Shine, M. B., Xiao, X., Kachroo, P. y Kachroo, A. (2019). Signaling mechanisms underlying systemic acquired resistance to microbial pathogens. *Plant Science*, 279, 81-86. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.01.001>
- Sivankalyani, V., Feygenberg, O., Diskin, S., Wright, B., y Alkan, N. (2016). Increased anthocyanin and flavonoids in mango fruit peel are associated with cold and pathogen resistance. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 132-139. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.08.001>

- Wang, J., Cao, S., Wang, L., Wang, X., Jin, P. y Zheng, Y. (2018). Effect of β -Aminobutyric Acid on Disease Resistance Against *Rhizopus* Rot in Harvested Peaches. *Frontiers in Microbiology*. 9:1505. doi: 10.3389/fmicb.2018.01505
- Wang, K., Li, C., Lei, C., Jiang, Y., Qiu, L., Zou, X. y Zheng, Y., (2020). β -aminobutyric acid induces priming defence against *Botrytis cinerea* in grapefruit by reducing intercellular redox status that modifies posttranslation of VvNPR1 and its interaction with VvTGA. *Plant Physiology and Biochemistry* 156:552-565. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.09.026>
- Wang, K., Wu, D., Bo, Z., Chen, S., Wang, Z., Zheng, Y. y Fang, Y. (2019). Regulation of redox status contributes to priming defense against *Botrytis cinerea* in grape berries treated with β -aminobutyric acid. *Scientia Horticulturae* 244:352-364. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.09.074>
- Wei, J., Wen, X., y Tang, L. (2017). Effect of methyl jasmonic acid on peach fruit ripening progress. *Scientia Horticulturae*, 220, 206-213. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.03.004>
- Xie, G., Liu, N., Zhang, Y., Tan, S., Xu, Y., y Luo, Z. (2024). Postharvest MeJA maintains the shelf quality of kiwifruit after cold storage by regulating antioxidant capacity and activating the disease resistance. *Postharvest Biology and Technology*, 211, 112827. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2024.112827>

- Yao, H. J., y Tian, S. P. (2005). Effects of a biocontrol agent and methyl jasmonate on postharvest diseases of peach fruit and the possible mechanisms involved. *Journal of Applied Microbiology*, 98(4), 941-950. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02531.x>
- Yao, H. y Tian, S. (2005). Effects of pre- and post-harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. *Postharvest Biology and Technology*. 35:253-262 doi: 10.1016/j.postharvbio.2004.09.001
- Zhao, Y., Song, C., Brummell, D. A., Qi, S., Lin, Q., y Duan, Y. (2021). Jasmonic acid treatment alleviates chilling injury in peach fruit by promoting sugar and ethylene metabolism. *Food Chemistry*, 338, 128005. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128005>

CAPITULO III. SENSIBILIDAD DE *Monilinia* spp. A FUNGICIDAS DE DIFERENTES GRUPOS QUÍMICOS

RESUMEN

La pudrición café, causada por el género *Monilinia* spp. es de las enfermedades más importantes en durazno, además de afectar en precosecha e infectar ramitas, flores y frutos, el daño que causa en postcosecha es bastante considerable. Aunque se buscan alternativas para el manejo de la enfermedad, el principal método de control sigue siendo las aplicaciones de fungicidas. Grupos como los Carbamatos Metil Benzimidazoles (MBC); Inhibidores del Succinato Deshidrogenasa (SDHI); Inhibidores de la Quinona Exterior (Qol); Dicarboxamidas y con actividad multi-sitio, han sido utilizados alrededor del mundo para el manejo de la enfermedad. Por lo anterior, el objetivo consistió en caracterizar morfológicamente e identificar molecularmente los patógenos asociados a la pudrición café en el Estado de México, Michoacán y Puebla, caracterizar las colonias y realizar pruebas de sensibilidad de *Monilinia* spp. a diferentes fungicidas químicos. Para ello se realizaron muestreos de frutos con síntomas típicos de la enfermedad, las muestras se procesaron realizando raspados directos los cuales se colocaron en medio de cultivo PDA, para la purificación de los aislamientos se utilizó la técnica de cultivo monospórico y posteriormente se realizó la extracción de ADN para la identificación molecular. Adicional, los aislamientos se caracterizaron a las temperaturas de 19, 21 y 30± 1°C durante 7 días y se evaluaron parámetros como color de la colonia, tasa de crecimiento, esporulación, formación de anillos concéntricos y tipo de margen. Se probaron los fungicidas benomil, tiabendazol, boscalid+piraclostrobin, iprodione, captan y oxiclورو de cobre, se utilizó la técnica de medio enmendado con fungicida y para evaluar el efecto se midió el crecimiento micelial en dos direcciones, con los datos se calculó el porcentaje de inhibición y se determinó la

concentración efectiva que inhibe el 50% (CE_{50}) del crecimiento micelial. Los resultados mostraron colonias de color avellana, crema y gris-oliváceo, en la mayoría de las cepas y a las diferentes temperaturas se observó abundante esporulación, pero rara vez hubo la formación de anillos concéntricos y predominó el margen lobulado.

En las pruebas de sensibilidad, los resultados para benomil y tiabendazol la CE_{50} estuvo en un rango de 0.021 a 0.061 mg L⁻¹ y 0.145 a 0.411 mg L⁻¹, respectivamente; para boscalid+piraclostrobin la CE_{50} se encontró en un rango de 0.068 a 0.239 mg L⁻¹; y en iprodione la CE_{50} estuvo entre 0.60 a 0.242 mg L⁻¹. Con captan y oxiclورو de cobre la CE_{50} determinada fue de 10.343 a 34.280 y 92.071 a 137.805 mg L⁻¹, respectivamente. Los datos indicaron que todos los aislamientos fueron sensibles a los fungicidas probados, sin embargo, al estar clasificados con alto riesgo para el desarrollo de resistencia, se recomienda el monitoreo constante, o bien la combinación con grupos de bajo riesgo como captan y oxiclورو de cobre.

Palabras clave: Pudrición café, resistencia, benomil, boscalid+piraclostrobin, iprodione, tiabendazol, multi-sitio.

3. 1. Introducción

Monilinia fructicola es el patógeno más destructivo del género *Monilinia* (Hrustić *et al.*, 2018), es la especie responsable de causar la pudrición café en América del Sur (Abate *et al.*, 2018) incluido México. El patógeno puede infectar flores, ramitas y frutos lo que ocasiona importantes pérdidas en pre y postcosecha (Shan *et al.*, 2024). La pudrición de la fruta se considera la fase más destructiva de la enfermedad (Byrde y Willetts, 2013), ya que infecta a los frutos de durazno en cualquier etapa de crecimiento (Vall-Llaura *et al.*, 2020). El principal método de control de la pudrición café es mediante aplicaciones de fungicidas químicos en pre y postcosecha (Jia *et al.*, 2024). El uso de fungicidas específicos del sitio de acción es una estrategia efectiva para controlar la enfermedad, pero se recomienda el monitoreo constante del desarrollo de la resistencia (Dardani *et al.*, 2023).

Entre los grupos más utilizados para el control de *Monilinia*, se encuentran los fungicidas inhibidores de la respiración (IR) (Durak *et al.*, 2021) principalmente el grupo de los inhibidores externos de quinona (Qol), los Carbamatos Metil Benzimidazoles (MBC), los fungicidas inhibidores de la desmetilación (DMI) y los inhibidores del succinato deshidrogenasa (SDHI) (Chen *et al.*, 2014).

Los Qol, están clasificados por la FRAC en el grupo 11 e incluyen azoxistrobin, piraclostrobin, fenamidone, entre otros. Los MBC se encuentran en el grupo 1 e incluyen benomilo, tiabendazol, carbendazin, fuberidazole, y tiofanato de metilo como ingredientes activos. Los DMI se encuentran en el grupo 3, un grupo amplio entre los que se incluyen prochloraz, ciproconazol, propiconazol y tebuconazol. Los SDHI se encuentran en el grupo 7 e incluyen boscalid, mepronil, carboxin, entre otros. Las dicarboximidas clasificadas en el grupo 2 y donde se incluye iprodione (FRAC, 2024). Estos fungicidas, con un modo de acción específico provocan un nivel de toxicidad más favorable, sin embargo, el hongo puede

modificar o sobre expresar el gen objetivo y volverse más tolerante o incluso resistente, en cambio, el uso de fungicidas multi-sitio atacan al hongo en varios sitios que hace sea menos probable el desarrollo de resistencia, sin embargo, se utilizan dosis más altas y se puede presentar menos eficacia, ejemplos incluyen captan, cobre y azufre (Schnabel y Brannen, 2022).

Reportes indican que es posible que *Monilinia* spp. haya desarrollado resistencia a los IR, específicamente a azoxistrobina (Durak *et al.*, 2021), y a los MBC (Chen *et al.*, 2014). En otros países *M. fructicola* ha sido menos sensible a fungicidas como iprodiona, tebuconazol, clorotalonil, azoxistrobina, fluopiram y boscalid en comparación con otras especies pertenecientes al mismo género (Hrustić *et al.*, 2018), en España de 535 aislamientos colectados de *M. fructicola*, el 50 % fueron resistentes a iprodione (Egüen *et al.*, 2015).

En un estudio realizado por Akhoon *et al.*, (2023), se descubrió que varios efectores de *Monilinia* spp. evolucionan bajo la presión de selección positiva, lo que sugiere que el patógeno puede pronto volverse más resistente a los fungicidas. Por lo que la determinación de los niveles de sensibilidad de las poblaciones aisladas a través de análisis *in vitro* es uno de los puntos claves para determinar el nivel de resistencia/sensibilidad de los aislamientos y poder definir el uso más eficiente de estos productos (Durak *et al.*, 2021). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue caracterizar morfológicamente e identificar molecularmente los patógenos asociados a la pudrición café en el Estado de México, Michoacán y Puebla, y realizar pruebas de sensibilidad de *Monilinia* spp. a diferentes fungicidas químicos.

3. 2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Aislamiento y caracterización morfológica de *Monilinia* spp.

A finales de febrero de 2024 se recolectaron frutos con síntomas típicos de pudrición café en huertos de durazno en Zitácuaro, Mich. (19° 26' 35" N, 100° 18' 58" O), y a inicio de los meses de junio y julio de 2024 se realizaron muestreos en Temascaltepec, Edo. de México (19° 2' 57" N, 99° 58' 50" O) y Tepeyahualco, Pue. (19° 31' 28" N, 97° 31' 14"), respectivamente. Se realizó raspado directo a los frutos colectados, los cuales tenían esporulación típica del patógeno y se colocaron en cajas Petri con medio de cultivo PDA (papa dextrosa agar MCD LAB®), para la purificación de los aislados, se realizó la técnica de cultivo monospórico. A partir del crecimiento micelial de los cultivos puros se realizaron preparaciones semipermanentes para realizar la caracterización morfológica, las preparaciones se observaron bajo el microscopio de contraste de fases con cámara integrada (modelo DS-Ri2, Nikon ECLIPSE Ni®) a 40x y se tomaron fotografías de los conidios (n=50) con el software integrado NIS-Elements F 4.60, se midió el tamaño (largo y ancho) de los conidios con el programa Motic images Plus 3.0.

3.3.2. Postulados de Koch

Para corroborar la patogenicidad de los aislados se realizó los postulados de Koch, se utilizaron frutos de durazno en madurez comercial los cuales se desinfestaron previamente con hipoclorito de sodio al 1.5% durante minuto y medio, se lavaron dos veces con agua destilada estéril y se secaron al aire libre, posteriormente se colocaron en cámara húmeda. A los frutos se les hicieron dos heridas alrededor de la sección ecuatorial con una aguja de insulina previamente esterilizada. Para la inoculación se realizó una suspensión de esporas

entre un rango de 3.8×10^6 a 3.2×10^7 y se colocó 20 μL de la suspensión en cada herida. En algunos aislamientos en los que la esporulación de *M. fructicola* fue muy difícil se usó un tapón micelial (3 mm) colocando el micelio en contacto con la fruta.

Los frutos inoculados se mantuvieron en las cajas de plástico selladas herméticamente durante 7 días en los cuales se observó la aparición de síntomas típicos de *M. fructicola*. Posteriormente se realizaron raspados directos a las frutas inoculadas y se colocaron en cajas Petri con PDA para re-aislar y cumplir con los postulados de Koch.

3.2.3. Identificación molecular

Para la identificación molecular se realizó extracción de ADN con el método CTAB, con aislados de a partir de siete días de crecimiento. De cada aislado se raspó la superficie con una espátula estéril de acero inoxidable, el micelio se depositó en un mortero estéril y se le agregó nitrógeno líquido, se maceró con un pistilo y se transfirió a un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL con 500 μL de buffer de extracción (Tris 100 mM, EDTA 10 mM, 2% SDS, 0.2 mg/ml de proteinasa K), se mezcló en el vórtex por 10 s y se incubó por 30 min a 65 °C. Posteriormente se agregó 700 μL de Cloroformo-alcohol isoamílico (24:1v/v), se pasó por vórtex durante 10 s y se centrifugó (Centrifuge 5810 R Eppendorf) a 13,000 g durante 10 minutos. El sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo de microcentrífuga de 1.5 mL y se agregó 700 μL de isopropanol. Los tubos se mezclaron por inversión de cuatro a cinco veces y se almacenaron a -20 °C durante 10 minutos, transcurrido el tiempo se centrifugó a 13,000 g durante 10 minutos, para sedimentar el ADN y desechar el sobrenadante. Se agregó a cada tubo 500 μL de etanol al 70 %, se centrifugó a 13,000 g por 5 minutos y nuevamente se desechó el sobrenadante. En papel absorbente se colocaron los tubos hacia abajo para escurrir

el etanol y cuando la pastilla estuvo seca se agregó 100 µL de agua estéril libre de ADNsa y ARNsa. La calidad y concentración del ADN se cuantificó mediante un espectrofotómetro Nanodrop Lite (Thermo Scientific ®, EE.UU.), y finalmente el DNA se almacenó a -20°C para su uso posterior.

Para la PCR se amplificó el espacio transcrito 2 con el uso de los primers ITS 1 (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) y 4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) (White *et al.*, 1990), la mezcla de reacción se preparó a un volumen final de 25 µL, buffer de PCR 1x, 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 0.8 µM de cada primer, 0.04 U ADN polimerasa (Promega, EE.UU.) y 4 ng de ADN. La PCR se llevó a cabo en un termociclador C-1000 (Bio-Rad, EE.UU.), con una desnaturalización inicial de 95 °C por 3 min, 35 ciclos de 95 °C por 30 s, 55 °C por 30 s, 72 °C por 1 min; y una extensión final de 72 °C por 10 min. Los productos amplificados se verificaron por electroforesis en gel de agarosa al 1 % con buffer de corrida TAE 1X. Se usaron 5 µL del producto de PCR y 3 µL de buffer de carga, para llevar a electroforesis a 90 volts. El gel se analizó con luz ultravioleta en un transiluminador M-26X usando un sistema de imágenes GelDoc-It™ 300 (UVP, EE.UU.).

Los fragmentos amplificados con los primers ITS 1/ITS 4, se purificaron mediante el protocolo de DNA clean & concentrator™-5 (Zymo Research, EE. UU.). Los fragmentos de ADN purificados se mandaron a secuenciar a Corea a la empresa MacroGen®. Las secuencias obtenidas se alinearon con la base de datos en NCBI (National Center for Biotechnology Information) con el BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Posteriormente se registró en la misma base de datos para obtener el número de acceso.

3.2.4. Caracterización de las colonias de *Monilinia* spp.

Se realizó la caracterización de las colonias (color, tasa de crecimiento, esporulación, formación de anillos concéntricos y margen) y se evaluó *in vitro* el efecto de la temperatura en el crecimiento de ocho aislados de *Monilinia* spp.

A partir de aislamientos de ocho días de crecimiento se tomó discos miceliales (5 mm de diámetro) de los márgenes de crecimiento activo y se depositó en el centro de las cajas Petri que contenía medio de cultivo PDA (papa dextrosa agar MCD LAB®), las cajas se incubaron en una incubadora (modelo RL 115, redLINE by BINDER®) a tres diferentes temperaturas (19, 21 y 30 ± 1°C) por siete días durante los cuales se midió perpendicularmente dos diámetros con un vernier digital (Truper®), con los datos obtenidos del diámetro diario de cada colonia se calculó la tasa de crecimiento (diámetro en mm día⁻¹) mediante un análisis de regresión lineal. Después de la séptima medición, se evaluó mediante observación directa los parámetros restantes, color de la colonia, esporulación, formación de anillos concéntricos y margen (lobulado o rosetado).

3.2.5. Fungicidas evaluados en las pruebas de sensibilidad

Se probaron formulaciones comerciales de diferentes fungicidas utilizados en el control de la pudrición café, los cuales se describen en el cuadro 7.

Cuadro 7. Fungicidas evaluados en la sensibilidad de *M. fructicola* (FRAC, 2024).

Código FRAC	Nombre común	Nombre comercial	i. a. ¹	MOA ²	Sitio de acción	Nombre del grupo	Grupo químico
1	Benomil	Promyl®	500 g i. a. /kg	B: Citoesqueleto y proteína motora.	B1 Tubulin polymerization	MBC Methyl Benzimidazole Carbamates	Benzimidazoles
7 11	Boscalid + piraclostrobin	Cabrio C®	380 g i.a./kg	C. respiración	C2 Complex II: succinate-dehydrogenase C3 Complex III: cytochrome bc1 (ubiquinol oxidase) at Qo site (<i>cyt b gene</i>)	SDHI (Succinate-dehydrogenase inhibitors) QoI (Quinone outside Inhibitors)	Pyridine-carboxamides. Methoxy-carbamates
M 04	Captan	Captan 50% WP®	500 g i. a. /kg	M: Chemicals with multi-site activity	Multi-site contact activity	phthalimides (electrophiles)	Phthalimides
2	Iprodione	Rovral ®	500 g i. a. /kg	E: signal transduction	E3 MAP/Histidine- Kinase in osmotic signal transduction (<i>os-1</i> , <i>Daf1</i>)	dicarboximides	Dicarboximides
M 01	Oxicloruro de cobre	Cupravit®	500 g i. a. /kg	M: Chemicals with multi-site activity	Multi-site contact activity	inorganic (electrophiles)	Inorganic
1	Tiabendazol	Tecto ®60	600 g i. a. /kg	B: Cytoskeleton and motor protein	B1 Tubulin polymerization	MBC (Methyl Benzimidazole Carbamates)	Benzimidazoles

3.2.6 Prueba de sensibilidad *in vitro* con la técnica de medio enmendado con fungicida

Las pruebas de sensibilidad se llevaron a cabo utilizando un ensayo de inhibición del crecimiento micelial. Antes de iniciar las pruebas se preparó para cada fungicida una solución stock con base a la cantidad de ingrediente activo y utilizando como solvente 40 mL de agua destilada estéril.

En el análisis *in vitro* se utilizó como medio de cultivo PDA (MCD LAB®), a una proporción de 40 g/litro de agua destilada, el medio se esterilizó a 15 libras de presión durante 15 min y se enfrió a temperatura ambiente, posteriormente se agregó la concentración del fungicida (Cuadro 8) y se vació en cajas Petri. Se realizó un análisis preliminar para determinar las cinco concentraciones de cada fungicida. Las cajas Petri modificadas (medio de cultivo + fungicida) se prepararon 24 h antes del establecimiento del ensayo.

A partir de cultivos de nueve días de crecimiento se tomaron discos miceliales (5 mm) de los márgenes de crecimiento activo y se colocaron en el centro de las cajas Petri, se utilizaron tres repeticiones por concentración. Para conocer la respuesta de *Monilinia* spp. a los diferentes fungicidas se midió dos diámetros perpendiculares del crecimiento micelial de las colonias cada 24 h hasta que el testigo llenó la caja.

Cuadro 8. Fungicidas y concentraciones utilizadas en las pruebas de sensibilidad de aislamientos de *M. fructicola*

Ingrediente activo	Concentraciones (mg L ⁻¹)				
Benomil	0.01	0.05	0.08	0.09	0.10
Boscalid+piraclostrobin	0.10	0.20	0.50	1.00	1.75
Captan	10	20	40	60	70
Iprodione	0.10	0.30	0.50	0.70	0.80
Oxicloruro de cobre	50	100	150	200	250
Tiabendazol	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40

3.2.7. Análisis estadístico

3.2.5.1 Caracterización de las colonias

Para evaluar la tasa de crecimiento diaria (diámetro en mm día⁻¹) se utilizó un modelo de regresión lineal simple a partir de las mediciones promedio del diámetro de cada colonia.

3.2.5.1 Pruebas de sensibilidad

Para el análisis de los datos, el diámetro de la colonia se ajustó restando el disco micelial de 5 mm. Se evaluó el crecimiento micelial, porcentaje de inhibición y CE₅₀. Se realizó un análisis de varianza y un análisis con un modelo de regresión logística para determinar la concentración efectiva 50 (CE₅₀).

3. 3. RESULTADOS

3.3.1. Aislamientos y caracterización de *Monilinia* spp.

Se obtuvieron ocho aislamientos, en todos se observó conidios unicelulares, blásticos formados en cadenas ramificadas, el tamaño de los conidios estuvo en un rango de 5.39-8.12 $\times$ 9.53-16.45 μ m consistentes con *M. fructicola* (EPPO, 2020) (Cuadro 9). Se obtuvieron secuencias de la región 5.8 S del ARN ribosomal, con tamaño de 512 pb, las secuencias obtenidas se analizaron con la herramienta BLASTn del NCBI (GenBank) y se encontró 100% de similitud y cobertura con *M. fructicola* (número de acceso: PQ529939).

Cuadro 9. Características de los aislamientos de *M. fructicola* obtenidos de *Prunus persica* en diferentes localidades

Aislamientos	Lugar	Planta hospedera	Tamaño de conidios (μ m)	Especie
MM-1	Zitácuaro, Mich.	<i>P. persica</i>	6.19-7.13 $\times$ 9.53-16.45	<i>M. fructicola</i>
MM-3	Zitácuaro, Mich.	<i>P. persica</i>	7.42-7.88 $\times$ 8.15-13.58	<i>M. fructicola</i>
MP-1	Tepeyahualco, Pue.	<i>P. persica</i>	6.18-8.12 $\times$ 8.85-15.74	<i>M. fructicola</i>
MP-2	Tepeyahualco, Pue.	<i>P. persica</i>	6.23-7.13 $\times$ 9.34-13.35	<i>M. fructicola</i>
MP-3	Tepeyahualco, Pue.	<i>P. persica</i>	6.78-9.2 $\times$ 10.74-13.04	<i>M. fructicola</i>
MT-4	Temascaltepec, Edo. Mex.	<i>P. persica</i>	5.92-8.25 $\times$ 9.67-15.86	<i>M. fructicola</i>
MT-5	Temascaltepec, Edo. Méx.	<i>P. persica</i>	5.39-8.12 $\times$ 9.53-14.98	<i>M. fructicola</i>
MT-6	Temascaltepec, Edo. Méx.	<i>P. persica</i>	6.51-10.03 $\times$ 9.7-14.04	<i>M. fructicola</i>

3.3.2. Postulados de Koch

Después de 4 días post-inoculación de *M. fructicola* en frutos de durazno, se observó síntomas típicos de la enfermedad en cinco de las cepas inoculadas, lesiones circulares color café claro que cubrían gran parte del fruto y en las cuales se observó abundante esporulación de color gris, a excepción de algunas cepas en las cuales se observaron lesiones de menor tamaño igualmente de color café claro, pero con poca o casi nula esporulación de color crema

(Figura 1). A los 7 días post-inoculación se observó síntomas en todas las cepas inoculadas, los frutos cubiertos de pudrición café con abundante esporulación, esto en la mayoría de las cepas, a excepción de algunas en las cuales las lesiones tardaron en desarrollarse (Figura 2).

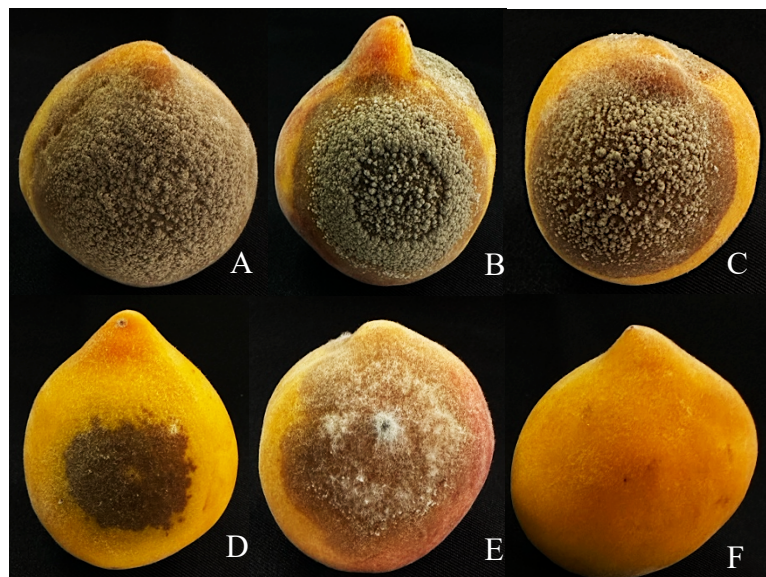


Figura 1. Frutos 4 días post-inoculación. A). Zitácuaro, Mich. (MM-3). B). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-4). C). T Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-6). D). Tepeyahualco, Pue. (MP-3). E). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-5). F). Testigo



Figura 2. Frutos 7 días post-inoculación. A). Zitácuaro, Mich. (MM-3). B). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-4). C). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-6). D). Tepeyahualco, Pue. (MP-3). E). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-5). F). Tepeyahualco, Pue. (MP-2). G). Tepeyahualco, Pue. (MP-1). H). Testigo

3.3.3. caracterización de las colonias

Las colonias de *M. fructicola* en medio PDA tuvieron una tasa de crecimiento media diferente para cada temperatura, a 19°C crecieron entre 9-11.6 mm (Cuadro 11), a 21°C crecieron entre 9.6-14.3 mm (Cuadro 12) y a 30°C únicamente de entre 1.9-6.6 mm día⁻¹ (Cuadro 13). Se observó colonias de color avellana, crema y gris-oliváceo. En casi todas las cepas y en las diferentes temperaturas se observó abundante esporulación, pero rara vez hubo la formación de anillos concéntricos y predominó el margen lobulado (Figura 3, 4 y 5).

El análisis estadístico, indicó que el crecimiento en las temperaturas de 19 y 21°C en cada aislamiento fueron estadísticamente similares entre sí, pero diferentes a la temperatura de 30°C donde se observó el menor crecimiento micelial (Cuadro 10). Por lo tanto, los resultados indicaron que las cepas son sensibles a altas temperaturas donde el crecimiento micelial es menor, aunque se sigue observando esporulación, las temperaturas de 19 a 21± 1°C resultaron ser óptimas para el crecimiento del patógeno.

Cuadro 10. Crecimiento micelial de los aislamientos de *M. fructicola* incubados a diferentes temperaturas

T °C	Aislamientos											
	MM-1		MM-3		MP-1		MP-2		MP-3		MT-4	
19	47.54	A***	40.57	A	37.65	A	38.05	A	37.44	A	46.44	A
21	45.99	A	45.90	A	42.71	A	39.96	A	36.63	A	42.12	A
30	27.00	B	26.62	B	19.06	B	21.99	B	20.96	B	13.81	B
Prob.*	0.0059		0.0203		0.0014		0.0105		0.0132		<.0001	
DSH**	13.529		13.498		12.712		12.375		12.051		12.693	

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, p=0.05).

Cuadro 11. Caracterización de las colonias de *M. fructicola*

	MM-1	MM-3	MP-1	MP-2	MP-3	MT-4	MT-5	MT-6
Color de la colonia	Avellana	Crema	Avellana	Crema	Crema	Crema-Avellana	Gris-oliváceo	Gris-oliváceo
Tasa de crecimiento	11.6 mm	11.1 mm	10.1 mm	10.4 mm	10.6 mm	11.6 mm	10.0 mm	9.1 mm
Esporulación	Abundante	Abundante	Escasa	Escasa	Escasa	Abundante	Abundante	Abundante
Anillos concéntricos	No	Si	No	No	No	No	No	No
Margen	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Lobulado

Crecimiento de las colonias en PDA a $19 \pm 1^\circ\text{C}$ incubadas durante siete días.

Cuadro 12. Caracterización de las colonias de *M. fructicola*

	MM-1	MM-3	MP-1	MP-2	MP-3	MT-4	MT-5	MT-6
Color de la colonia	Crema-grisáceo	Crema-grisáceo	Crema-Oliváceo	Gris-Oliváceo	Gris-Oliváceo	Crema-grisáceo	Crema-Grisáceo/oliváceo	Gris-Oliváceo
Tasa de crecimiento	13.4 mm	13.9 mm	14.3 mm	12.4 mm	11.7 mm	13.1 mm	10.7 mm	9.6 mm
Esporulación	Abundante	Abundante	abundante	Abundante	Abundante	Abundante	Abundante	Abundante
Anillos concéntricos	No	No	Si	Si	No	Si	No	No
Margen	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Rosetado	Lobulado	Lobulado	Rosetado

Crecimiento de las colonias en PDA a $21 \pm 1^\circ\text{C}$ incubadas durante siete días.

Cuadro 13. Caracterización de las colonias de *M. fructicola*

	MM-1	MM-3	MP-1	MP-2	MP-3	MT-4	MT-5	MT-6
Color de la colonia	Grisáceo/oliváceo	Grisáceo/avellana	Crema/Oliváceo	Crema/Oliváceo	Avellana/Oliváceo	Grisáceo	Avellana	Avellana/oliváceo
Tasa de crecimiento	6.6 mm	6.3 mm	4.2 mm	5.6 mm	5.5 mm	1.9 mm	3.9 mm	2.4 mm
Esporulación	Abundante	Abundante	Escasa	Escasa	Escasa	Abundante	Escasa	Escasa
Anillos concéntricos	No	No	No	No	No	No	No	No
Margen	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Lobulado	Lobulado

Crecimiento de las colonias en PDA a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ incubadas durante siete días.

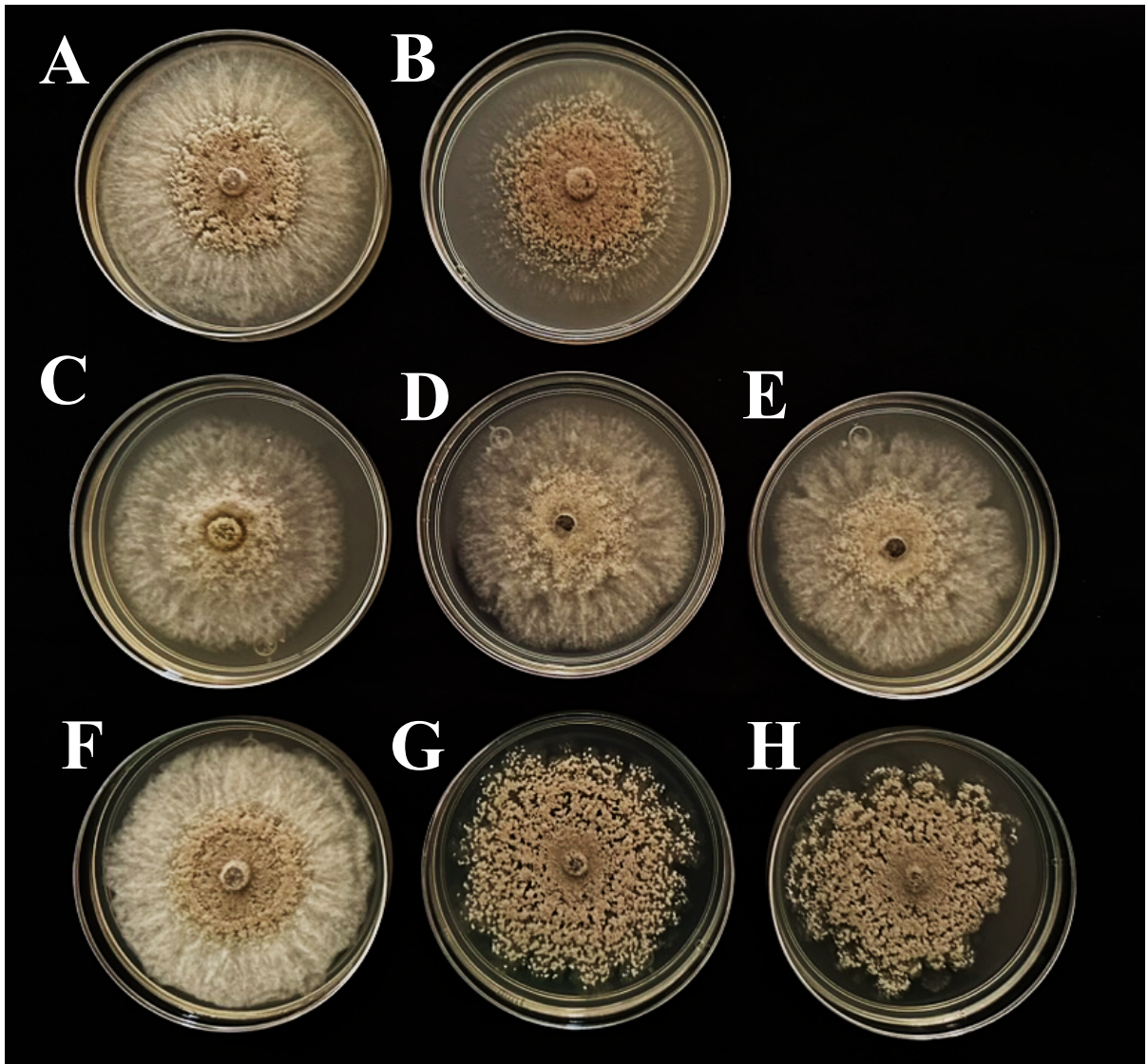


Figura 3. Crecimiento de colonias de *M. fructicola* en PDA a $19 \pm 1^\circ\text{C}$ incubadas durante siete días. A). Zitácuaro, Mich. (MM-1). B). Zitácuaro, Mich. (MM-3). C). Tepeyahualco, Pue. (MP-1). D). Tepeyahualco, Pue. (MP-2). E). Tepeyahualco, Pue. (MP-3). F). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-4). G). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-5). y H). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-6).

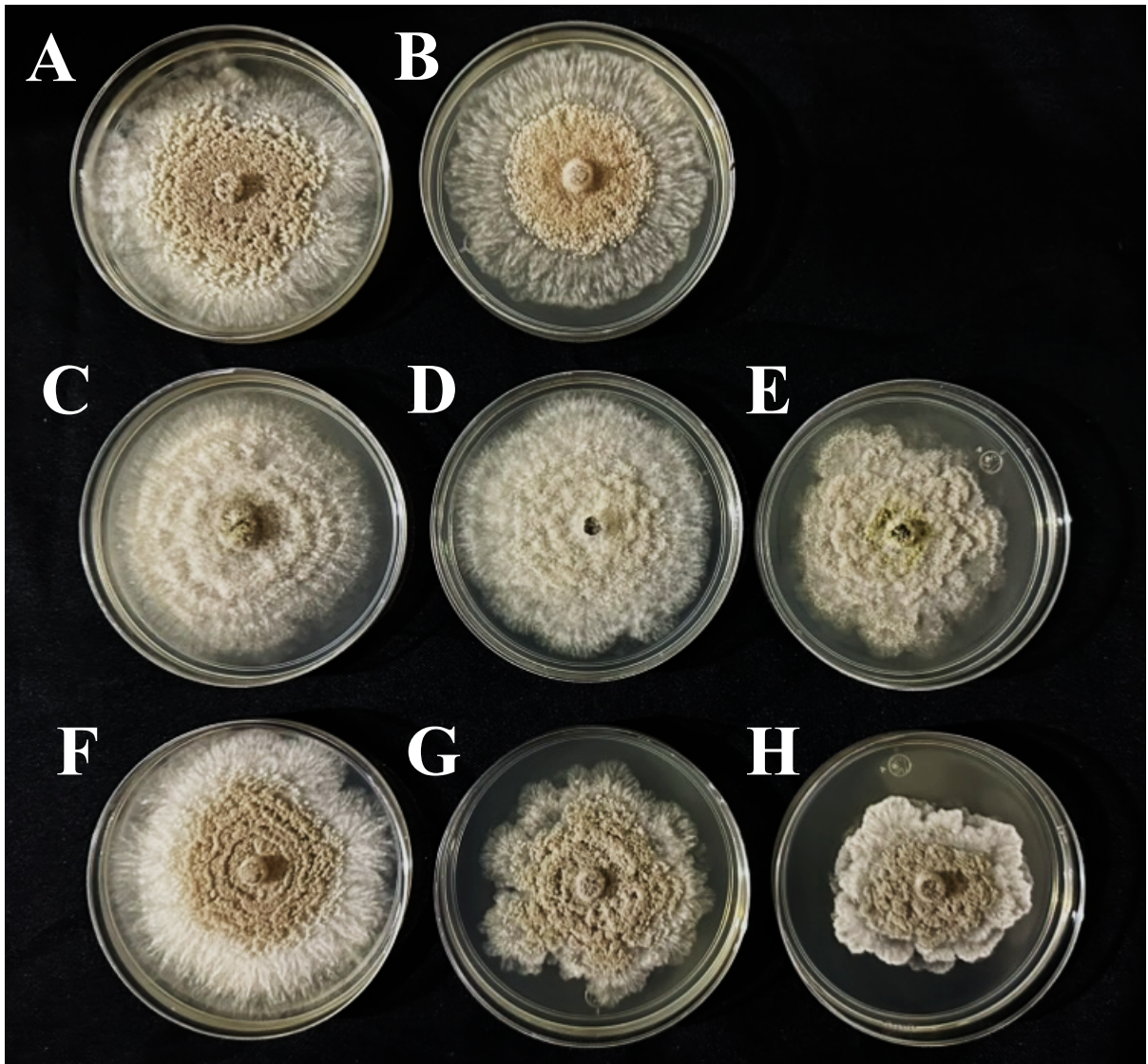


Figura 4. Crecimiento de colonias de *M. fructicola* en PDA a $21 \pm 1^\circ\text{C}$ incubadas durante siete días. A). Zitácuaro, Mich. (MM-1). B). Zitácuaro, Mich. (MM-3). C). Tepeyahualco, Pue. (MP-1). D). Tepeyahualco, Pue. (MP-2). E). Tepeyahualco, Pue. (MP-3). F). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-4). G). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-5). y H). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-6).

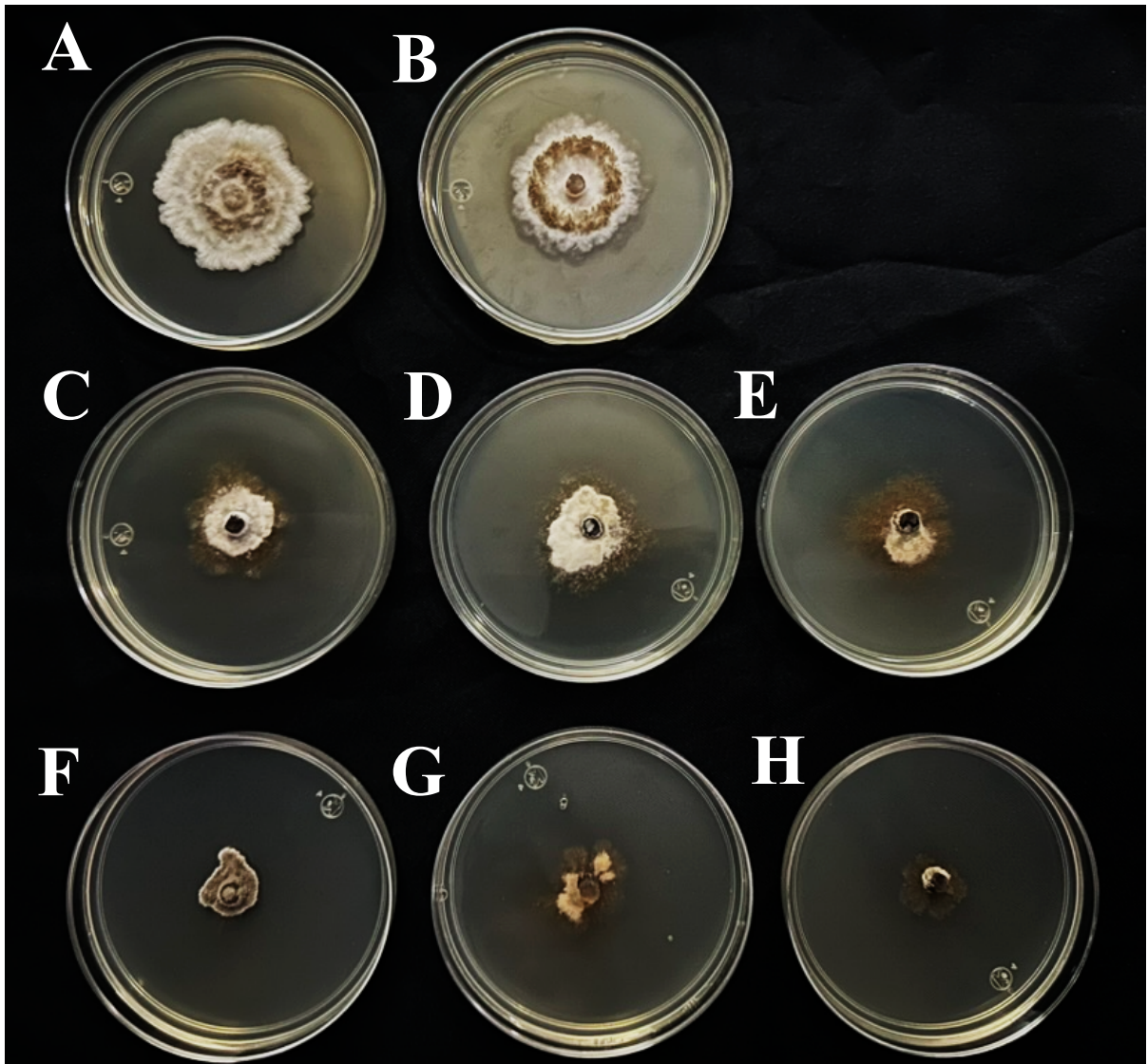


Figura 5. Crecimiento de colonias de *M. fructicola* en PDA a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ incubadas durante siete días. A). Zitácuaro, Mich. (MM-1). B). Zitácuaro, Mich. (MM-3). C). Tepeyahualco, Pue. (MP-1). D). Tepeyahualco, Pue. (MP-2). E). Tepeyahualco, Pue. (MP-3). F). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-4). G). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-5). H). Temascaltepec, Edo. Mex. (MT-6).

3.3.4. Pruebas de sensibilidad

3.3.4.1. Porcentaje de inhibición

En las cepas de Zitácuaro, Michoacán; en el análisis de varianza se encontró diferencia significativa en las concentraciones probadas ($p < 0.0001$) para todos los fungicidas y para ambas cepas MM-1 y MM-3.

En la comparación de medias con el método Tukey se encontró que las cinco concentraciones de benomil para las dos cepas, fueron estadísticamente diferentes (Cuadro 14); para boscalid+piraclostrobin las concentraciones más altas fueron estadísticamente similares entre sí, pero diferentes a las concentraciones más bajas; con los fungicidas captan e iprodione los resultados fueron muy similares en ambas cepas, diferencias no significativas entre las concentraciones altas y significativas entre las más bajas; con tiabendazol y oxiclورو en la cepa MM-1 todas las concentraciones fueron estadísticamente diferentes, y para la cepa MM-3 en tiabendazol las dos concentraciones más bajas fueron estadísticamente similares y significativamente diferentes entre las más altas (Cuadro 14).

Cuadro 14. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial en aislamientos de *M. fructicola* de Zitácuaro, Michoacán, en respuesta a diferentes fungicidas

	Benomil			Boscalid+pira			Captan			Iprodione			Tiabendazol			Oxicloruro de cobre		
	Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.	
MM-1	0.01	24.42	E***	0.1	55.65	C	10	0.33	D	0.1	52.89	D	0.05	0.00	E	50	0.00	C
	0.05	54.52	D	0.2	72.75	B	20	10.56	C	0.3	71.31	C	0.1	17.78	D	150	70.50	B
	0.08	64.55	C	0.5	88.93	A	40	65.37	B	0.5	82.77	B	0.2	48.29	C	250	78.19	A
	0.09	77.69	B	1	88.94	A	60	94.47	A	0.7	86.22	AB	0.3	74.26	B			
	0.1	87.77	A	1.75	94.88	A	70	96.25	A	0.8	90.31	A	0.4	98.76	A			
	Prob*.	<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001	
	DSH**	9.68			6.01			3.86			7.18			9.39			2.63	
MM-3	0.01	18.96	E***	0.1	45.47	D	10	9.18	C	0.1	53.60	C	0.05	24.12	D	50	0.00	C
	0.05	64.17	D	0.2	59.54	C	20	23.23	B	0.3	81.01	B	0.1	30.95	D	150	66.93	B
	0.08	86.68	C	0.5	77.72	B	40	90.93	A	0.5	88.59	A	0.2	62.78	C	250	74.00	A
	0.09	92.78	B	1	92.05	A	60	98.18	A	0.7	86.36	A	0.3	74.76	B			
	0.1	99.36	A	1.75	93.53	A	70	95.94	A	0.8	86.48	A	0.4	99.34	A			
	Prob.*	<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001	
	DSH**	5.70			12.12			10.61			4.32			7.66			5.54	

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

Para las cepas de Tepeyahualco, Puebla se encontró diferencia estadística significativa en el efecto de las concentraciones ($p < 0.0001$) en todos los fungicidas y cepas. La agrupación de medias (Cuadro 15) indicó que con benomil en MP-1, MP-2 y MP-3 las concentraciones fueron estadísticamente diferentes, excepto en las dos concentraciones más altas donde el porcentaje de inhibición fue muy similar.

Para boscalid+piraclostrobin se encontró que en las tres cepas las concentraciones fueron estadísticamente diferentes y el porcentaje de inhibición fue aumentando conforme lo iban haciendo las concentraciones, la concentración más baja rondó entre un 30 a 35 % de inhibición y la más alta arriba del 70%. Con captan la dosis más baja fue la única estadísticamente diferente al resto, en las tres cepas, a partir de la segunda dosis el porcentaje de inhibición no tuvo diferencia estadística con respecto al incremento de las concentraciones.

Para iprodione MP-2 y MP-3 tuvieron un comportamiento muy similar, conforme la concentración aumentó el porcentaje de inhibición también, por lo tanto, hubo diferencia estadística en todas las concentraciones, sin embargo, con la cepa MP-1 a partir de la tercera dosis más alta no se vio diferencia estadística con respecto al porcentaje de inhibición. Con el fungicida oxiclورو de cobre conforme la concentración aumentó el porcentaje de inhibición también y todas las concentraciones fueron estadísticamente diferentes en las cepas MP-1 y MP-3, y para MP-2 las dosis más altas fueron estadísticamente similares.

Por último, con tiabendazol, las tres cepas y en las concentraciones más bajas no hubo diferencia estadística con respecto al porcentaje de inhibición, sin embargo, a partir del incremento en las dosis se observó que el porcentaje de inhibición hizo lo mismo, por lo tanto, a partir de las dosis más altas se encontró en la agrupación de medias que las concentraciones tuvieron diferencia estadística significativa (Cuadro 15).

Cuadro 15. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial en aislamientos de *M. fructicola* de Tepeyahualco, Puebla, en respuesta a diferentes fungicidas

	Benomil			Boscalid+piraclostrobin			Captan			Iprodione			Oxicloruro			Tiabendazol		
	Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.	
MP-1	0.01	6.68	D***	0.1	35.62	E	10	25.62	B	0.1	28.70	C	50	12.52	E	0.05	7.08	C
	0.05	23.37	C	0.2	39.51	D	20	91.32	A	0.3	51.68	B	100	39.46	D	0.1	12.56	C
	0.08	77.25	B	0.5	51.21	C	40	100.00	A	0.5	66.54	A	150	67.61	C	0.2	23.64	BC
	0.09	94.37	A	1	62.76	B	60	100.00	A	0.7	71.06	A	200	75.56	B	0.3	38.44	B
	0.1	98.06	A	1.75	71.06	A	70	100.00	A	0.8	72.77	A	250	81.64	A	0.4	76.87	A
	Prob.*	<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			0.0001	
	DSH**	9.21			3.46			12.38			7.69			5.73			20.07	
MP-2	0.01	4.22	C***	0.1	29.08	D	10	12.97	B	0.1	17.78	E	50	7.69	D	0.05	1.82	C
	0.05	17.60	C	0.2	36.52	D	20	84.23	A	0.3	45.04	D	100	38.27	C	0.1	3.18	C
	0.08	63.18	B	0.5	45.45	C	40	95.45	A	0.5	58.26	C	150	65.95	B	0.2	12.74	BC
	0.09	82.06	A	1	60.20	B	60	100.00	A	0.7	69.74	B	200	72.73	AB	0.3	21.29	B
	0.1	82.10	A	1.75	74.34	A	70	100.00	A	0.8	74.91	A	250	79.57	A	0.4	81.34	A
	Prob.*	<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001	
	DSH**	17.00			8.36			25.11			3.86			7.53			14.30	
MP-3	0.01	4.72	D***	0.1	30.24	E	10	29.34	B	0.1	19.35	E	50	12.15	E	0.05	0.00	D
	0.05	20.57	C	0.2	35.99	D	20	100.00	A	0.3	43.29	D	100	27.10	D	0.1	3.31	CD
	0.08	60.01	B	0.5	47.17	C	40	100.00	A	0.5	55.83	C	150	63.76	C	0.2	8.91	BC
	0.09	93.79	A	1	63.18	B	60	100.00	A	0.7	66.64	B	200	73.49	B	0.3	14.37	B
	0.1	90.56	A	1.75	83.85	A	70	100.00	A	0.8	72.00	A	250	77.85	A	0.4	45.01	A
	Prob.*	<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001	
	DSH**	9.89			4.71			8.24			2.58			3.64			6.72	

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, p=0.05).

Para las cepas de Temascaltepec, edo. de México; el comportamiento en el efecto de las concentraciones fue similar a las cepas de Michoacán, en las tres cepas MT-4, MT-5, y MT-6 se encontró diferencia estadística altamente significativa en las concentraciones para todos los fungicidas ($p < 0.0001$). En la agrupación de medias con el método de Tukey (Cuadro 16), se encontró que para benomil en MT-4 y MT-6, hubo diferencia estadística en las concentraciones excepto para 0.08 y 0.09 mg/L⁻¹. En MT-5 las concentraciones más bajas no fueron estadísticamente diferentes e inhibieron 0% el crecimiento del patógeno (Cuadro 16). Para boscalid+piraclostrobin todas las concentraciones en la cepa MT-6 fueron estadísticamente diferentes, pero MT-4 y MT-5 las concentraciones más bajas estadísticamente tuvieron el mismo porcentaje de inhibición, así como las más altas. En captan, las cepas MT-4 y MT-5 únicamente las dos concentraciones más bajas fueron estadísticamente diferentes al resto, para la cepa MT-6 las tres concentraciones más bajas fueron estadísticamente no diferentes. Para iprodione se encontró un comportamiento similar en la agrupación de las medias en MT-4 y MT-6, en la cepa MT-5 la concentración más baja fue estadísticamente diferente al resto y donde se obtuvo el porcentaje más bajo de inhibición. Con oxiclورو de cobre la dosis más baja se obtuvo 0 % de inhibición en MT-4, MT-5 y un mínimo porcentaje de inhibición para MT-6, estadísticamente el comportamiento de las concentraciones fue muy similar en las cepas MT-4 y MT-6, a diferencia de MT-5 en donde las concentraciones más altas fueron estadísticamente no diferentes entre sí, alcanzando con la concentración más alta arriba del 70 % de inhibición. Por último, con tiabendazol las cepas MT-4 y MT-5 la dosis más baja inhibió 0 % el crecimiento del patógeno y solo para la cepa MT-5 este resultado fue estadísticamente similar a la segunda concentración más baja; con la concentración más alta en ambas cepas el porcentaje de inhibición estuvo arriba del 80 % y para MT-6 solo se logró un 66 % de inhibición (Cuadro 16).

Cuadro 16. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial en aislamientos de *M. fructicola* de Temascaltepec, estado de México, en respuesta a diferentes fungicidas

	Benomil			Boscalid+piraclostrobín			Captan			Iprodione		Oxicloruro de cobre			Tiabendazol				
	Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.	Conc.	%inhib.		Conc.	%inhib.			
MT-4	0.01	3.47	D***	0.1	42.28	C	10	20.95	C	0.1	49.88	D	50	0.00	E	0.05	0.53	D	
	0.05	40.76	C	0.2	47.97	C	20	80.01	B	0.3	75.51	C	100	13.06	D	0.1	12.11	C	
	0.08	85.02	B	0.5	79.99	B	40	99.30	A	0.5	81.63	B	150	51.70	C	0.2	42.30	B	
	0.09	89.05	AB	1	86.91	BA	60	99.05	A	0.7	90.02	A	200	68.82	B	0.3	84.22	A	
	0.1	92.43	A	1.75	97.61	A	70	99.00	A	0.8	92.76	A	250	79.02	A	0.4	89.47	A	
	Prob.*	<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001		
	DSH**	5.22			12.31			14.80			3.21			10.18			11.16		
MT-5	0.01	0.00	D***	0.1	39.13	B	10	20.12	C	0.1	29.49	C	50	0.00	D	0.05	0.00	C	
	0.05	0.72	D	0.2	53.15	B	20	45.95	B	0.3	56.51	B	100	36.14	C	0.1	2.78	C	
	0.08	43.37	C	0.5	79.06	A	40	86.57	A	0.5	63.50	B	150	56.36	B	0.2	32.21	B	
	0.09	52.00	B	1	85.86	A	60	98.13	A	0.7	79.08	A	200	68.33	AB	0.3	46.06	B	
	0.1	68.750	A	1.75	86.13	A	70	98.03	A	0.8	81.05	A	250	74.06	A	0.4	82.79	A	
	Prob.*	<0.0001			0.0008			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001		
	DSH**	7.43			19.49			19.37			7.09			15.89			13.94		
MT-6	0.01	4.36	D***	0.1	34.26	E	10	11.04	D	0.1	43.37	D	50	3.75	E	0.05	8.73	E	
	0.05	28.11	C	0.2	42.64	D	20	38.35	C	0.3	57.42	C	100	15.49	D	0.1	23.74	D	
	0.08	58.05	B	0.5	65.10	C	40	88.11	B	0.5	66.05	B	150	42.45	C	0.2	34.55	C	
	0.09	63.74	B	1	76.86	B	60	98.02	A	0.7	81.72	A	200	69.39	B	0.3	43.48	B	
	0.1	73.25	A	1.75	90.07	A	70	98.65	A	0.8	82.15	A	250	72.43	A	0.4	65.66	A	
	Prob.*	<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001			<0.0001		
	DSH**	5.72			7.08			9.11			5.22			3.03			8.61		

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, p=0.05).

3.3.4.2. Crecimiento micelial

Los resultados para Zitácuaro, Michoacán, en el análisis combinado del crecimiento micelial entre las cepas MM-1 y MM-3 se encontró diferencia estadística altamente significativa ($p < 0.0001$) en todos los fungicidas a través de las horas de evaluación. Con la agrupación de medias por el método de Tukey se encontró a las primeras 96 h que los fungicidas benomil, boscalid+piraclostrobin, captan, iprodione y tiabendazol fueron estadísticamente no diferentes, a excepción de oxiclورو de cobre que fue diferente al resto, al final de la medición 192 h tiabendazol tuvo el mayor crecimiento micelial y fue el único estadísticamente diferente al resto (Cuadro 17). Los fungicidas boscalid+piraclostrobin, iprodione y captan tuvieron el menor crecimiento micelial, por lo tanto, con las concentraciones probadas resultaron ser los mejores (Figura 6).

Cuadro 17. Análisis combinado a través de las dos cepas de Zitácuaro, Michoacán (MM-1 y MM-3), del crecimiento micelial para cada hora de evaluación

	Horas de evaluación													
Fungicidas	48		72		96		120		144		168		192	
Benomil	6.0132	B***	7.48	B	9.07	B	12.33	B	16.60	AB	21.71	B	29.69	BC
Boscalid+ piraclostrobin	6.63	B	8.26	B	10.22	B	12.30	B	14.35	B	16.46	B	18.17	C
Captan	6.61	B	8.40	B	10.85	B	13.75	AB	16.01	AB	20.17	B	21.99	C
Iprodione	6.01	B	7.64	B	10.05	B	13.34	AB	17.40	AB	20.14	B	21.54	C
Oxicloruro de cobre	9.59	A	15.80	A	19.94	A	20.25	A	21.15	AB	24.48	B	26.26	BC
Tiabendazol	6.05	B	8.55	B	12.53	B	18.23	AB	22.47	AB	26.91	B	40.17	A
Prob.*	<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001	
DSH**	1.18		2.99		4.98		7.09		9.18		11.08		14.43	

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

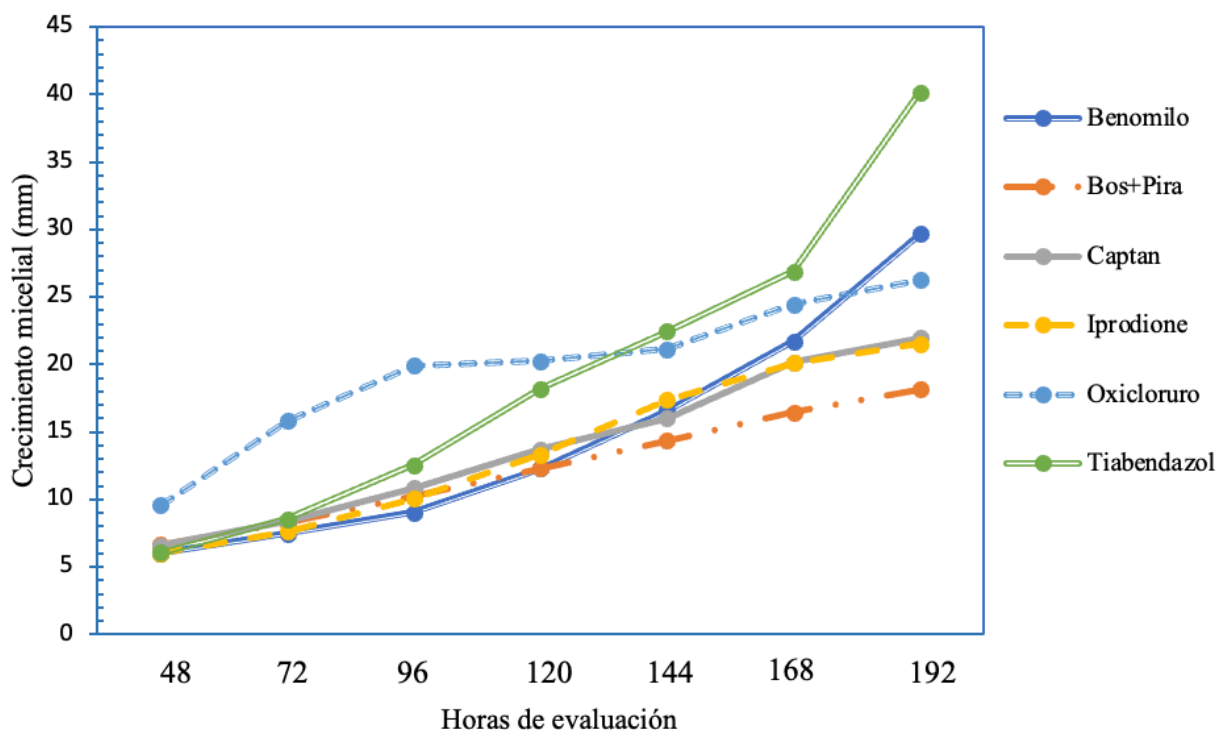


Figura 6. Crecimiento micelial, análisis combinado de las cepas de Zitácuaro, Michoacán (MM-1 y MM-3) para cada hora de evaluación

En Tepeyahualco, Puebla, se encontró diferencia estadística altamente significativa ($p < 0.0001$) para todos los fungicidas. Con la agrupación de medias (Tukey) se observó desde el inicio de las evaluaciones que tiabendazol era diferente estadísticamente al resto teniendo el mayor crecimiento micelial, a las 120 h captan obtuvo el menor crecimiento micelial y resultó ser estadísticamente diferente al resto, y para el final de la evaluación a las 192 h tiabendazol obtuvo el mayor crecimiento micelial y fue estadísticamente diferente al resto, los fungicidas benomil, boscalid+piraclostrobin, iprodione y oxiclورو de cobre tuvieron un crecimiento micelial estadísticamente no diferente entre sí. Al final el fungicida que tuvo el menor crecimiento micelial fue captan (Cuadro 18). Esto se corrobora visualmente en la figura 7 donde captan resultó ser el mejor fungicida.

Cuadro 18. Análisis combinado a través de las cepas de Tepeyahualco, Puebla (MP-1, MP-2 y MP-3) del crecimiento micelial (mm) para cada hora de evaluación

	Horas de evaluación													
Fungicidas	48		72		96		120		144		168		192	
Benomil	3.17	C***	7.62	B	12.27	C	16.43	C	22.86	B	28.06	B	36.09	B
Boscalid +piraclostrobin	2.99	C	9.18	B	16.23	B	22.85	B	28.87	B	34.14	B	37.05	B
Captan	0.85	C	2.03	C	4.00	D	6.04	D	8.93	C	11.62	C	13.35	C
Iprodione	3.21	C	7.87	B	13.32	BC	19.36	BC	25.15	B	30.84	B	35.79	B
Oxicloruro de cobre	6.60	B	12.65	A	16.68	B	21.76	B	27.89	B	33.08	B	36.11	B
Tiabendazol	7.08	AB	14.40	A	22.72	A	31.34	A	41.29	A	51.20	A	60.60	A
Prob.*	<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001	
DSH**	1.2072		2.5959		3.8972		5.0429		6.3328		7.2891		9.6591	

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

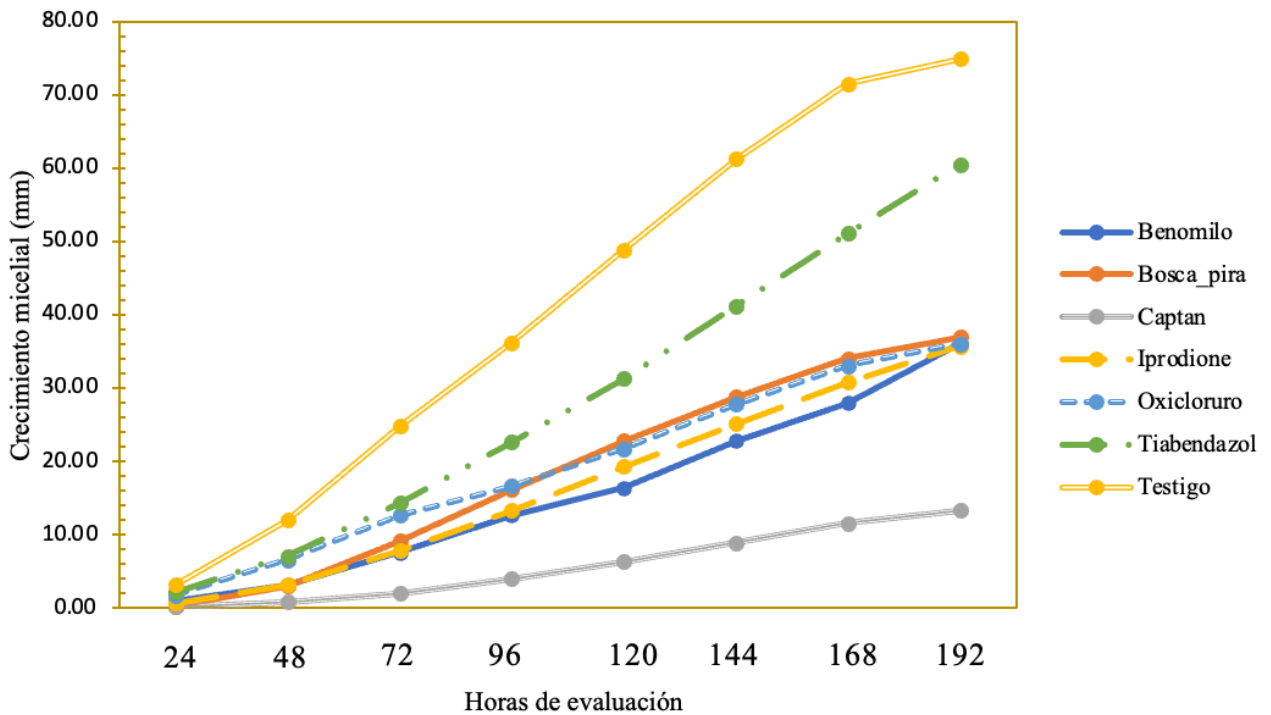


Figura 7. Crecimiento micelial, análisis combinado entre las cepas de Tepeyahualco, Puebla (MP-1, MP-2 y MP-3) para cada hora de evaluación

Para Temascaltepec, Edo. de México, en el análisis combinado a través de todas las cepas se encontró diferencia estadística altamente significativa ($p < 0.0001$) en todos los fungicidas, en la comparación de medias a las 120 h el oxiclورو de cobre tuvo mayor crecimiento micelial seguido por tiabendazol y fueron estadísticamente no diferentes, a su vez tiabendazol compartió agrupación con benomil y boscalid+piraclostrobin, los fungicidas captan e iprodione tuvieron el menor crecimiento micelial y estos también fueron estadísticamente no diferentes a benomil y boscalid+piraclostrobin. En la evaluación final a las 192 h oxiclورو de cobre presentó el mayor crecimiento micelial y el único que fue estadísticamente diferente a iprodione, captán, benomil y boscalid+piraclostrobin, pero estadísticamente no diferente a tiabendazol. Los demás fungicidas no fueron estadísticamente diferentes entre sí. En general, en el crecimiento micelial en todos los fungicidas no existió mucha diferencia (Cuadro 19) pero los fungicidas que resultaron ser los mejores fueron iprodione, captan, boscalid+piraclostrobin y benomil (Figura 8).

Cuadro 19. Análisis combinado a través de las cepas de Temascaltepec estado de México (MT-4, MT-5 y MT-6), del crecimiento micelial para cada una de las horas de evaluación

Fungicidas	Horas de evaluación													
	48		72		96		120		144		168		192	
Benomil	4.00	BC***	6.46	BC	8.29	BC	10.70	CD	13.68	BC	16.76	BC	20.81	BC
Boscalid+ piraclostrobin	2.33	CD	4.91	CD	8.13	BC	11.26	CD	14.50	BC	17.20	BC	20.18	BC
Captan	0.91	D	2.06	D	3.68	C	5.94	D	8.36	C	11.14	C	13.90	C
Iprodione	2.37	CD	4.14	CD	5.47	C	6.99	D	8.92	C	10.84	C	13.10	C
Oxicloruro de cobre	7.57	A	13.25	A	17.67	A	22.67	AB	27.18	A	32.10	A	35.97	A
Tiabendazol	4.88	B	8.87	B	11.62	B	16.26	BC	20.65	AB	24.68	AB	29.79	AB
Prob.*	<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001	
DSH**	1.74		3.28		4.73		6.42		8.18		9.72		11.12	

*: Probabilidad de error tipo I en el Análisis de Varianza. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

***: Medias con la misma letra, por columnas, son estadísticamente no diferentes (Tukey, $p=0.05$).

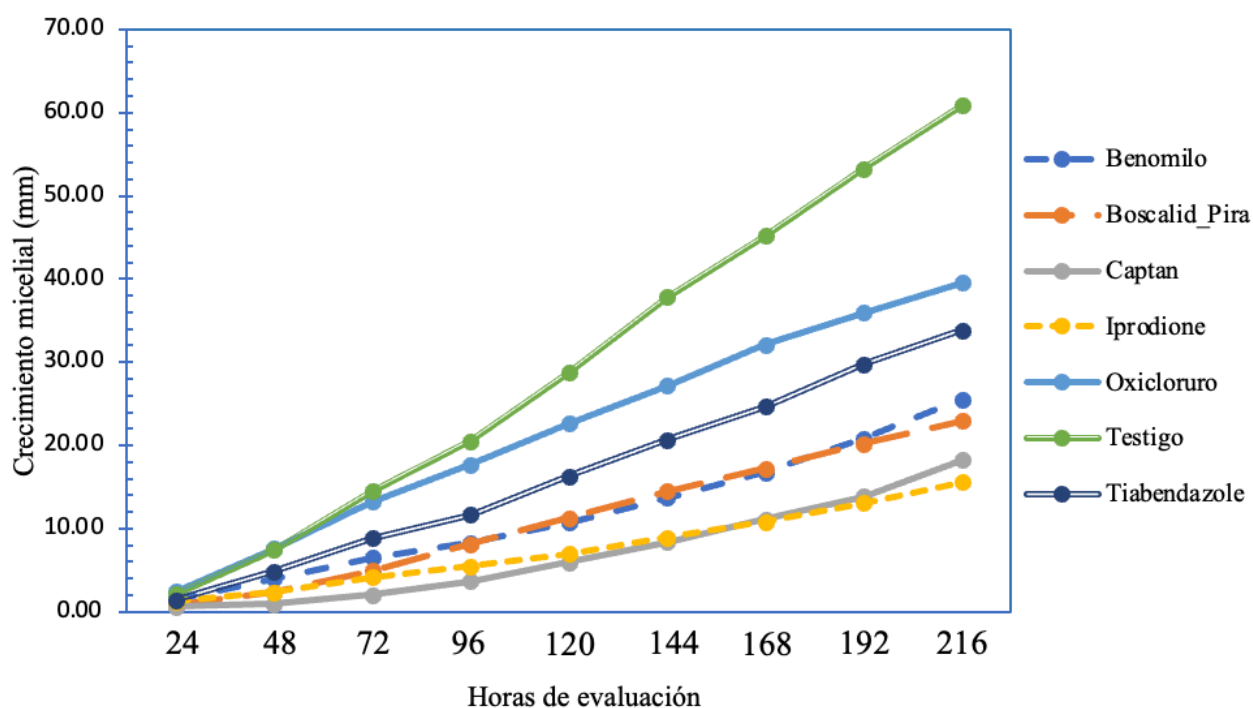


Figura 8. Crecimiento micelial, análisis combinado entre las cepas de Temascaltepec, Edo. de México (MT-4, MT-5 y MT-6) para cada hora de evaluación

3.3.4.3. Concentración efectiva 50

Se determinó la CE_{50} para cada lugar de muestreo. Los valores medios en Zitácuaro, Michoacán, fueron 0.026, 0.072, 31.86, 0.076, 113.53 y 0.146 $mg L^{-1}$, para benomil, boscalid+piraclostrobin, captan, iprodione, oxicloruro de cobre y tiabendazol, respectivamente. En Temascaltepec, Edo. de México, los valores de la CE_{50} fueron de 0.045, 0.114, 17.63, 0.107, 126.68 y 0.218 $mg L^{-1}$, para benomil, boscalid+piraclostrobin, captan, iprodione, oxicloruro y tiabendazol, respectivamente. Para Tepeyahualco, Puebla los valores fueron 0.056, 0.213, 14.072, 0.214, 98.25 y 0.352 $mg L^{-1}$, para benomil, boscalid+piraclostrobin, captan, iprodione, oxicloruro y tiabendazol, respectivamente (Figuras 9 y 10).

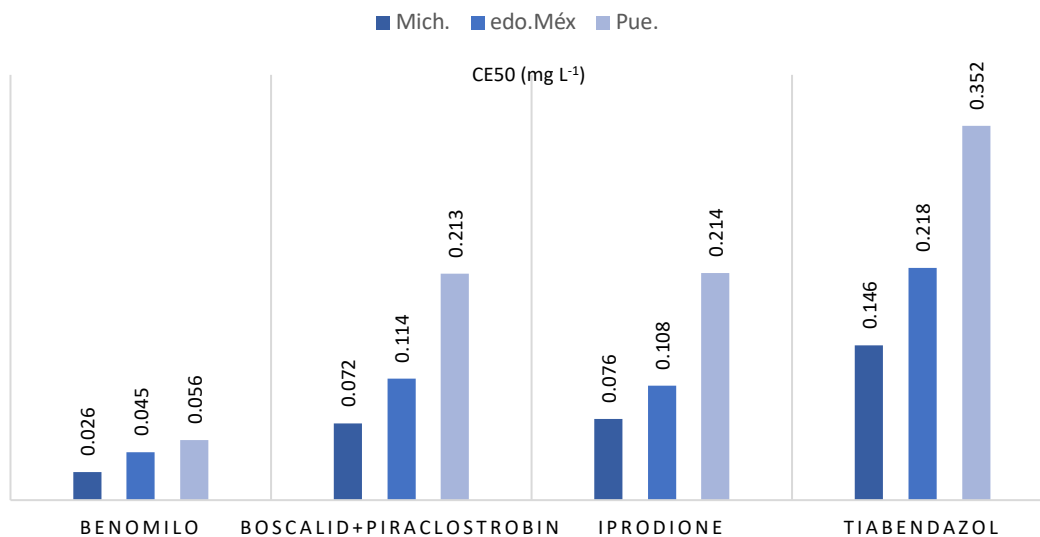


Figura 9. Concentración efectiva que inhibe el 50% (CE₅₀) para los fungicidas que actúan en un sitio de acción

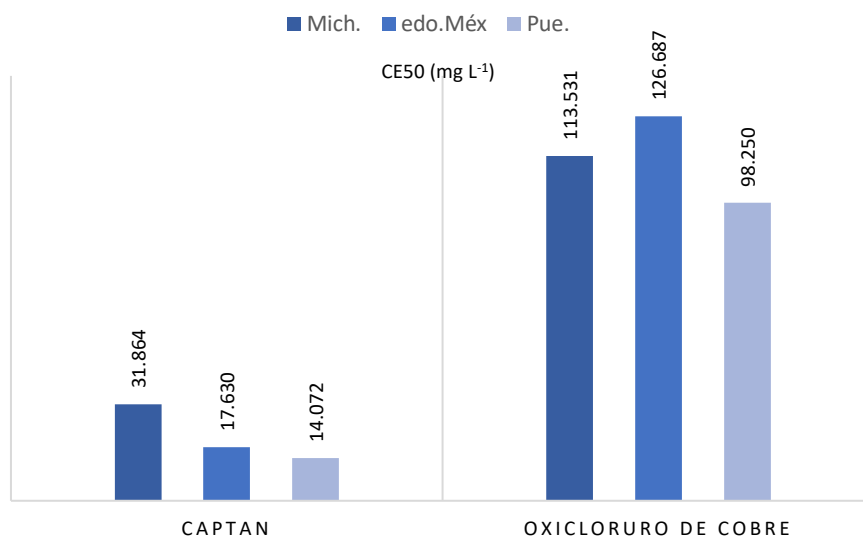


Figura 10. Concentración efectiva que inhibe el 50% (CE₅₀) para los fungicidas con acción multi-sitio

En el análisis general de las CE_{50} para todas las cepas sin discriminar los estados, se encontró que en benomil la CE_{50} estuvo en un rango de 0.021 a 0.061 mg L^{-1} con una media de 0.045 mg L^{-1} . Con el fungicida boscalid+piraclostrobin el rango de la CE_{50} fue de 0.068 a 0.239 mg L^{-1} con una media de 0.141 mg L^{-1} . Con iprodione la CE_{50} media obtenida tuvo un valor de 0.140 mg L^{-1} , y el rango reportado de todos los aislamientos estuvo entre 0.060 a 0.242 mg L^{-1} . En tiabendazol la CE_{50} media reportada fue de 0.250 mg L^{-1} , y el rango en que rondaron los valores estuvo entre 0.145 a 0.411 mg L^{-1} (Figura 11).

En captan se encontró una CE_{50} media de 20.681 mg L^{-1} , y el rango de los valores en todos los aislamientos rondó entre 10.343 a 34.280 mg L^{-1} . Para oxiclورو de cobre la CE_{50} media reportada fue de 112.734 mg L^{-1} , y los valores estuvieron entre un rango de 92.071 mg L^{-1} a 137.805 mg L^{-1} (Figura 12).

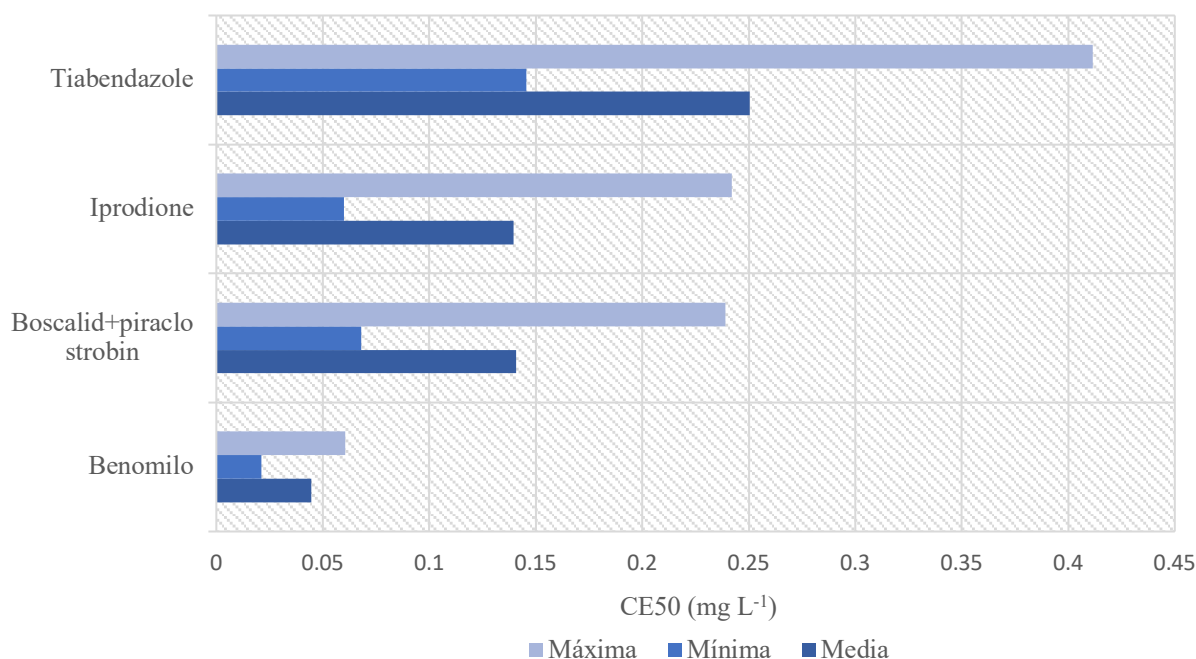


Figura 11. Concentración efectiva que inhibe el 50% (CE_{50}) media y rango en que se encontraron los valores para los fungicidas que actúan en el sitio de acción, en el análisis de los aislados obtenidos en los estados de Michoacán, Estado de México y Puebla.

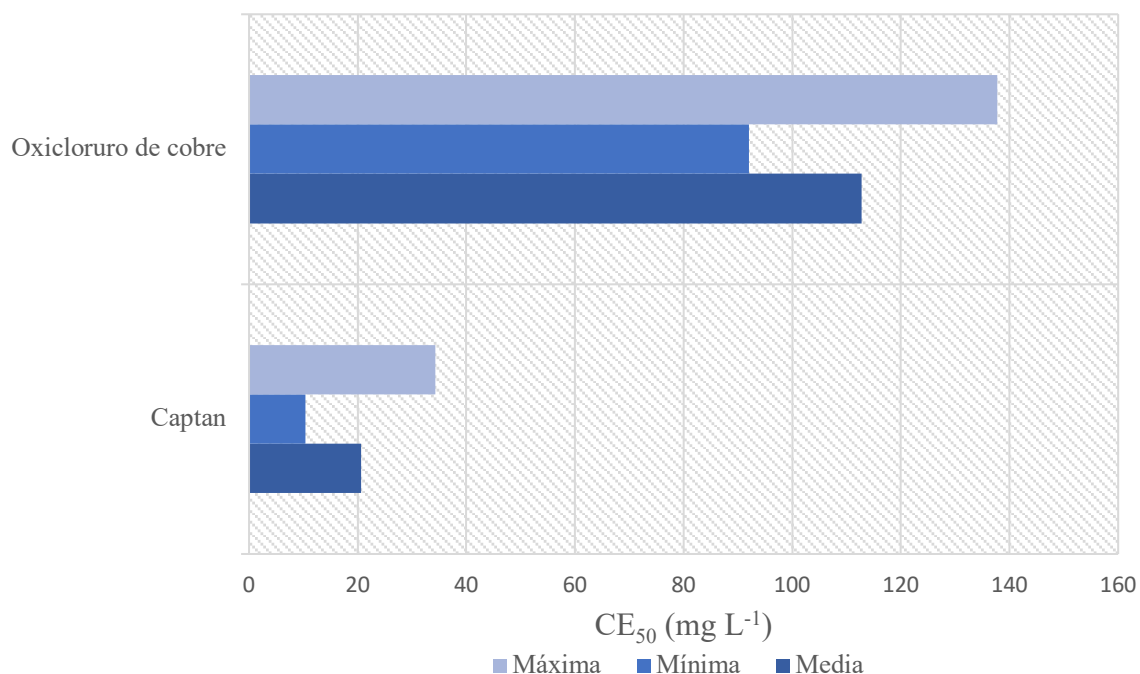


Figura 12. Concentración efectiva que inhibe el 50%(CE₅₀) media y rango en que se encontraron los valores para los fungicidas multi-sitio, en el análisis de los aislados obtenidos en los estados de Michoacán, Estado de México y Puebla.

Cuadro 20. Concentración efectiva que inhibe el 50% (CE₅₀) del crecimiento micelial de *M. fructicola*.

Fungicidas	Michoacán		Estado de México			Puebla		
	CE50 (mg L ⁻¹)		CE50 (mg L ⁻¹)			CE50 (mg L ⁻¹)		
	MM-1	MM-3	MT-4	MT-5	MT-6	MP-1	MP-2	MP-3
Benomilo	0.021	0.031	0.049	0.040	0.046	0.052	0.056	0.061
Boscalid+pira	0.068	0.076	0.114	0.081	0.147	0.173	0.239	0.227
Captan	29.449	34.280	10.343	23.337	19.212	11.737	16.408	
Iprodione	0.060	0.092	0.079	0.152	0.092	0.164	0.235	0.242
Oxicloruro	111.754	115.308	137.805	119.035	123.219	92.071	99.527	103.152
Tiabendazole	0.146	0.145	0.190	0.242	0.223	0.264	0.382	0.411

2. 4. DISCUSIÓN

La pudrición café es de las enfermedades más importantes en el durazno, hay varias especies asociadas a esta enfermedad, sin embargo, es *M. fructicola* la especie reportada en América del Norte y del Sur (Abate *et al.*, 2018). Lo que coincide con la especie encontrada en este estudio. La caracterización de las colonias incubadas a 21°C concuerda con lo reportado por la EPPO (2020), la cual dice que el hongo crece en medio de cultivo PDA. A 22°C forma colonias con abundante esporulación y con anillos concéntricos, el color puede ser desde avellana (rojo/marrón a verde/marrón) a pálido amarillo o grisáceo pálido, el margen en su mayor parte es con crecimiento radial uniforme y raramente forma colonias rosetadas. Únicamente se observó diferencia con los aislamientos MP-3, MT-5 y MT-6 donde el crecimiento radial no fue uniforme.

En la respuesta del patógeno a la temperatura se ha reportado en *M. fructicola* las temperaturas óptimas de crecimiento van de los 20 a 26°C (Abate *et al.*, 2018). Entre los resultados se confirmó que el patógeno es sensible a temperaturas altas, a 30°C existió la tasa de crecimiento micelial más baja consistente con lo reportado con (Abate *et al.*, 2018), pero existió esporulación, tal como menciona Angeli *et al.*, (2017) donde se ha probado que la germinación de conidios sucede en un amplio rango de temperatura hasta los 30°C.

La tasa de crecimiento de *M. fructicola* a las temperaturas de 19 y 21°C, estuvo en el rango reportado (9-20 mm día⁻¹) por la EPPO (2020).

Para el control químico, los fungicidas MBC, benomil, carbendazin, tiabendazol y tiofanato de metilo controlan eficazmente a *M. fructicola* (Bai *et al.*, 2023). En México se ha reportado el uso de benomil a una dosis de 1.21 g o ml/L⁻¹, superando la dosis recomendada de 0.50 g o ml/L⁻¹ (Huilotl-Luna *et al.*, 2024).

En otros países como en California, USA, se encontró que la CE_{50} de aislamientos sensibles a benomil oscila entre 0.02531 y 0.04827 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Aislamientos que fueron clasificados con baja resistencia presentaron una CE_{50} de 0.6097 a 0.9579 $\mu\text{g ml}^{-1}$ y aislamientos con niveles altos de resistencia crecieron a 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (MA *et al.*, 2003). Con esta última información se puede considerar que los aislamientos obtenidos en este estudio fueron sensibles al benomil. Respecto a las dosis aplicadas en México se ve que sobre pasa la recomendada, por lo que estudios como este puede apoyar en el manejo eficiente de estos productos. La eficiencia de los MBC para el control de *M. fructicola*, hace que estén en la mira debido a que la resistencia a estos productos está surgiendo (Chen *et al.*, 2014). En otros estudios se ha confirmado resistencia múltiple de *M. fructicola* a los grupos de fungicidas MBC (Dutra *et al.*, 2024). Y se menciona que la resistencia a este grupo se está volviendo cada vez mayor a medida que aumenta el tiempo de uso (Bai *et al.*, 2023). Con respecto a tiabendazol, no se encontró estudios específicos con *Monilinia* spp, sin embargo, para diferentes especies de Botryosphaeriaceae se ha reportado que la CE_{50} no supera los 1.15 $\mu\text{g ml}^{-1}$, pero en algunos aislados de *B. dothidea* y *N. parvum* la CE_{50} alcanzo niveles de 6.86 y 10.12 $\mu\text{g ml}^{-1}$. En general, la CE_{50} media fue de 0.6 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Dos Santos *et al.*, 2019). Para *penicillium digitatum* se encontró el valor de la CE_{50} fue menor a 1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ para aislamientos sensibles y, aislados resistentes la CE_{50} fue mayor a 80 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Lee *et al.*, 2011). Las CE_{50} reportadas para tiabendazol indica que todos los aislamientos fueron sensibles, incluso el que reportó el valor más alto de 0.411 mg L^{-1} , por lo tanto, en ninguno de los aislamientos de este estudio se ha detectado poca sensibilidad o bien resistencia a benomil y tiabendazol.

Otro de los fungicidas sistémicos utilizado para el control de *M. fructicola* es iprodione, en España se reportó que la CE_{50} de las curvas de respuesta de los aislados resistentes fue entre

2.1 y 3.5 $\mu\text{g ml}^{-1}$, mientras que las CE_{50} de los aislados sensibles fue entre 1.2 y 1.6 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Egüen *et al.*, 2015). En Brasil se ha reportado que la CE_{50} de los aislados a iprodione variaron de 0.13 a 1.01 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Dutra *et al.*, 2019). En Serbia las pruebas a 10 aislamientos representativos de *M. fructicola* indicaron que la CE_{50} de los aislamientos sensibles a iprodione se encontró en un rango de 0.26 a 0.78 mg L^{-1} , y los aislamientos clasificados como moderadamente resistentes se encontraron entre 0.79 a 3.32 mg L^{-1} (Hrustić *et al.*, 2018). Todos los aislamientos obtenidos en este estudio demostraron ser sensibles a iprodione, la CE_{50} media obtenida se encuentra en el rango reportado para Brasil, y está por debajo de los aislamientos clasificados como sensible en España, se confirma aún más con lo reportado en Serbia, ya que la CE_{50} más alta reportada en este estudio está por debajo de los aislamientos sensibles en aquel país.

Los fungicidas inhibidores de la respiración se han utilizado para el control de *Monilinia* spp. en todo el mundo (Durak *et al.*, 2021). Debido a lo anterior se han realizado pruebas de sensibilidad a estos productos. En otros lugares como Estados Unidos se han reportado valores medios de la CE_{50} para boscalid+piraclostrobin, en un huerto sin antecedentes de aplicación de 0.09 $\mu\text{g ml}^{-1}$, aislamientos con aplicaciones previas la CE_{50} fue de 0.13 y 0.17 $\mu\text{g ml}^{-1}$ en Carolina del sur y Georgia respetivamente (Amiri *et al.*, 2010). Otro estudio reportó valores de CE_{50} para poscalid+piraclostrobin (26.7 % boscalid, 6.7 % piraclostrobin) entre un rango de 2.98 a 8.14 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Durak *et al.*, 2021). Aunque boscalid y piraclostrobin tienen el mismo modo de acción, pertenecen a grupos diferentes (FRAC, 2024), por lo tanto, hay pruebas de sensibilidad a las moléculas por si solas, se ha reportado en aislamientos sensibles una CE_{50} de 0.42 $\mu\text{g ml}^{-1}$, sensibilidad intermedia de 0.72 a 2.1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ y resistentes al boscalid con una CE_{50} de ≥ 2.1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Chen *et al.*, 2013). En los aislamientos obtenidos se encontraron CE_{50} en un rango de 0.068 a 0.239 mg L^{-1} , la más baja obtenida

muy similar a los reportado en huertos donde no hay antecedentes del uso de boscalid+piraclostrobin, y las más alta solo poco por arriba de los reportado en huertos con aplicaciones previas, sin embargo, según reporta Chen y colaboradores (2013), todos los aislamientos sometidos a prueba en este estudio pueden clasificarse como sensibles, y no se encontró aislamientos que estuvieran en el rango de lo reportado con sensibilidad intermedia o con resistencia. A pesar de que en ninguno de los aislamientos probados en este estudio se encontró poca sensibilidad o resistencia esto de acuerdo con las CE_{50} reportadas por otros autores, se recomienda el monitoreo constante de la resistencia a los fungicidas de las poblaciones de *Monilinia* spp. porque se ha comprobado que el uso de fungicidas específicos del sitio de acción continúa siendo una estrategia efectiva para controlar la pudrición café (Dardani *et al.*, 2023).

Además del uso de productos específicos del sitio de acción, productos con actividad multi-sitio también son utilizados en el manejo de la enfermedad, en México se reporta el uso de captan a una dosis de 1.31 g o ml/L y como preventivos se realiza la aplicación de sulfato de cobre 1.00 g o ml/L⁻¹, (Huilotl-Luna *et al.*, 2024). El rango de la CE_{50} para captan y oxiclورو de cobre estuvo entre 10.343 a 34.280 mg L⁻¹ y 92.071 a 137.85 mg L⁻¹, respectivamente, lo encontrado estuvo por debajo de lo que se aplica en el manejo de la enfermedad. Sin embargo, el captan al ser un producto con acción multi-sitio, es un medio químico que puede ayudar en el manejo de la resistencia a otros fungicidas (Luo *et al.*, 2022), y los estudios no están enfocados a determinar la CE_{50} a estas moléculas, ya que su principal uso es como protectores o en el manejo de la resistencia, además cuando se aplican en combinación con otros fungicidas pueden maximizar la protección.

Los resultados en este estudio indicaron que el patógeno es susceptible a estas moléculas y pueden utilizarse en el manejo de la enfermedad. Como lo menciona May-De Mio *et al*

(2008), el captan, ha demostrado ser eficiente en el control de *Monilinia* spp. ya sea en manejo convencional con otros fungicidas o se recomienda en sistemas de producción integrado (Moreira *et al.*, 2014). Es eficiente en el manejo postcosecha contra la podredumbre de diversas frutas y hortalizas, sin embargo, la forma de aplicación puede dejar residuos en la fruta (Barkai-Golan, 2001).

2. 5. CONCLUSIONES

Se determinó que el patógeno causante de la pudrición café en México es *M. fructicola*, el cual es susceptible a temperaturas que sobrepasan los 30°C. Se encontró una proporción de variabilidad de 1.5 a 3.5 veces en las CE₅₀ obtenidas de los aislamientos de los diferentes estados; siendo Michoacán el que reportó las CE₅₀ más bajas y Puebla las más altas. Para benomil estuvo en un rango de 0.021 a 0.061 mg L⁻¹, para boscalid+piraclostrobin el rango fue de 0.068 a 0.239 mg L⁻¹, con iprodione el rango estuvo entre 0.060 a 0.242 mg L⁻¹ y en tiabendazol el rango de la CE₅₀ estuvo entre 0.145 a 0.411 mg L⁻¹. Para captan y oxiclورو de cobre el rango de la CE₅₀ estuvo entre 10.343 a 34.280 y 92.071 a 137.805 mg L⁻¹, respectivamente. Todos los aislamientos fueron sensibles a benomil, boscalid+piraclostrobin, iprodione, tiabendazol, captan y oxiclورو de cobre, con lo cual se concluye que estos fungicidas siguen siendo eficientes en el manejo de la enfermedad, pero no se descarta el desarrollo de resistencia, además, se necesita diseñar programas de manejo estratégicos para mejorar la eficacia del producto, de lo contrario el éxito en el manejo de la enfermedad a través de fungicidas podría verse reducida.

LITERATURA CITADA

- Abate, D., Pastore, C., Gerin, D., De Miccolis Angelini, RM, Rotolo, C., Pollastro, S., y Faretra, F. (2018). Caracterización de poblaciones de *Monilinia* spp. en frutas de hueso en el sur de Italia. *Plant Disease*, 102 (9), 1708-1717. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1314-RE>
- Akhon, B. A., Gupta, S. K., y Dhar, M. K. (2023). Dissecting the genome, secretome, and effectome repertoires of *Monilinia* spp.: The causal agent of brown rot disease: A comparative analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 195, 112120.
- Amiri, A., Brannen, P. M., y Schnabel, G. (2010). Reduced sensitivity in *Monilinia fructicola* field isolates from South Carolina and Georgia to respiration inhibitor fungicides. *Plant disease*, 94(6), 737-743. doi <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-6-0737>
- Angeli, S. S., Mio, L. L. M. D., y Amorim, L. (2017). Comparative analysis of *Monilinia fructicola* and *M. laxa* isolates from Brazil: monocyclic components of peach brown rot. *Ciencia rural*, 47, e20160300. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160300>
- Bai, Y., Hou, Y., Wang, Q., Lu, C., Ma, X., Wang, Z., y Xu, H. (2023). Analysis of the binding modes and resistance mechanism of four methyl benzimidazole carbamates inhibitors fungicides with *Monilinia fructicola* β 2-tubulin protein. *Journal of Molecular Structure*, 1291, 136057. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136057>
- Barkai-Golan, R. (2001). *Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control*. Elsevier.
- Byrde, R. J. W., y Willetts, H. J. (2013). *The brown rot fungi of fruit: their biology and control*. Elsevier.

- Chen, F., Liu, X., Chen, S., Schnabel, E., y Schnabel, G. (2013). Characterization of *Monilinia fructicola* strains resistant to both propiconazole and boscalid. *Plant Disease*, 97(5), 645-651. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-12-0924-RE>
- Chen, S. N., Shang, Y., Wang, Y., Schnabel, G., Lin, Y., Yin, L. F. y Luo, C. X. (2014). Sensitivity of *Monilinia fructicola* from peach farms in China to four fungicides and characterization of isolates resistant to carbendazim and azoxystrobin. *Plant disease*, 98(11), 1555-1560. doi.org/10.1094/PDIS-11-13-1145-RE
- Chen, S. N., Shang, Y., Wang, Y., Schnabel, G., Lin, Y., Yin, L. F., y Luo, C. X. (2014). Sensitivity of *Monilinia fructicola* from peach farms in China to four fungicides and characterization of isolates resistant to carbendazim and azoxystrobin. *Plant disease*, 98(11), 1555-1560. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-13-1145-RE>
- Dardani, G., Guarnac-cia, V., Nari, L., Testempasis, S. I., Karaoglanidis, G. S., y Gullino, M. L. (2023). Identifi-cation of pathogens causing brown rot of stone fruit in Cuneo province (Italy) and assessment of sensitivity to azox-ystrobin, cyprodinil, fenhexamid, fludi-oxonil, and tebuconazole. *Phytopatho-logia Mediterranea*, 62(3), 455-465. doi: 10.36253/phyto-14399
- Dardani, G., Guarnaccia, V., Luca, N., Testempasis, S. I. y Karaoglanidis, G. R. (2023). Identification of pathogens causing brown rot of stone fruit in Cuneo province (Italy) and assessment of sensitivity to azoxystrobin, cyprodinil, fenhexamid, fludioxonil, and tebuconazole. (2023). *Phytopathologia Mediterranea*, 63(3), 455-465. [Doi.org/10.36253/phyto-14399](https://doi.org/10.36253/phyto-14399)
- Dos Santos, K. M., Tsuji, S. S., Câmara, M. P. S., Michereff, S. J., y Lopes, U. P. (2019). Sensitivity to methyl benzimidazole carbamate fungicides of Botryosphaeriaceae

- species from mango orchards in the Northeast of Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 153, 209-222. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1556-y>
- Durak, M. R., Arslan, K., Silan, E., Yildiz, G. y Ozkilinc. (2021). Anovel apporoach for in vitro fungicide screening and the sensitivity of *Monilinia* populations from peach orchards in Turkey to respiratory inhibitor fungicides. *Crop Protection*, 147,105688. doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105688
- Dutra, P. S. S., Pereira, W. V., y May De Mio, L. L. (2019). Brazilian isolates of *Monilinia fructicola* from peach do not present reduced sensitivity to iprodione. *European Journal of Plant Pathology*, 153, 1341-1346. Doi <https://doi.org/10.1007/s10658-018-01637-3>
- Dutra, P. S., Carraro, T. A., Nesi, C. N., Amorim, L., y May De Mio, L. L. (2024). Comparative fitness of *Monilinia fructicola* isolates with multiple fungicide-resistant phenotypes. *Plant Disease*, 108(11), 3300-3310. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-23-2549-RE>
- Egüen, B., Melgarejo, P. y De Cal, A. (2015). Sensitivity of *Monilinia fructicola* from Spanish peach orchards to thiophanate-methyl, iprodione, and cyproconazole: fitness analysis and competitiveness. *Eur J Plant Pathol* **141**, 789–801. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0579-2>
- FRAC, (2024). Fungal control agents sorted by cross-resistance pattern and mode of action (including coding for FRAC Groups on product labels). Fecha de consulta agosto del 2024.
- Hrustić, J., Mihajlović, M., Grahovac, M., Delibašić, G. y Tanović, B. (2018). Fungicide sensitivity, growth rate, aggressiveness and frost hardiness of *Monilinia*

fructicola and *Monilinia laxa* isolates. *Eur J Plant Pathol*, 151, 389-400.
doi.org/10.1007/s10658-017-1380-9

<https://doi.org/10.1186/s42483-022-00134-0>

Huilotl-Luna, M. L., Gil-Muñoz, A., Hernández-Romero, E., López, P. A., y Martínez-Carrera, D. C. (2024). Manejo de la pudrición café (*Monilinia fructicola*) del duraznero por productores de la Sierra Nevada de Puebla. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 21(4), 582-600. Doi <https://doi.org/10.22231/asyd.v21i4.1679>

Jia, F., Chen, M., Liu, C., Chen, S., Liu, W., Huang, K., Sun, X., Ma, G., y Chen, G. (2024). *Streptomyces rapamycinicus* HCD1–10: An effective biocontrol actinomycetes against postharvest Chinese flat peach brown rot caused by *Monilinia fructicola*. *Scientia Horticulturae*, 327, 112836.

Lee, M. H., Pan, S. M., Ng, T. W., Chen, P. S., Wang, L. Y., y Chung, K. R. (2011). Mutations of β -tubulin codon 198 or 200 indicate thiabendazole resistance among isolates of *Penicillium digitatum* collected from citrus in Taiwan. *International Journal of Food Microbiology*, 150 (2-3), 157-163. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.031>

Luo, C. X., Schnabel, G., Hu, M., & De Cal, A. (2022). Global distribution and management of peach diseases. *Phytopathology Research*, 4(1), 30.

Ma, Z., Yoshimura, M. A., y Michailides, T. J. (2003). Identification and characterization of benzimidazole resistance in *Monilinia fructicola* from stone fruit orchards in California. *Applied and environmental microbiology*, 69(12), 7145-7152.
<https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7145-7152.2003>.

May-De Mio, L. L., Luo, Y., y Michailides, T. J. (2011). Sensitivity of *Monilinia fructicola* from Brazil to tebuconazole, azoxystrobin, and thiophanate-methyl and implications

- for disease management. *Plant disease*, 95(7), 821-827.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-07-10-0511>
- May-De Mio, Louise, L., Moreira, L. M., Monteiro, L. B., y Justiniano Júnior, P. R. (2008). Infecção de *Monilinia fructicola* no período da floração e incidência de podridão parda em frutos de pessegueiro em dois sistemas de produção. *Tropical Plant Pathology*, 33, 227-234.
- Moreira, L. M., Valdebenito-Sanhueza, R. M., Rozwalka, L. C., & De Mio, L. L. M. (2014). Programas alternativos de fumigación para el control de la podredumbre parda en sistemas integrados de producción. *Interciencia*, 39(5), 313-319.
- Schnabel, G., y Brannen, P. M. (2022). Biology, epidemiology, and management of diseases of peach driving the spray program in the southeastern United States. *Scientia Horticulturae*, 295, 110818. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110818>
- Shan, X., Zhang, C., Li, J., Duan, Y., y Huang, Y. (2024). *Pseudomonas protegens* controlled brown rot (*Monilinia fructicola*) on peach fruit in postharvest by suppressing fungal development and inducing plant defense-related genes. *Postharvest Biology and Technology*, 213, 112971. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2024.112971>
- Vall-Llaura, N., Giné-Bordonaba, J., Usall, J., Larrigaudière, C., Teixidó, N., y Torres, R. (2020). Ethylene biosynthesis and response factors are differentially modulated during the interaction of peach petals with *Monilinia laxa* or *Monilinia fructicola*. *Plant Science*, 299, 110599.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110599>
- Yoshimura, M. A., Luo, Y., Ma, Z., y Michailides, T. J. (2004). Sensitivity of *Monilinia fructicola* from stone fruit to thiophanate-methyl, iprodione, and tebuconazole. *Plant disease*, 88(4), 373-378. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.4.373>