



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

**POSGRADO EN PROTECCIÓN VEGETAL**

**SENSIBILIDAD BASE A PROCLORAZ DE AISLADOS DEL COMPLEJO**

**DE *Colletotrichum gloeosporioides* DE MANGO (*Mangifera indica* L.) EN**

**MÉXICO**

**TESIS**

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL**



DIRECCION GENERAL ACADEMICA  
CENTRO DE SERVICIOS ESCOLARES  
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

**PRESENTA:**

**MARTÍN YÁÑEZ ZÚÑIGA**

**Chapingo, Estado de México, Noviembre de 2014**

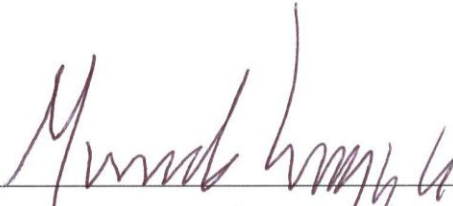


**SENSIBILIDAD BASE A PROC LORAZ DE AISLADOS DEL COMPLEJO DE  
*Colletotrichum gloeosporioides* D E MANGO (*Mangifera indica* L.) EN MÉXICO**

Tesis realizada por **Martín Yáñez Zúñiga** bajo la dirección 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:



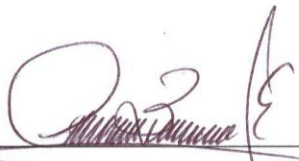
Dr. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

CO-DIRECTOR:



Dr. JUAN MANUEL TOVAR PEDRAZA

ASESOR:



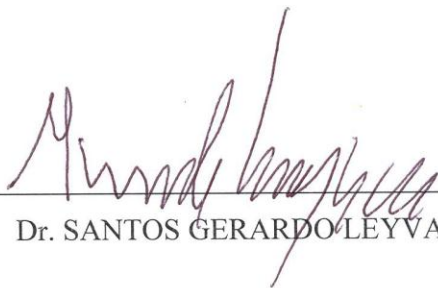
Dr. ANDRÉS BOLAÑOS ESPINOZA

Chapingo, México, Noviembre de 2014

**SENSIBILIDAD BASE A PROCLORAZ DE AISLADOS DEL COMPLEJO DE  
*Colletotrichum gloeosporioides* DE MANGO (*Mangifera indica* L.) EN MÉXICO**

El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de **Martín Yáñez Zúñiga** autor de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal estuvo constituido por:

DIRECTOR:



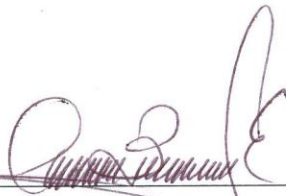
Dr. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

CO-DIRECTOR:



Dr. JUAN MANUEL TOVAR PEDRAZA

ASESOR:



Dr. ANDRÉS BOLANOS ESPINOZA

Chapingo, México, Noviembre de 2014

## DEDICATORIA

A mis padres el Sr. **J. Guadalupe Yáñez Ocegueda** y a la Sra. **María Zúñiga Ramírez**, por darme la vida, por apoyarme en todas mis decisiones y alentarme en los momentos de desesperación.

A mis hermanos **Niria, Jorge y Rocío** por el apoyo incondicional que siempre me han brindado.

A **María Luisa Pitol Cruz** por brindarme su amistad y apoyo incondicional, por darme todos aquellos momentos felices, por motivarme a seguir adelante y por estar conmigo siempre que te necesito.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el financiamiento de mis estudios de Posgrado.

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, y en especial al Posgrado en Protección Vegetal, por brindarme la oportunidad de continuar con mi formación académica.

Al **Dr. Santos Gerardo Leyva Mir** por su acertada dirección, valiosas enseñanzas y aportaciones en este trabajo.

Al **Dr. Juan Manuel Tovar Pedraza** por su amistad y apoyo. Gracias por el asesoramiento y tiempo dedicado a la realización de este trabajo de investigación.

Al **Dr. Andrés Bolaños Espinoza** por sus valiosos comentarios y observaciones en la revisión del presente documento.

Al **M.C. Mónica Peredo Arellano** por su amistad y apoyo en la realización de la fase experimental de este trabajo.

Al **Ing. Eréndira Guadalupe Ríos López** por su apoyo y asesoramiento en la realización de la fase experimental de este trabajo.

## DATOS BIOGRÁFICOS



**Martín Yáñez Zúñiga**, es originario de la comunidad de Cuastecomate, Municipio de San Pedro Lagunillas en el estado de Nayarit. Nació el 03 de Octubre de 1987.

En el año 2003 ingreso a la Preparatoria en la Universidad Autónoma Chapingo. Posteriormente realizó sus estudios de Licenciatura en el Departamento de Parasitología Agrícola, concluyendo con un promedio de 89. En Octubre de 2010, obtiene el grado de Ingeniero Agrónomo especialista en Parasitología Agrícola, al presentar el trabajo de tesis titulado: “RESISTENCIA DE ALPISTILLO (*Phalaris paradoxa* L.) A HERBICIDAS INHIBIDORES DE LA ACCasa Y ALS”.

En Agosto de 2012 ingresó al programa de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, del cual egresó en Junio de 2014 con un promedio de 93 y como requisito para obtener el grado de Maestro en Ciencias elaboró el presente trabajo de investigación titulado “SENSIBILIDAD BASE A PROCLORAZ DE AISLADOS DEL COMPLEJO *Colletotrichum gloeosporioides* DE MANGO (*Mangifera indica* L.) EN MÉXICO”.

# SENSIBILIDAD BASE A PROCLORAZ DE AISLADOS DEL COMPLEJO DE *Colletotrichum gloeosporioides* DE MANGO (*Mangifera indica* L.) EN MÉXICO

## BASELINE SENSITIVITY TO PROCHLORAZ OF MEXICAN ISOLATES OF *Colletotrichum gloeosporioides* COMPLEX FROM MANGO (*Mangifera indica* L.)

Martín Yáñez Zúñiga<sup>1</sup>, Santos Gerardo Leyva Mir<sup>2</sup> y Juan Manuel Tovar Pedraza<sup>3</sup>

### Resumen

Un total de 101 aislados del complejo *Colletotrichum gloeosporioides* se obtuvieron de huertos de mango de Chiapas, Colima, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz, México. Todos los aislados se consideraron como población con sensibilidad base a los fungicidas de la clase DMI (Inhibidores de la demetilación) debido a que todos los aislados de *Colletotrichum* se colectaron en huertos de mango que no habían sido expuestos a aplicaciones de procloraz, o cualquier otro fungicida de esta clase. La sensibilidad base a procloraz se determinó mediante pruebas *in vitro*. La concentración efectiva que inhibe el 50% del crecimiento micelial (CE<sub>50</sub>), varió de 0.004 a 0.099 µg mL<sup>-1</sup>, con una media de 0.04 µg mL<sup>-1</sup>. El 79% de los aislados mostraron valores de CE<sub>50</sub> que variaron de 0.02-0.06 µg mL<sup>-1</sup>. Mientras que, el 11% de los aislados presentó valores de CE<sub>50</sub> < 0.02 µg mL<sup>-1</sup>, encontrándose principalmente en Veracruz, Nayarit y Chiapas. Así mismo, los aislados provenientes de huertos de mango de Sinaloa, Veracruz y Oaxaca presentaron los mayores valores de CE<sub>50</sub> (> 0.06 µg mL<sup>-1</sup>). Finalmente, en este estudio se comprobó que los aislados del complejo *C. gloeosporioides* de mango son altamente sensibles a procloraz. Los datos determinados servirán para monitorear variaciones posteriores en la sensibilidad de poblaciones de *Colletotrichum* de mango a los fungicidas de la clase DMI.

**Palabras clave:** Sensibilidad base, *in vitro*, procloraz, *Colletotrichum gloeosporioides*.

### Abstract

A total of 101 isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* complex from mango were obtained from orchards localized in Chiapas, Colima, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa and Veracruz, Mexico. Due to all the *Colletotrichum* isolates were collected from mango orchards that had not been exposed to prochloraz, or any other DMI (Demethylation Inhibitors) fungicide. Thus, these isolates were considered baseline populations to this fungicide class. All Isolates were tested using an *in vitro* assay to determine the effective fungicide concentration at which 50% of mycelial growth was inhibited (EC<sub>50</sub>). EC<sub>50</sub> values ranged from 0.004 to 0.099 µg mL<sup>-1</sup> (mean= 0.04 µg mL<sup>-1</sup>). Seventy-nine percent of the isolated showed EC<sub>50</sub> values ranged from 0.02-0.06 µg mL<sup>-1</sup>. Eleven percent of the isolates were considered more sensitive (EC<sub>50</sub> values < 0.02 µg mL<sup>-1</sup>), and these isolates were founded mainly in Veracruz, Nayarit and Chiapas. While isolates obtained from orchard localized in Sinaloa, Veracruz and Oaxaca showed the highest EC<sub>50</sub> values (> 0.06 µg mL<sup>-1</sup>). This study revealed the existence in Mexico of isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* complex from mango highly sensitive to prochloraz. The data obtained here will serve to monitor future variations in sensitivities of *Colletotrichum* populations from mango to DMI fungicides.

**Key words:** Sensitivity base, *in vitro*, prochloraz, *Colletotrichum gloeosporioides*.

<sup>1</sup>Tesista

<sup>2</sup>Director

<sup>3</sup>Co-director

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>iv</b>
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>v</b>
<b>DATOS BIOGRÁFICOS.....</b>	<b>vi</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>vii</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 OBJETIVO.....	3
1.2 HIPOTESIS.....	3
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
2.1 El mango.....	4
2.1.1 Importancia.....	4
2.1.2 Distribución en México.....	4
2.1.3 Enfermedades del mango.....	5
2.2 Antracnosis del mango ( <i>Colletotrichum</i> spp.).....	6
2.2.1 Importancia y distribución.....	6
2.2.2 Agente causal.....	6
2.2.3 Síntomas.....	8
2.2.4 Epidemiología.....	9
2.2.5 Manejo de la enfermedad.....	10
2.2.5.1 Control cultural.....	10



2.2.5.2 Uso de variedades resistentes.....	11
2.2.5.3 Control biológico.....	13
2.2.5.4 Control químico.....	14
2.2.6 Control postcosecha.....	17
2.3 Sensibilidad base.....	20
2.4 Procloraz.....	22
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
3.1 Origen, purificación y conservación de los aislados.....	25
3.2 Prueba de sensibilidad a procloraz.....	25
3.2.1 Fungicida.....	25
3.2.2 Inhibición del crecimiento micelial.....	29
3.2.3 Análisis estadístico.....	30
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>31</b>
4.1 Prueba de sensibilidad a procloraz.....	31
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>40</b>
<b>VI. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>41</b>

## LISTA DE CUADROS

	<b>Página</b>
<b>Cuadro 1.</b> Variedades de mango cultivadas mundialmente con diferentes niveles de susceptibilidad a la antracnosis (Knight <i>et al.</i> , 2009; Mukherjee y Litz, 2009; Pandey <i>et al.</i> , 2012).....	12
<b>Cuadro 2.</b> Fungicidas autorizados para el control de la antracnosis en mango (FAO; Agencia de Protección Ambiental de EE.UU.).....	16
<b>Cuadro 3.</b> Fuentes de aislados del complejo de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> obtenidos en huertos de importancia comercial de Chiapas, Colima, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz, México.....	27
<b>Cuadro 4.</b> Concentración efectiva de procloraz que inhibe el 50% del crecimiento micelial (CE <sub>50</sub> ) de aislados del complejo de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> de mango colectados en Chiapas, Colima, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz, México.....	35

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Estructura química del procloraz (FRAC, 2014).....	22
<b>Figura 2.</b> Partes vegetales de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) con síntomas de antracnosis. (A) Manchas café oscuras con halo amarillo formadas en hojas jóvenes. (B) Síntomas iniciales de tizón de hojas. (C) Manchas necróticas ovales en ramita y necrosis de panículas. (D) Frutos recién formados presentando necrosis y momificación. (E) Manchas negras irregulares y hundidas desarrolladas en la superficie de un fruto maduro.....	26
<b>Figura 3.</b> Valores de $CE_{50}$ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de procloraz en aislados del complejo de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> procedentes de huertos de mango en Chiapas, Colima, Guerrero y Michoacán, México.....	33
<b>Figura 4.</b> Valores de $CE_{50}$ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de procloraz en aislados del complejo de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> procedentes de huertos de mango en Nayarit, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz, México.....	34
<b>Figura 5.</b> Número de aislados del complejo de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> correspondientes a los diferentes valores de $CE_{50}$ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de procloraz procedentes de huertos de mango en Chiapas, Colima, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz, México.....	37

## I. INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.), originario de la zona comprendida entre la India y Myanmar, es la especie de mayor importancia económica de la familia Anacardiaceae (Galán-Saúco, 1999). En México, el mango ocupa el tercer lugar en cuanto a superficie sembrada de árboles frutales. Los principales estados productores son Guerrero, Nayarit, Sinaloa, Oaxaca, Chiapas, Michoacán y Veracruz (SIAP, 2014). El consumo interno del mango en México es elevado y solo el 16.5% se exporta, siendo EE.UU. su mayor importador (FAOSTAT, 2014).

Entre las enfermedades que afectan al mango la antracnosis es la más importante. Esta es causada por *Colletotrichum* spp. (Ploetz *et al.*, 1998; Prusky *et al.*, 2009). En México se ha encontrado a *C. gloeosporioides* como el principal agente causal de la antracnosis del mango y en menor escala a *C. acutatum* (Mora-Aguilera *et al.*, 2002; Ríos-López, 2011).

El control de la antracnosis en campo depende del uso de fungicidas de las clases benzimidazoles (benomil, tiofanato-metil, carbendazim y tiabendazol), ditiocarbamatos (maneb, mancozeb, propineb, zineb), ftalamidas (captafol, captan), cloronitrilos (clorotalonil), inorgánicos (oxicloruro de cobre) y fungicidas con actividad erradicante como los DMI's (procloraz) (Galán-Saúco, 1999; Prusky *et al.*, 2009).

AgroIsleña (1996) y Estrada *et al.*, (1996), señalaron que el procloraz es un fungicida eficaz debido a que actúa como protector y erradicante, matando al hongo por contacto, por lo cual se puede emplear para el control de la enfermedad en campo y en tratamiento postcosecha, siendo en este último tratamiento el más utilizado. Kuo (2001) señaló que el procloraz es ampliamente usado en Taiwán a la dosis de  $83.3 \mu\text{g mL}^{-1}$  para el control

de la antracnosis del mango en campo, mostrando mayor eficacia que benomil en los últimos 10 años. Por su parte, Zhang *et al.* (2013), compararon a procloraz con 22 fungicidas alternativos al carbendazim para el control de la antracnosis del mango, encontrando que el procloraz era el más efectivo. Además, el procloraz es el único fungicida registrado para su uso en mango en postcosecha para el mercado de la Unión Europea (Arauz, 2000), sin embargo, para el mercado de EE.UU. no ha sido aprobado (Ploetz y Freeman, 2009).

Actualmente no se ha reportado la resistencia de *C. gloeosporioides* a procloraz, solo existe una variación considerable en el nivel de sensibilidad al fungicida. En estudios realizados por Kuo (2001) en Taiwán, encontró una sensibilidad base de la CE<sub>50</sub> de 0.015 µg mL<sup>-1</sup> en aislados de mango no expuestos a fungicidas DMI's, que al compararla con aislados obtenidos de huertos de mango con 12 a 16 aplicaciones anuales de procloraz en campo durante 13 años, la CE<sub>50</sub> fue de 0.0204 a 0.1554 µg mL<sup>-1</sup>, por lo que concluyó que no había señales de resistencia al fungicida.

El uso de procloraz en México se ha limitado únicamente al control de la antracnosis en frutos cosechados de plátano, papaya, mango y otras frutas tropicales y subtropicales, sin probar su eficacia en campo (Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2003; López-Navarrete, 2010; Martínez-Bolaños, 2012).

La importancia de realizar estudios de sensibilidad base radica en determinar el grado de sensibilidad presente entre individuos o poblaciones fúngicas de importancia agrícola, nunca expuestas a un fungicida o su grupo químico en campo, sirviendo como línea base que, al comparar con cualquier medición futura, pueda revelar posibles cambios en la

sensibilidad, los cuales podrían conducir a futuros problemas de resistencia (Arauz-Cavallini, 1998; Brent y Hollomon, 1998; Russell, 2004).

En México pocos estudios se han realizado para determinar la sensibilidad que presenta el complejo *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis del mango a fungicidas DMI's como el procloraz (Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2003). Estos estudios se han limitado a pocos aislados y principalmente, a la medición de la inhibición de la germinación de conidios, sin dar un panorama completo de la distribución y grado de sensibilidad que presenta este complejo de hongos entre los principales estados productores de mango en México. Debido a lo anterior se ha planteado el siguiente objetivo:

### **OBJETIVO**

Determinar mediante ensayos de inhibición del crecimiento micelial la sensibilidad base a procloraz en aislados del complejo de *Colletotrichum gloeosporioides* de mango en México.

### **HIPÓTESIS**

Ho: Todos los aislados del complejo *C. gloeosporioides* obtenidos de huertos de mango en Chiapas, Colima, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz, México son sensibles a procloraz.

Ha: Al menos un aislado del complejo *C. gloeosporioides* obtenido de huertos de mango en Chiapas, Colima, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz, México es poco sensible a procloraz.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 El mango**

#### **2.1.1 Importancia**

El mango (*Mangifera indica* L.), originario de la zona comprendida entre la India y Myanmar, es la especie de mayor importancia económica de la familia Anacardiaceae (Galán-Saúco, 1999). Internacionalmente representa el quinto fruto de importancia después del banano, manzana, naranja y vid (FAOSTAT, 2014). Se adapta a un amplio rango de suelos, climas, altitudes y desempeña un papel vital en la dieta de millones de personas en las regiones tropicales de Asia, África y América, en donde el consumo local es elevado (Prakash, 2004).

En el año 2012, a nivel mundial se produjeron más de 42 millones de ton de mango, el mayor productor fue la India con 15.25 millones de ton, seguido por China, Kenia, Tailandia, Indonesia, Pakistán y México (1.76 millones de ton) (FAOSTAT, 2014).

México fue el mayor exportador de mango, en el año 2011 se exportaron 287,771 ton, lo que representa el 16.5% de la producción nacional. Siendo EE.UU. su mayor importador con un 85% de la exportación mexicana, siguiéndole Canadá, Países bajos y Japón con 11.5, 1.17 y 1.1%, respectivamente (FAOSTAT, 2014).

#### **2.1.2 Distribución en México**

En México, el mango ocupa el tercer lugar en cuanto a superficie sembrada de árboles frutales, con 186,964 has en el 2013. Siendo el estado de Guerrero quién registró la mayor producción con 352,806 ton, seguido por Nayarit, Sinaloa, Oaxaca, Chiapas,

Michoacán, Veracruz, y otros 16 estados con un total de 1,603,809 ton, sin embargo, la mayor superficie sembrada la registró el estado de Sinaloa con 30,095 has (SIAP, 2014).

El consumo interno del mango en México es elevado, para el año 2011 el consumo fue del 83.5% de la producción nacional (FAOSTAT, 2014). Las variedades que más se comercializaron en el 2012 fueron Ataulfo con un 24% de la producción total, seguido por Manila (18.4%), Tommy Atkins (15.5%), Kent (12.4%) y Haden (11.8%). Otras variedades como Criollo, Keitt, Oro y Manililla (suman 17.4%) también se comercializan en México (SIAP, 2014).

### **2.1.3 Enfermedades del mango**

Las principales enfermedades del mango reportadas en el mundo son: la antracnosis (*Colletotrichum* spp.), pudrición del pedúnculo y muerte descendente (*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon y Maubl), mancha negra de hojas y frutos (*Alternaria alternata* Kreissler), cenicilla (*Pseudoidium anacardii*, sin. *Oidium mangiferae*), proliferación vegetativa y floral (*Fusarium* spp.), roña (*Elsinoe mangiferae*), necrosis apical o mancha negra bacteriana (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall) y cancro bacteriano (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*) (Dodd *et al.*, 1997; Mora-Aguilera *et al.*, 1998). Siendo la antracnosis la enfermedad del mango más importante y distribuida en zonas húmedas (Ploetz *et al.*, 1998; Galán-Saúco, 1999).



## **2.2 Antracnosis del mango (*Colletotrichum* spp.)**

### **2.2.1 Importancia y distribución**

La antracnosis del mango causada por *Colletotrichum* spp. se encuentra en casi todas las áreas productoras de mango del mundo y es la más importante en lugares lluviosos y húmedos (Ploetz *et al.*, 1998; Galán-Saúco, 1999). En campo el patógeno causa daños considerables a panículas florales, hojas y frutos, y en condiciones favorables el hongo puede causar la muerte regresiva de árboles (Ploetz *et al.*, 1998). Aunque en campo la antracnosis causa un daño considerable, en postcosecha las enormes pérdidas causadas son de mucha mayor importancia económica, donde la incidencia de la enfermedad puede llegar a casi el 100% de la fruta (Arauz, 2000; Prusky *et al.*, 2009).

En México, la antracnosis se encuentra distribuida en todos los estados productores de mango y los principales daños consisten en tizón de inflorescencias y pudrición de frutos que se intensifican después de la madurez fisiológica, principalmente en empacadoras, transporte y almacenamiento, llegando a ocasionar pérdidas que varían del 15 al 50% (Guillén-Sánchez *et al.*, 2003; Rojas-Martínez *et al.*, 2008).

### **2.2.2 Agente causal**

La antracnosis del mango es causada por el complejo de hongos *Colletotrichum* spp., teniendo como teleomorfo o estado sexual al género *Glomerella* (Agrios, 2013; Prusky *et al.*, 2009).

Las especies de *Colletotrichum* que han sido reportadas infectando mango son: *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc., *Colletotrichum acutatum* J.H.

Simmonds (Prusky *et al.*, 2009), *Colletotrichum asianum*, *Colletotrichum karstii*, *Colletotrichum fructicola*, *Colletotrichum tropicale* y *Colletotrichum dianesei* (Lima *et al.*, 2013). En México se ha encontrado a *C. gloeosporioides* como el principal agente causal de la antracnosis del mango y en menor escala a *C. acutatum* (Mora-Aguilera *et al.*, 2002; Ríos-López, 2011).

*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. (teleomorfo: *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld. y H. Schrenk). Este patógeno puede existir en una amplia gama de hospedantes, incluyendo otras frutas tropicales y subtropicales. Colonias del hongo en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) presentan micelio aéreo que varía de color blanco grisáceo a gris oscuro (Ploetz *et al.*, 1998; Ploetz y Freeman, 2009). Los conidios son hialinos, unicelulares, y cilíndricos con extremos obtusos o elipsoidales con ápice redondeado y una base estrecha y truncada, de 7-20  $\mu\text{m}$  de largo y 2.5-5  $\mu\text{m}$  de ancho. Estos forman conidióforos hialinos y acérvulos ligeramente marrones, de forma irregular y de aproximadamente 500  $\mu\text{m}$  de diámetro. Las setas miden entre 4-8  $\times$  200  $\mu\text{m}$ , color marrón, ligeramente hinchadas en la base y cónica en el ápice (Ploetz *et al.*, 1998). En tejidos de la planta, los acérvulos pueden tener espinas largas y oscuras o hifas estériles en forma de filamento (Agrios, 2013). Los apresorios son clavados, ovalados, algunas veces lobulados, color café (sepia); su tamaño fluctúa de 6-20  $\times$  4-12  $\mu\text{m}$  (Sutton, 1992).

*Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds (teleomorfo: *Glomerella acutata*). Las colonias son de color blanco, llegando a ser gris a marrón grisáceo, volviendo el rosa a carmín. Esclerocios ausentes (Sutton, 1992). Conidios hialinos, unicelulares, rectos, lisos y fusiformes, de 8-16  $\times$  2.5-4  $\mu\text{m}$ , las masas conidiales son de color salmón. Los conidióforos son hialinos, septados y ramificados. Los apresorios son de color café claro

a café oscuro, claviformes de 6.5–11 x 4.5–7.4  $\mu\text{m}$  y con márgenes lisos. El acérvulo es superficial a subcuticular, midiendo hasta 500  $\mu\text{m}$  de diámetro, y puede o no tener setas de color café, lisas, septadas, rectas a ligeramente curvadas, cónicas en los ápices, de 46.5–85 x 3–4  $\mu\text{m}$ . *C. acutatum* se diferencia de *C. gloeosporioides* en su coloración naranja a rosa en la colonia durante las primeras semanas del crecimiento en medio PDA (Ploetz *et al.*, 1998). Además que la tasa de crecimiento es más lenta que *C. gloeosporioides* (Sutton, 1992).

### **2.2.3 Síntomas**

Los síntomas iniciales en las hojas se manifiestan como pequeñas manchas necróticas de color marrón oscuro que aumentan de tamaño, particularmente en condiciones húmedas, juntándose en parches  $\geq 1$  cm de diámetro, de forma irregular y no están delimitadas por las nervaduras, generalmente rodeados de un halo amarillo pálido. Los centros de las lesiones viejas pueden secarse y caer, dando a la hoja un aspecto perforado o desgarrado. (Ploetz *et al.*, 1998; Galán-Saúco, 1999; Ploetz y Freeman, 2009). Finalmente, las manchas necróticas grandes, pueden provocar que la hoja se deteriore y caiga dándole una apariencia andrajosa (Ploetz y Freeman, 2009). En condiciones favorables el hongo puede causar la muerte regresiva de los árboles (Ploetz *et al.*, 1998).

En las panículas, las flores necróticas se caen dejando los pedúnculos. Manchas oscuras pequeñas, circulares se desarrollan en los pedúnculos. Las lesiones en el tejido se pueden agrandar y unirse para formar grandes manchas necróticas con coloración marrón oscuro. Con lluvias suficientes, las fructificaciones color salmón a naranja del patógeno se desarrollan en los tejidos afectados (Ploetz y Freeman, 2009).

Cuando la infección ocurre en los frutos jóvenes puede producirse el aborto o caída de los mismos. El patógeno generalmente causa infecciones latentes en los frutos en desarrollo que no se manifiestan hasta la postcosecha. Los síntomas iniciales son pequeñas lesiones de color marrón. No obstante, si no se controla a tiempo y particularmente bajo condiciones de alta humedad, estas lesiones se agrandan formando manchas redondeadas que a menudo se juntan en otras más grandes, necróticas y de forma irregular, que muchas veces se cuarteán y/o se cubren de masas de esporas de color rosa salmón. En condiciones de menor humedad se producen daños característicos llamados “manchas de cuero” sobre la piel de los frutos (Galán-Saúco, 1999).

En los frutos maduros los síntomas son aún más notorios presentándose lesiones irregulares de color marrón a negro a medida que el fruto comienza a cambiar de color. Los síntomas típicos son lesiones en forma de lágrimas que se extienden desde el pedúnculo hacia el ápice, aunque pueden producirse manchas en cualquier parte del fruto (Galán-Saúco, 1999). Las lesiones son al principio muy superficiales, sólo después de que cubren gran parte de la superficie del fruto penetran a más de 5 mm de la pulpa. Finalmente, el hongo produce acérvulos, y abundantes masas de esporas de color naranja a salmón que aparecen en las lesiones (Ploetz *et al.*, 1998).

#### **2.2.4 Epidemiología**

Los conidios son la principal fuente de inóculo, estos son producidos en ramas terminales, inflorescencias momificadas, brácteas florales y hojas (Ploetz y Freeman, 2009). Son propagados a través de la lluvia por salpicadura y pueden infectar prácticamente todos los tejidos del hospedante sobre el suelo, aunque las inflorescencias

y frutas son especialmente vulnerables (Ploetz *et al.*, 1998). Cuando los conidios infectan a otras hojas o flores causan infecciones secundarias; por lo tanto, la enfermedad es policíclica en estos órganos (Arauz, 2000). La infección requiere humedad relativa mayor a 95% para la adecuada germinación de conidios y formación de apresorios (Prusky *et al.*, 2009). Los apresorios se melanizan, fortaleciéndose y facilitando la infección en la cutícula a través de la hifa de penetración; una herida no es necesaria para la penetración. En general, la infección es favorecida a temperaturas que oscilan de 20 a 30°C (Ploetz *et al.*, 1998; Prusky *et al.*, 2009).

Aunque los síntomas pueden desarrollarse poco después de que se produce la infección, infecciones latentes son comunes y pueden permanecer en reposo en la fruta durante meses. Por lo tanto, un fruto que parece saludable en la cosecha puede desarrollar síntomas de antracnosis significativos en la maduración (Ploetz *et al.*, 1998).

### **2.2.5 Manejo de la enfermedad**

El manejo de la antracnosis en campo implica prácticas culturales y químicas, así como la selección de cultivares (Ploetz y Freeman, 2009) y el uso de microorganismos antagónicos tales como bacterias y levaduras (Kefialew y Ayalew, 2008).

#### **2.2.5.1 Control cultural**

El desarrollo de la antracnosis en mango depende de la humedad o alta humedad relativa, por lo tanto, los huertos deben establecerse en áreas con una estación seca bien definida (Ploetz y Freeman, 2009). Otras medidas de control incluyen medidas sanitarias, tales como: eliminar las fuentes de inóculo (hojas y frutos caídos), reducir la

humedad y favorecer la ventilación del árbol mediante la eliminación de malas hierbas, realizar podas juiciosas y embolsar los frutos (con papel o tela) (Galán-Saúco, 1999). Cabe señalar que el embolsado da como resultado una reducción en la severidad de la antracnosis, pero también reduce el color rojo de la fruta, lo que podría reducir el interés del consumidor (Hofman *et al.*, 1997).

También se puede adelantar la floración por varias semanas a un período de menor sensibilidad mediante la aspersion de nitrato de potasio (Núñez-Elisea, 1985) y paclobutrazol (retardador de crecimiento) (Núñez-Elisea *et al.*, 1993).

El vigor de la planta juega un papel importante para mantenerse libre de la infección de la antracnosis. Por lo tanto, el riego y aplicación correcta de fertilizantes son esenciales para mantener el vigor del árbol (Pandey *et al.*, 2012). Aplicaciones foliares a dosis altas de nitrógeno (300 g/árbol) aumentan la severidad de la antracnosis durante la maduración de la fruta (Bally, 2009).

#### **2.2.5.2 Uso de variedades resistentes**

Aunque todos los cultivares de mango comerciales son susceptibles a la antracnosis, algunos son menos susceptibles que otros; 'Tommy Atkins' y 'Keitt' son menos susceptibles que los 'Irwin', 'Kent', 'Haden' y 'Edward' (Campbell, 1992). Sin embargo, ninguna variedad conocida ha presentado una resistencia significativa a la enfermedad (Pandey *et al.*, 2012). Diferentes niveles de susceptibilidad a la antracnosis en diversas variedades de mango cultivadas en el mundo han sido reportados, las cuales se mencionan en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Variedades de mango cultivadas mundialmente con diferentes niveles de susceptibilidad a la antracnosis (Knight *et al.*, 2009; Mukherjee y Litz, 2009; Pandey *et al.*, 2012).

<b>Variedad</b>	<b>País productor</b>	<b>Susceptibilidad a antracnosis</b>
Alphonso	Egipto, India	Moderadamente susceptible
Ataulfo	México	Moderadamente tolerante
Brooks	EE.UU.	Moderadamente susceptible
Calypso	Australia	Susceptible
Haden (Carabao)	Brasil, EE.UU., Filipinas, Guatemala, México	Moderadamente tolerante
Keitt	Brasil, China, EE.UU., Guatemala, México, Taiwán	Tolerante
Kent	EE.UU., Guatemala, México	Susceptible
Kensington	Australia	Tolerante
Langra	Bangladesh, Egipto, India, Pakistán	Moderadamente tolerante
Manila	México	Tolerante
Rosa	Brasil	Susceptible
Tommy Atkins	Brasil, EE.UU., Guatemala, México, Taiwán	Altamente tolerante
Van Dyket	Brasil, EE.UU., México	Tolerante
Zebda	Egipto	Altamente tolerante

Diferentes niveles de tolerancia a patógenos está dada por altas concentraciones de compuestos antimicrobianos como Resorcinol-5-(12-heptadecenyl) y Resorcinol-5-(pentadecyl) (220 µg/g de peso fresco de fruta) preformados en el pericarpio de frutos

inmaduros de mango, son armas de resistencia a varias especies de *Colletotrichum* tales como *C. gloeosporioides* y *C. acutatum* (Droby *et al.*, 1986; Prusky y Keen, 1993). Otros compuestos antifúngicos, son las proteínas extracelulares quitinasa y  $\beta$ -1,3-glucanasa (Litz *et al.*, 2009). Además de la respuesta de la planta a la infección del hongo al generar compuestos antifúngicos mediante el estallido oxidativo provocado por especies reactivas de oxígeno (ROS) (Prusky *et al.*, 2009).

### **2.2.5.3 Control biológico**

Se han aislado un gran número de microorganismos con actividad *in vitro* o *in vivo* contra *C. gloeosporioides* (Jeffries y Koomen, 1992), pero pocos ejemplos han sido utilizados comercialmente en el campo hasta que Korsten (2004) aisló *Bacillus* spp. de la hoja y superficie de la fruta del mango, dando un control efectivo de la antracnosis *in vitro*. Sin embargo, Korsten *et al.* (1992), indicaron que la fase de reposo del hongo no se ve afectada por el antagonista *Bacillus* spp. por lo que la inoculación de la fruta con la bacteria debe realizarse 24 h antes de la inoculación con el hongo. En tanto, Prusky *et al.* (1993), encontraron una cepa no patógena de *Colletotrichum magna* que coloniza el fruto endofíticamente y previene la infección por *C. gloeosporioides*.

Un estudio realizado por Kefialew y Ayalew (2008), con microorganismos antagónicos inicialmente aislados de mango para el control de *C. gloeosporioides in vitro* como son las cepas bacterianas *Brevundimonas diminuta* (B-62-13), *Stenotrophomonas maltophilia* (L-16-12), *Enterobacteriaceae* (L-19-13), el hongo *Candida membranifaciens* (F-58-22), además de nuevas especies de levaduras (B-65-23), mostraron eficacia para el control de la antracnosis en frutos del mango. Estos agentes



de control biológico ofrecen un gran potencial para el desarrollo de métodos alternativos que son económicos y adecuados para su adopción por la industria del mango.

Los productos biológicos formulados a partir de *Trichoderma* en forma de gránulos y suspensiones han sido probados en el campo para controlar la antracnosis del mango causada por *C. gloeosporioides*. Noiaium y Soyong (1999), revelaron que con gránulos de *Trichoderma* también podrían reducir significativamente el inóculo del patógeno y la incidencia de la antracnosis en un 81.26 y 55.53%, respectivamente.

Pandey *et al.* (2012), mencionaron que extractos vegetales de *Azadirachta indica*, *Origanum manjorona*, *Agrimonia eupatoria*, *Petiveria* sp., *Digitalis lanata*, *Plantago lanceolata* y *Stevia rebaudiana* presentan actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides*. Además que el aceite esencial de *Hibiscus Cannabinus* tiene actividad contra *C. Fragaria*, *C. gloeosporioides* y *C. acutatum*.

#### **2.2.5.4 Control químico**

En zonas húmedas tropicales es imprescindible la utilización de tratamientos químicos para el control de la antracnosis, que deben iniciarse antes o durante el cuajado y continuarse hasta la cosecha (Galán-Saúco, 1999). En situaciones extremas, en las que la fruta se desarrolla por completo en condiciones que favorecen la enfermedad, se han reportado hasta 25 aplicaciones de fungicidas sistémicos y de contacto (Dodd *et al.*, 1997). El tiempo y la frecuencia de aplicación de fungicidas son críticos; aplicaciones poco antes o al inicio de la floración aumentan el cuajado; aplicaciones posteriores reducen la precosecha y postcosecha de los frutos (Ploetz *et al.*, 1998).

Pocos son los fungicidas autorizados en los países importadores para su uso en mango (Cuadro 2). Por lo tanto, la elección de los fungicidas dependerá del destino de la fruta. Fungicidas del grupo de los ditiocarbamatos son muy eficaces para el control de la antracnosis, pero su uso no está autorizado por EE.UU. debido a la etileno tiourea (ETU) que es un subproducto de la degradación del etileno, sin embargo, puede usarse para algunos países europeos (Arauz, 2000). Los fungicidas ditiocarbamatos, como el ferbam no producen ETU por lo que son una alternativa para el control de la antracnosis en frutas cultivadas o enviadas a los EE.UU. (Pandey *et al.*, 2012). En cambio fungicidas de contacto a base de cobre se recomiendan, pero su eficacia es menor (Arauz, 2000).

Un gran número de fungicidas de las clases benzimidazoles (benomil, tiofanato-metil, carbendazim y tiabendazol), cloronitrilos (clorotalonil), ditiocarbamatos (maneb, mancozeb, propineb, zineb), ftalimidas (captafol, captan), inorgánicos (oxicloruro de cobre) son eficientes para el control de la antracnosis en campo, siendo recomendable alternarlos (Galán-Saúco, 1999; Prusky *et al.*, 2009). De acuerdo a Mc Millan (1984), benzimidazoles como carbendazim, tiofanato-metil y benomil fueron más efectivos en comparación con fungicidas no sistémicos en el control de la antracnosis del mango.

Fungicidas con actividad erradicante para la antracnosis del mango incluyen benzimidazoles (benomil) y DMI's (procloraz). El benomil ha sido utilizado en programas basados en calendarios de aplicación, por lo general, se emplea en mezclas con fungicidas de contacto, para retrasar el desarrollo de resistencia en la población del patógeno (Prior *et al.*, 1992). AgroIsleña (1996) y Estrada *et al.*, (1996), señalaron que el procloraz es un fungicida eficaz para el control del hongo causante de la antracnosis debido a que actúa como protector y erradicante, matando al hongo por contacto, por lo

cual se puede emplear para el control de la enfermedad en campo y en tratamiento postcosecha, siendo en este último tratamiento el más utilizado.

En México, el uso de procloraz se ha limitado únicamente al control de la antracnosis en frutos cosechados de plátano, papaya, mango y otras frutas tropicales y subtropicales, sin probar su eficacia en campo (Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2003; López-Navarrete, 2010; Martínez-Bolaños, 2012). Mientras tanto, Kuo (2001) mencionó que el procloraz ha sido utilizado para el control de la antracnosis del mango en campo, desde su introducción a Taiwán en 1985, a la dosis de 83.3  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , mostrando mayor eficacia que el benomil en los últimos 10 años.

**Cuadro 2.** Fungicidas autorizados para el control de la antracnosis en mango (FAO; Agencia de Protección Ambiental de EE.UU.).

Fungicida	Límite máximo de residuos	
	Código (FAO/WHO)	EPA (EE.UU.)
Benomil	2.0 <sup>a</sup>	3.0
Procloraz <sup>b</sup>	2.0	No autorizado
Captan	No autorizado	50.0
Ferbam	No autorizado	7.0
Tiabendazol	2.0 <sup>c</sup>	10.0
Fungicidas a base de cobre	No hay datos	Sin limites

<sup>a</sup> Como carbendazim.

<sup>b</sup> Autorizado para su uso en postcosecha

<sup>c</sup> Como carbendazim.

El azoxystrobin (inhibidor de la quinona) es un producto de reciente introducción en el mercado, que ha mostrado un control eficiente de varias enfermedades. En cultivos como el limón mexicano (*Citrus aurantifolia*), es utilizado para el control de la

antracnosis (*C. acutatum*) (Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2003); pero estos fungicidas son muy propensos a problemas de resistencia, por lo que se deben utilizar correctamente para garantizar que su eficacia no se pierda rápidamente (Prusky *et al.*, 2009).

Se ha encontrado diferencias en la sensibilidad a fungicidas entre especies de *Colletotrichum*. En comparación con *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* es menos sensible a benomil, captan y propiconazol, pero más sensible a miclobutanil y tebuconazol. La prueba de sensibilidad a benomil se aplica con frecuencia para separar *C. acutatum* de *C. gloeosporioides* (Freeman *et al.*, 1998; Talhinhos *et al.*, 2002).

Un sistema de predicción de la antracnosis creada en Australia, basado en la lectura de la temperatura y la humedad de las hojas fue desarrollado para identificar los períodos estratégicos para las aplicaciones de fungicidas en campo, el sistema reduce significativamente el número de aplicaciones (Ploetz *et al.*, 1998).

### **2.2.6 Control postcosecha**

Tradicionalmente, el control en postcosecha de la antracnosis en mango se ha dirigido a la erradicación de las infecciones latentes en la fruta (McMillan, 1987). En el caso de las frutas destinadas a exportación, son necesarios tratamientos postcosecha, tales como inmersión en agua caliente y fungicidas (Galán-Saúco, 1999). La temperatura del agua y la duración de la inmersión son críticos cuando se utiliza agua caliente. El tratamiento con agua caliente no debe superar los 55°C durante 5 min. Cuando el tratamiento de agua caliente se combina con fungicidas, la temperatura del agua debe reducirse a 52 o 53°C (Ploetz *et al.*, 1998). Johnson y Hofman (2009), indicaron que el tratamiento con agua caliente puede contribuir a un aumento del daño en la piel de la fruta. Por lo que,

en frutas menos maduras y cultivares sensibles al daño por agua caliente, como las variedades “Zill” e “Irvin”, el agua deberá estar entre 48-50°C, y para frutas maduras y cultivares menos sensibles, de 50-55°C. Además, mencionaron que, tratamientos de 3 min, pueden ser adecuados para el control de la antracnosis, pero no para otras enfermedades como la pudrición del pedúnculo, la cual requiere tratamientos de hasta 7 min para mejorar su control.

Entre los productos recomendados para el control de enfermedades postcosecha en frutales tropicales y subtropicales se encuentran el procloraz e imazalil, que se utilizan ampliamente en Centro y Sudamérica, para el control de la antracnosis en plátano, mango y cítricos (Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2003)

En el pasado, se utilizó benomil en inmersión en postcosecha a tasas que varían desde 500 hasta 1,000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , pero su uso ya no está permitido. El tiabendazol de 1,000 a 2,000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  también es eficaz, y hay interés en su registro para su uso en postcosecha en mango, ya que se utiliza actualmente en otras frutas como los cítricos. El procloraz es el único funguicida registrado para su uso en mango en postcosecha en la Unión Europea (Arauz, 2000), sin embargo, para el mercado de EE.UU. no ha sido aprobado (Ver cuadro 2, pág. 16.) (Ploetz y Freeman, 2009). El procloraz se puede utilizar en la fruta enviada a la Unión Europea, a concentraciones de hasta 1,000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ; su eficacia es de 65 y 94% dependiendo si la presencia de la enfermedad es moderada o baja, respectivamente (Arauz, 2000).

Impurezas presentes en el agua de inmersión como minerales, sedimentos, escombros y acumulación de savia, así como la presencia de materias extrañas sobre la fruta, pueden

afectar la eficacia del fungicida durante el tratamiento. Realizar labores de limpieza como el cambio de agua sucia y el cepillado de las frutas antes del tratamiento, aumentan la eficacia del fungicida (Johnson y Hofman, 2009).

La combinación de agua caliente y fungicida es el tratamiento postcosecha comercial más eficaz que cualquier tratamiento utilizado por separado (Ploetz y Freeman, 2009). En Sudáfrica, los resultados de ensayos realizados en mango en postcosecha con procloraz, tiabendazol y fludioxonil mostraron que las soluciones calentadas (50°C), controlan la pudrición del pedúnculo y la antracnosis mejor que las soluciones comparativas a temperatura ambiente. El fludioxonil solo (600 ppm) y el fludioxonil (450 y 300 ppm) más procloraz (405 ppm), proporciona el mejor control de la pudrición del pedúnculo, sin embargo, el procloraz combinado con tiabendazol mostró el menor efecto sobre la pudrición del pedúnculo, por lo que esta combinación no es adecuada (Swart *et al.*, 2009). Tratamientos con solo agua caliente no dejan residuos químicos en la fruta y podrían ser una alternativa para el control de la antracnosis del mango en producción orgánica o para los mangos dirigidos al mercado de EE.UU., donde actualmente no hay fungicidas aprobados para su uso en postcosecha (Ploetz y Freeman, 2009). Pero, el tratamiento de agua caliente, no controla adecuadamente patógenos en frutos de mango para exportación (Johnson y Hofman, 2009).

La irradiación de frutas para controlar la antracnosis se ha utilizado en Sudáfrica. La radiación infrarroja de onda corta ha dado lugar a niveles de antracnosis similares a los procedentes del tratamientos de agua caliente, y ha sido mucho más rápida y menos costosa (Saaiman, 1996).

Ejemplos del uso de agentes de biocontrol en postcosecha para la antracnosis del mango son antagonistas microbianos y levaduras. Koomen y Jeffries (1993), demostraron que el aislamiento 558 de *Pseudomonas fluorescens* redujo significativamente el desarrollo de la antracnosis del fruto en condiciones comerciales, pero el modo de acción aún no está claro. Trabajos realizados en Sudáfrica (de Villiers y Korsten, 1996) mostraron que la inmersión de frutos del cultivar Keitt durante 7 min en *Bacillus licheniformis* (B251) no presentó diferencias significativas en relación al tratamiento estándar con procloraz, sin embargo, ambos presentaron diferencias frente al control. Además, Kefialew y Ayalew (2008), demostraron que el aislado bacteriano *Brevundimonas diminuta* (B-62-13) y la levadura B-65-23 fueron tan eficaces como el tratamiento de agua caliente a 55°C durante 5 min. Nuevas investigaciones sobre los mecanismos de control biológico en cuestión y la seguridad de los aislados, en particular las bacterias para su uso en frutas comestibles, están siendo realizadas (Kefialew y Ayalew, 2008).

### **2.3 Sensibilidad base a fungicidas**

La sensibilidad de un hongo a un fungicida se mide por medio de la concentración del fungicida que resulta en determinado nivel (normalmente 50, 99 o 100%) de inhibición del crecimiento, la germinación o alguna otra variable relevante del hongo. La expresión  $CE_x$  (o concentración efectiva x) indica la concentración necesaria para lograr x porcentaje de inhibición. Para poder hablar de desarrollo de resistencia debe haber diferencias de sensibilidad entre poblaciones nunca o poco expuestas al fungicida y poblaciones expuestas. La sensibilidad de la primera se denomina línea base. La relación

entre la  $CE_X$  de la población resistente y la  $CE_X$  de la población sensible (sensibilidad base) se denomina factor de resistencia (FR) (Arauz-Cavallini, 1998).

Para la investigación y el manejo de la resistencia a fungicidas la “línea base” se puede definir como: un perfil de la sensibilidad del hongo objetivo al fungicida construido mediante el uso de técnicas biológicas o biológicas moleculares para evaluar la respuesta de individuos o poblaciones fúngicas previamente no expuestos al fungicida (Russell, 2004).

La línea base, es una herramienta para el establecimiento y seguimiento de las estrategias de manejo de resistencia a fungicidas. El término línea base se aplica universalmente a nuevas moléculas químicas de fungicidas. De manera práctica, la línea base establece un punto de referencia para la sensibilidad aceptada del hongo a un fungicida. Aislamientos de hongos o poblaciones que se encuentran con un perfil de sensibilidad que cae fuera de la línea base obtenida, normalmente se consideran "menos sensibles" o "resistentes" al fungicida (Russell, 2004).

De acuerdo a Brent y Hollomon (1998), las tres principales razones para la realización de estudios de línea base son:

1. Para desarrollar y probar un método preciso, rápido y reproducible para la determinación del grado de sensibilidad de un gran número de muestras de hongos importantes en campo, y estar disponible para cualquier monitoreo futuro que pueda requerirse.
2. Para obtener los datos iniciales con respecto a la gama de sensibilidad que existe en los principales patógenos y las principales áreas de uso, sirviendo como una

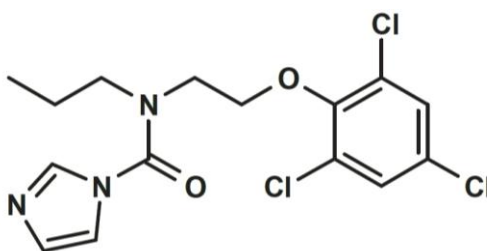


línea base contra la cual, cualquier medición futura se puede comparar, con el fin de revelar posibles cambios en la sensibilidad.

3. Para detectar las diferencias en la sensibilidad entre las muestras que podrían conducir a futuros problemas de resistencia.

## 2.4 Procloraz

El fungicida procloraz es un imidazol con nombre químico 1-[N-propil-N-2(2,4,6-triclorofenoxi) etil carbamoil] imidazole (Laignelet *et al.*, 1989), cuya estructura química se muestra en la Figura 1. Se ha incluido por su modo de acción, dentro de los inhibidores de la biosíntesis del esteroles en membranas fúngicas (SBI's), cuyo mecanismo de acción es inhibir la demetilación del C-14 del lanosterol para su paso a esteroles (DMI's) (FRAC, 2014), aunque sin descartar otros posibles sitios de acción (fungicidas multipuntuales) (Barbera, 1994).



**Figura 1.** Estructura química del procloraz (FRAC, 2014).

La resistencia a DMI's se conoce en varias especies de hongos por diversos mecanismos que incluyen mutaciones en el sitio de acción del gen *erg11/Cyp51*, por ejemplo: V136A, Y137F, A379G, I381V; promotor *Cyp51*; transportadores ABC y otros (FRAC, 2014).

El procloraz tiene propiedades erradicantes pero no sistémicas y es muy eficaz en el control de la antracnosis (Prior *et al.*, 1992; Kuo, 2001). En un estudio de laboratorio realizado por Kuo (2001) comparando datos de triadimenol con los obtenidos de procloraz, la línea base de *C. gloeosporioides* fue encontrada entre 6.57 y 67.20  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , mientras que para procloraz fue de 0.003 a 0.04  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Este resultado confirmó lo que Prior *et al.* (1992) indicaron, que los fungicidas triazoles son menos eficaces en el control de la antracnosis. Por otra parte, Zhang *et al.*, (2013), con el fin de encontrar fungicidas alternativos al carbendazim resistente a *C. gloeosporioides* de mango en la provincia de Hainan, China, probó la toxicidad de 23 fungicidas, encontrando que el procloraz era el más efectivo, con un valor medio de la  $\text{CE}_{50}$  de 0.04  $\text{mg L}^{-1}$ , siguiendo el difenoconazol, propiconazole, pyraclostrobin, flusilazol, flusilazol + famoxadona, tebuconazol, miclobutanil, diniconazole y valores de  $\text{CE}_{50}$  mayores de 14  $\text{mg L}^{-1}$ , polioxina, miclobutanil + kresosin-metil, triadimefon, iprodiona, triciclazol, mancozeb, entre otros.

Actualmente, no se ha reportado la resistencia de *C. gloeosporioides* a procloraz, solo existe una variación considerable en el nivel de susceptibilidad a este fungicida (Kuo, 2001; Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2003; Qin *et al.*, 2013; Martínez-Bolaños, 2012; Zhang *et al.*, 2013). La resistencia de *C. gloeosporioides* a procloraz es una clara posibilidad, basándose en que se ha reportado la resistencia a procloraz en otros hongos (Arauz, 2000). Un campo con altas aplicaciones de procloraz tiene mayores  $\text{CE}_{50}$  que otros con baja frecuencia de aplicación. Esto se observó en el primer reporte sobre la sensibilidad de la antracnosis del mango al fungicida procloraz en Taiwán. Estudios realizados por Kuo (2001) en Taiwán, en aislados de mango no expuestos a fungicidas DMI's, encontró

una sensibilidad base de la  $CE_{50}$  de  $0.015 \mu\text{g mL}^{-1}$ , que al compararla con aislados obtenidos de huertos de mango con 12 a 16 aplicaciones anuales de procloraz en campo durante 13 años, la  $CE_{50}$  fue de 0.0204 a  $0.1554 \mu\text{g mL}^{-1}$ , por lo que concluyó que no había señales de resistencia al fungicida.

Un aspecto de suma importancia a considerar es que el procloraz presenta un riesgo medio de inducción de resistencia en fitopatógenos, de acuerdo a la clasificación realizada por Brent y Hollomon (1998) (Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2003). Por otro lado, Fuchs y Drandarevski, (1976), mencionaron que, mutantes obtenidos en laboratorio de varios hongos que eran resistentes a fungicidas DMI habían reducido el crecimiento y la esporulación, y su patogenicidad fue en proporción inversa con el grado de resistencia. Por lo que, el desarrollo de resistencia a DMI en el campo ha sido leve (Brent y Hollomon, 1998). Debido a esto, los riesgos de adquisición de resistencia asociados a procloraz y a *C. gloeosporioides* son probables, ya que este fitopatógeno posee una extraordinaria capacidad de adaptación y elevada variabilidad genética (Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2003; Cruz-Hernández, 2013).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

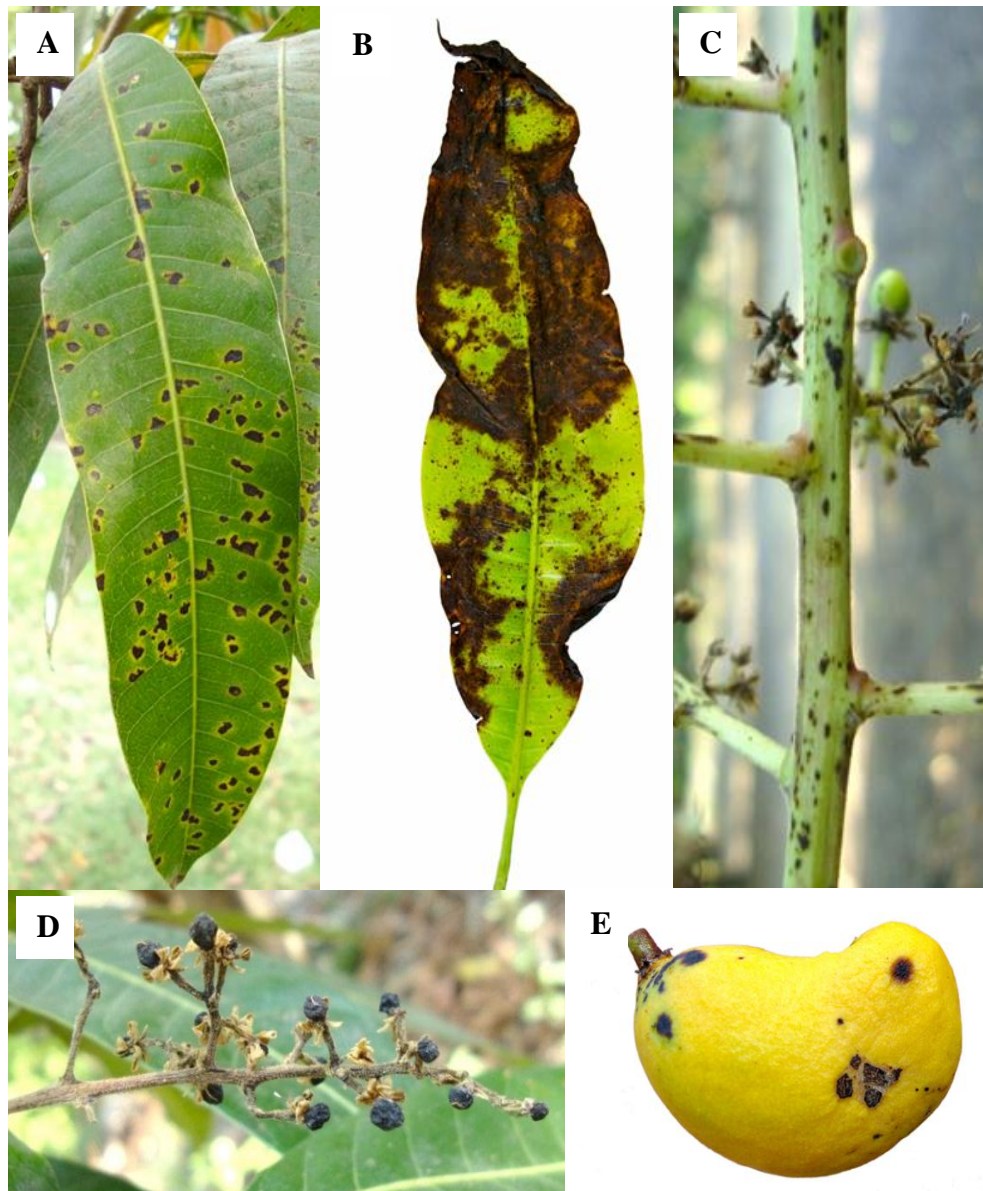
#### 3.1 Origen, purificación y conservación de los aislados

El material biológico utilizado durante el experimento fue proporcionado por colaboradores del proyecto SAGARPA-CONACYT, con clave 48595, por lo que el experimento consistió solo en evaluar la sensibilidad base de 101 aislados del complejo de *Colletotrichum gloeosporioides* (*C. dianesei*, *C. asianum*, *C. tropicale* y *C. ignotum*) al fungicida procloraz. Para la obtención de los aislados, un total de 101 muestras de tejido vegetal con síntomas de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) (Figura 2), fueron colectadas en diferentes huertos de mango de importancia comercial en México (Cuadro 3). Los cuales, posteriormente se aislaron, purificaron e identificaron mediante caracterización morfológica y análisis de secuencias *Apn2Mat* IGS. Mediante cultivos monospóricos se realizaron pruebas de patogenicidad que, una vez confirmadas, fueron conservados en tubos de criogenia más agua mineral o glicerina a -80°C para su posterior uso. La metodología usada fue descrita por Ríos-López (2011).

#### 3.2 Prueba de sensibilidad base a procloraz

##### 3.2.1 Fungicida

Para la realización de las pruebas *in vitro*, se empleó una formulación comercial de procloraz (SPORTAK<sup>®</sup> 45 CE, BAYER DE MÉXICO). El cual viene como concentrado emulsionable equivalente a 450 g. i. L<sup>-1</sup>. (450 000 mg L<sup>-1</sup>).



**Figura 2.** Partes vegetales de mango (*Mangifera indica* L.) con síntomas de antracnosis. (A) Manchas café oscuras con halo amarillo formadas en hojas jóvenes. (B) Síntomas iniciales de tizón de hojas. (C) Manchas necróticas ovales en ramita y necrosis de panículas. (D) Frutos recién formados presentando necrosis y momificación. (E) Manchas negras irregulares y hundidas desarrolladas en la superficie de un fruto maduro.

**Cuadro 3.** Fuentes de aislados del complejo de *Colletotrichum gloeosporioides* obtenidos en huertos de importancia comercial de Chiapas, Colima, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz, México.

<b>Sitio</b>	<b>Origen geográfico</b>	<b>Fecha de colecta</b>	<b>Variedad</b>	<b>Tejido</b>
CHI-1	Mazatán, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Hoja
CHI-2	Huehuetán, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Hoja
CHI-3	Huehuetán, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Fruto
CHI-4	Mazatán, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Hoja
CHI-5	Metapa de Domínguez, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Hoja
CHI-6	Tuxtla Chico, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Fruto
CHI-7	Frontera Hidalgo, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Hoja
CHI-8	Ciudad Hidalgo, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Tallo
CHI-9	Ciudad Hidalgo, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Fruto
CHI-10	Ciudad Hidalgo, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Fruto
CHI-11	Tapachula, Chiapas	Diciembre 2010	Tommy Atkins	Fruto
CHI-12	Tapachula, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Fruto
CHI-13	Tapachula, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Hoja
CHI-14	Villa Comaltitlán, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Hoja
CHI-15	Pijijiapan, Chiapas	Diciembre 2010	Manila	Fruto
CHI-16	Pijijiapan, Chiapas	Diciembre 2010	Manila	Fruto
CHI-17	Tonala, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Fruto
CHI-18	Mapastepec, Chiapas	Diciembre 2010	Manila	Tallo
CHI-19	Pijijiapan, Chiapas	Diciembre 2010	Manila	Hoja
CHI-20	Metapa de Domínguez, Chiapas	Diciembre 2010	Ataulfo	Tallo
COL-1	Cofradía de Juárez, Armería, Colima	Mayo 2012	Haden	Hoja
COL-2	Cofradía de Juárez, Armería, Colima	Mayo 2012	Haden	Hoja
COL-3	Cofradía de Juárez, Armería, Colima	Mayo 2012	Ataulfo	Hoja
COL-4	Cofradía de Juárez, Armería, Colima	Mayo 2012	Tommy Atkins	Hoja
COL-5	Cofradía de Juárez, Armería, Colima	Mayo 2012	Tommy Atkins	Hoja
GRO-2	Técpan de Galeana, Guerrero	Julio 2011	Haden	Hoja
GRO-4	Técpan de Galeana, Guerrero	Julio 2011	Haden	Hoja
GRO-5	Técpan de Galeana, Guerrero	Julio 2011	Haden	Hoja
GRO-8	Técpan de Galeana, Guerrero	Julio 2011	Tommy Atkins	Hoja
GRO-10	Técpan de Galeana, Guerrero	Julio 2011	Tommy Atkins	Hoja
GRO-12	Cuajinicuilapa, Guerrero	Julio 2011	Haden	Hoja
GRO-13	Cuajinicuilapa, Guerrero	Julio 2011	Tommy Atkins	Hoja
GRO-15	Arcelia, Guerrero	Julio 2011	Tommy Atkins	Hoja
GRO-16	Arcelia, Guerrero	Julio 2011	Haden	Hoja
GRO-18	Arcelia, Guerrero	Julio 2011	Haden	Hoja

MICH-2	Parácuaro, Michoacán	Mayo 2011	Haden	Hoja
MICH-3	Parácuaro, Michoacán	Mayo 2011	Haden	Hoja
MICH-6	Parácuaro, Michoacán	Mayo 2011	Tommy Atkins	Hoja
MICH-7	Apatzingán, Michoacán	Mayo 2011	Haden	Hoja
MICH-8	Nueva Italia, Michoacán	Mayo 2011	Tommy Atkins	Hoja
MICH-9	Nueva Italia, Michoacán	Mayo 2011	Tommy Atkins	Hoja
MICH-10	Nueva Italia, Michoacán	Mayo 2011	Tommy Atkins	Hoja
MICH-11	Nuevo Urecho, Michoacán	Mayo 2011	Tommy Atkins	Hoja
MICH-14	Nuevo Urecho, Michoacán	Mayo 2011	Haden	Hoja
MICH-15	Nuevo Urecho, Michoacán	Mayo 2011	Haden	Hoja
NAY-1	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-2	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
NAY-3	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
NAY-4	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-6	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-7	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
NAY-8	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-9	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
NAY-10	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-11	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-12	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-13	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-14	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-15	Tepic, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-16	San Blas, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-17	San Blas, Nayarit	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
NAY-18	San Blas, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-19	San Blas, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-20	San Blas, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-21	San Blas, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
NAY-22	San Blas, Nayarit	Agosto 2012	Ataulfo	Hoja
OAX-2	Santo Domingo Zanatepec, Oaxaca	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
OAX-3	Santo Domingo Zanatepec, Oaxaca	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
OAX-4	Santo Domingo Zanatepec, Oaxaca	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
OAX-5	Santo Domingo Zanatepec, Oaxaca	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
OAX-6	Santo Domingo Zanatepec, Oaxaca	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
OAX-9	Santo Domingo Zanatepec, Oaxaca	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
OAX-12	Santo Domingo Zanatepec, Oaxaca	Agosto 2012	Tommy Atkins	Hoja
OAX-13	Santa María Jalapa de Marqués, Oaxaca	Abril 2012	Ataulfo	Hoja
SIN-1	Ahome, Sinaloa	Abril 2011	Kent	Hoja
SIN-2	Ahome, Sinaloa	Abril 2011	Kent	Hoja

SIN-3	Ahome, Sinaloa	Abril 2011	Kent	Hoja
SIN-4	Ahome, Sinaloa	Abril 2011	Kent	Hoja
SIN-5	Ahome, Sinaloa	Abril 2011	Kent	Hoja
SIN-13	Ahome, Sinaloa	Abril 2011	Keitt	Hoja
SIN-14	Ahome, Sinaloa	Abril 2012	Keitt	Hoja
SIN-16	Ahome, Sinaloa	Abril 2012	Kent	Hoja
SIN-17	Ahome, Sinaloa	Abril 2012	Kent	Hoja
SIN-18	Ahome, Sinaloa	Abril 2012	Keitt	Hoja
SIN-19	Ahome, Sinaloa	Abril 2012	Keitt	Hoja
SIN-20	Ahome, Sinaloa	Abril 2012	Keitt	Hoja
SIN-22	Ahome, Sinaloa	Abril 2012	Kent	Hoja
SIN-23	Ahome, Sinaloa	Abril 2012	Keitt	Hoja
SIN-24	Ahome, Sinaloa	Abril 2012	Keitt	Hoja
VER-1	Puente Nacional, Veracruz	Marzo 2011	Tommy Atkins	Hoja
VER-2	Puente Nacional, Veracruz	Marzo 2011	Manila	Hoja
VER-3	Actopan, Veracruz	Marzo 2011	Manila	Hoja
VER-4	Actopan, Veracruz	Marzo 2011	Manila	Hoja
VER-5	Actopan, Veracruz	Marzo 2011	Manila	Hoja
VER-6	Jamapa, Veracruz	Marzo 2011	Manila	Tallo
VER-7	Tierra Blanca, Veracruz	Marzo 2011	Tommy Atkins	Tallo
VER-8	Tierra blanca, Veracruz	Marzo 2011	Manila	Hoja
VER-9	Tierra blanca, Veracruz	Marzo 2011	Manila	Tallo
VER-10	Tierra blanca, Veracruz	Marzo 2011	Manila	Hoja
VER-11	Jesús Carranza, Veracruz	Abril 2012	Manila	Hoja
VER-12	Jesús Carranza, Veracruz	Abril 2012	Manila	Hoja

### 3.2.2 Inhibición del crecimiento micelial

Los 101 aislados conservados en criogenia se reactivaron. Masas conidiales, guardadas previamente en tubos de criogenia, se cultivaron en medio PDA (DIFCO, Francia) en oscuridad a 28°C por 7 días. De cada aislado, con ayuda de un sacabocado estéril, se tomaron discos miceliales de 5 mm de diámetro a partir del margen de la colonia y se transfirieron individualmente a cajas Petri (90 mm de diámetro) conteniendo PDA con procloraz. Diferentes concentraciones de procloraz fueron utilizadas; un volumen



apropiado de cada solución madre fue añadido a cada matraz con medio PDA, fundido entre 45 a 50°C para obtener el rango final de concentraciones, las cuales fueron: 0, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 y 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Para cada una de las 8 concentraciones se usaron tres repeticiones. Cada prueba por aislado consistió de 24 cajas Petri. Las cajas fueron incubadas en oscuridad a 28°C y el diámetro del crecimiento micelial se midió al momento en que el crecimiento del testigo (PDA sin fungicida) llenó la caja Petri, lo cual, sucedió por lo general en seis días. Las mediciones se hicieron en forma de cruz (dos por caja) y se sacó un promedio entre ellas. El experimento completo se realizó dos veces.

### **3.2.3 Análisis estadístico**

En cada concentración se calculó la inhibición del crecimiento micelial en porcentaje respecto al crecimiento micelial de la colonia en el tratamiento control (PDA sin fungicida). Los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial se convirtieron a valores Probit y se trazaron contra los valores de  $\log_{10}$  de la concentración del fungicida. Con base en un análisis de regresión Probit, se calcularon los valores de las concentraciones efectivas que inhiben el 50% del crecimiento micelial ( $CE_{50}$ ) usando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, version 9.1.3 SAS Institute Inc. 2007).

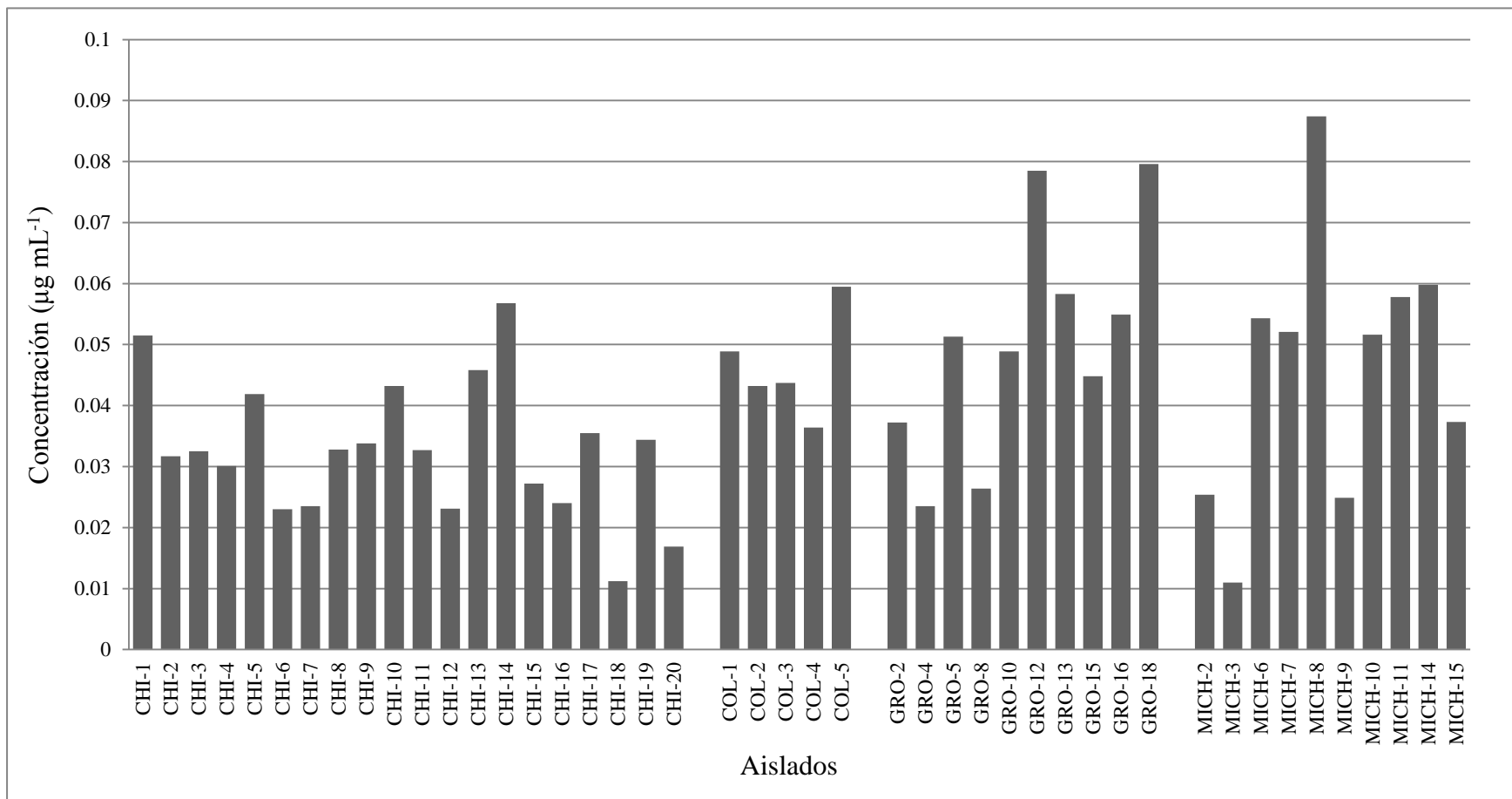
## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Prueba de sensibilidad a procloraz

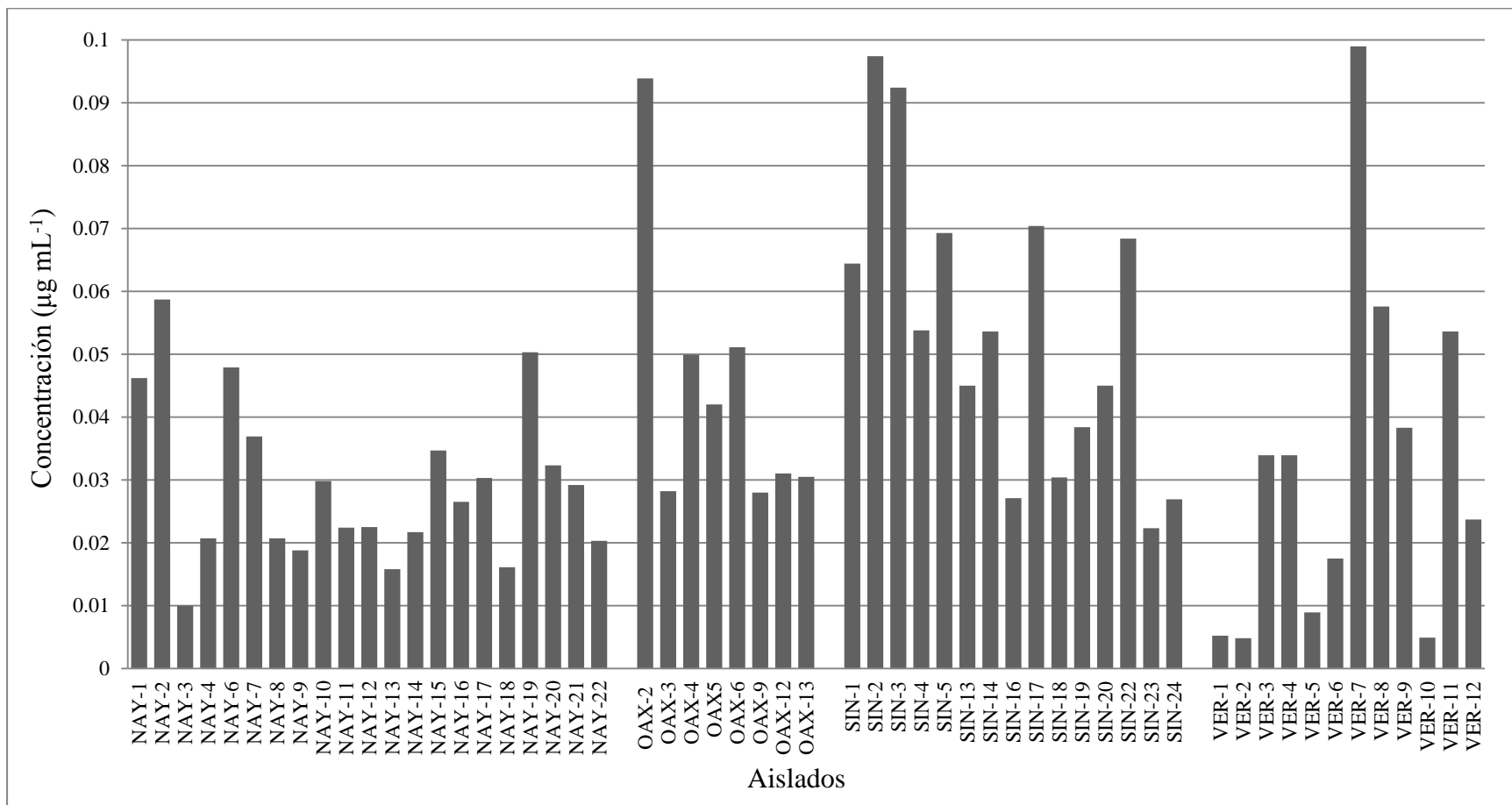
Todos los aislados del complejo de *Colletotrichum gloeosporioides* fueron sensibles a procloraz, Se encontraron pocas diferencias de sensibilidad entre los aislados (Figuras 3 y 4). El rango de valores de la concentración efectiva que inhibe el 50% del crecimiento micelial ( $CE_{50}$ ) fluctuó entre 0.0048 a 0.0990  $\mu\text{g mL}^{-1}$  con un promedio de 0.0396  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , siendo el estado de Veracruz el que presentó el valor más bajo y alto de las concentraciones efectivas (Cuadro 4). Estos valores son muy parecidos a los obtenidos por Kuo (2001) y Zhang *et al.* (2013) en aislados de *C. gloeosporioides* de mango, y a los de Freeman *et al.* (1997) en aislados de *C. acutatum* de fresa. Valores un poco más elevados fueron determinados por Martínez-Bolaños (2012), en aislados de *C. gloeosporioides* de litchi. Un estudio *in vitro* realizado por Kuo (2001), en donde también se midió la inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* obtenidos de mango en Taiwán, mostró que, en aislados de huertos donde no se ha aplicado procloraz, la línea base de la sensibilidad estuvo en el rango de la  $CE_{50}$  de 0.003 a 0.038  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , a los cuales los categorizó como sensibles. Mientras tanto, en aislados donde la aplicación de procloraz en campo es frecuente, el rango de la  $CE_{50}$  fue de 0.020 a 0.155  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Valores similares fueron reportados por Zhang *et al.* (2013), los cuales obtuvieron un valor medio de la  $CE_{50}$  de 0.04  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de procloraz. Entre tanto, Qin *et al.*, (2013) encontraron valores más elevados donde la  $CE_{50}$  varió de 0.0244 a 0.2572  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , con una media de 0.0916  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , sobre la tasa de crecimiento micelial. Valores muy similares a los obtenidos se reportaron en *C. acutatum* causante de la antracnosis de la fresa en California, EE.UU. Freeman *et al.* (1997) determinaron valores de la  $CE_{50}$  a

las formulaciones de los fungicidas procloraz-Zn/Folpet, procloraz-Zn y procloraz-Mn, con un valor medio de 0.053, 0.077 y 0.054  $\mu\text{g mL}^{-1}$  respectivamente.

Pocos estudios de sensibilidad a procloraz en aislados de *Colletotrichum* han sido realizados en México y la mayoría se han enfocado a la inhibición de la germinación de conidios. Valores muy bajos de la  $\text{CE}_{50}$  fueron reportados por Zavala-León *et al.*, (2005) en *C. gloeosporioides*, agente causal de la antracnosis de la papaya en Yucatán, donde el valor de la  $\text{CE}_{50}$  fue de 0.0002  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , además, evaluaron la inhibición de la germinación de conidios, reportando una  $\text{CE}_{50}$  de 1.163  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , estos valores no están muy claros, debido a que en sus resultados confunden  $\mu\text{g mL}^{-1}$  con  $\text{mg mL}^{-1}$ . Por otro lado, valores un tanto elevados fueron determinados por Martínez-Bolaños (2012), en *C. gloeosporioides*, agente causal de la antracnosis del litchi en Oaxaca, donde el rango de la  $\text{CE}_{50}$  fue de 0.065 a 0.136  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , con una media de 0.094  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , valor medio muy parecido al reportado por Qin *et al.*, (2013). Mientras tanto, la  $\text{CE}_{50}$  para la inhibición de la germinación de conidios, fue de 20.88  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Cabe mencionar que en el estudio realizado por Gutiérrez-Alonso *et al.* (2003), donde determinaron la  $\text{CE}_{50}$  de procloraz necesaria para la inhibición de la germinación de conidios de *C. gloeosporioides* aislados de mango en huertos de Chiapas, Guerrero, Michoacán, Sinaloa y Veracruz, obtuvieron un rango de 0.08 a 21.48  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , lo que mostró una marcada diferencia entre los estados. Sin embargo, la efectividad del procloraz pudo haber sido afectada durante la incubación de sus aislados, por la luz fluorescente continua a la que fueron sometidos.



**Figura 3.** Valores de CE<sub>50</sub> (μg mL<sup>-1</sup>) de procloraz en aislados del complejo de *Colletotrichum gloeosporioides* procedentes de huertos de mango en Chiapas, Colima, Guerrero y Michoacán, México.



**Figura 4.** Valores de  $CE_{50}$  ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de procloraz en aislados del complejo de *Colletotrichum gloeosporioides* procedentes de huertos de mango en Nayarit, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz, México.

El estado de Nayarit presentó en promedio el menor valor de la  $CE_{50}$  en sus aislados, el cual fue de  $0.029 \mu\text{g mL}^{-1}$ , seguido por Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Michoacán, Colima, Guerrero y, el mayor valor presentado, Sinaloa  $0.053 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Cuadro 4). Estos valores de la  $CE_{50}$ , se consideran como la sensibilidad base presente por estado, debido a que no se ha reportado el uso de procloraz en México para el control de la antracnosis del mango en campo, solo se ha usado para el control postcosecha de la antracnosis en plátano, papaya, mango y otras frutas tropicales y subtropicales (Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2003; López-Navarrete, 2010; Martínez-Bolaños, 2012).

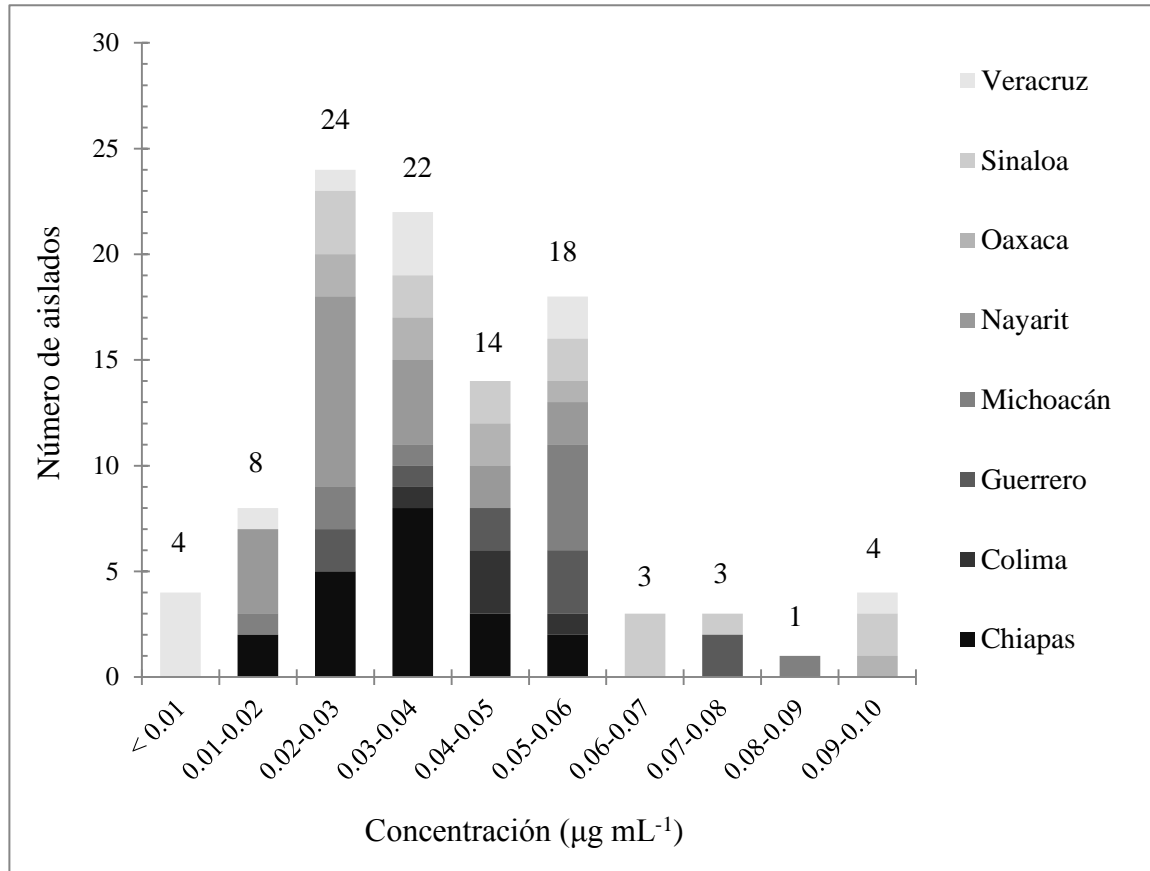
**Cuadro 4.** Concentración efectiva de procloraz que inhibe el 50% del crecimiento micelial ( $CE_{50}$ ) de aislados del complejo de *Colletotrichum gloeosporioides* de mango colectados en Chiapas, Colima, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz, México.

Estado	$CE_{50} (\mu\text{g mL}^{-1})$			
	Valor más bajo	Valor más alto	Diferencia	Promedio
Chiapas	0.0112	0.0568	0.0456	0.0325
Colima	0.0364	0.0595	0.0231	0.0463
Guerrero	0.0235	0.0796	0.0561	0.0503
Michoacán	0.0110	0.0874	0.0764	0.0461
Nayarit	0.0100	0.0587	0.0487	0.0291
Oaxaca	0.0280	0.0939	0.0659	0.0443
Sinaloa	0.0223	0.0974	0.0751	0.0536
Veracruz	0.0048	0.0990	0.0942	0.0374
Promedio general:				0.0396

El 76% del total de los aislados presentaron valores de  $CE_{50}$  con rango de 0.02 a 0.06  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Figura 5), con un valor medio de 0.04  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , lo cual coincide con el valor medio reportado por Zhang *et al.* (2013). Estos aislados pertenecen principalmente a Chiapas y Nayarit, con 18 y 17 aislados, respectivamente. Por otra parte, descartando el rango de valores medios (0.02 a 0.06  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), aislados con valor de  $CE_{50} < 0.02 \mu\text{g mL}^{-1}$ , pueden ser considerados como altamente sensibles a procloraz. Estos, 12 aislados (VER-2, VER-10, VER-1, VER-5 y VER-6, NAY-3, NAY-13, NAY-18 y NAY-9, CHI-18 y CHI-20 y MICH-3) entran en este rango, los cuales representan el 11% del total de la población evaluada. Sin embargo, de acuerdo a Kuo (2001), se pueden considerar como aislados sensibles aquellos que presentan valores de  $CE_{50}$  menores a 0.038  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , en este estudio 56 de los 101 aislados presentaron estos valores, lo cual representa el 55% del total, encontrándose 17 aislados en Nayarit, 15 en Chiapas, 8 en Veracruz, 4 en Sinaloa, 4 en Oaxaca, 4 en Michoacán, 3 en Guerrero y 1 en Colima (Figura 5).

El 13% de los aislados, presentaron un valor de  $CE_{50} > 0.06 \mu\text{g mL}^{-1}$ . El aislado con el valor de  $CE_{50}$  más alto fue VER-7 (0.099  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), el cual pertenece al huerto comercial de mango con la variedad Tommy Atkins ubicado en Tierra Blanca, Veracruz, seguido de los aislados SIN-2 (0.0974  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), OAX-2 (0.094  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) y SIN-3 (0.92  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Después, con valores menores a 0.08  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , están 4 aislados de Sinaloa, 2 de Guerrero y 1 de Michoacán (Figuras 3, 4 y 5). Resultados similares fueron obtenidos por Gutiérrez-Alonso *et al.* (2003), en donde, un aislado de Veracruz y otro de Sinaloa presentaron los valores más altos de  $CE_{50}$ , en comparación con los aislados de Chiapas, Guerrero y Michoacán. En Oaxaca, Martínez-Bolaños (2012), también observó que aislados de *C. gloeosporioides* de litchi fueron altamente sensibles a procloraz,

encontrando valores de la  $CE_{50}$  de hasta  $0.136 \mu\text{g mL}^{-1}$ , al evaluar la inhibición del crecimiento micelial.



**Figura 5.** Número de aislados del complejo de *Colletotrichum gloeosporioides* correspondientes a los diferentes valores de  $CE_{50}$  ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de procloraz procedentes de huertos de mango en Chiapas, Colima, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz, México.

Se encontraron pocas diferencias de sensibilidad entre los 101 aislados al fungicida procloraz (Figuras 3 y 4). Aunque no se obtuvieron valores de la  $CE_{50}$  altos, como en otros estudios, el aislado VER-7 ( $0.09 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) comparando con aislados del mismo estado VER-1, VER-2, VER-5, y VER-10, que tuvieron valores de la  $CE_{50}$  menores a



0.009  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Figura 4), presenta una diferencia de 0.08  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , la cual es 10 veces mayor. Diferencias similares entre aislados de *C. gloeosporioides* mango de la provincia de Guangxi, China, fueron reportadas por Qin *et al.* (2013), siendo el valor más alto de la  $\text{CE}_{50}$  10.5 veces mayor al valor más bajo. Varios estudios concluyen que existe una variación considerable en el nivel de sensibilidad al fungicida procloraz entre aislados del complejo *C. gloeosporioides* obtenidos del mango, sin reportar la resistencia de *C. gloeosporioides* a procloraz (Kuo, 2001; Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2003; Qin *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013). Esta variación de sensibilidad puede deberse a que este fitopatógeno posee una extraordinaria capacidad de adaptación y elevada variabilidad genética (Gutiérrez, *et al.*, 2003; Cruz- Hernández, 2013).

Debido a que los 101 aislados del complejo *C. gloeosporioides* fueron sensibles al fungicida procloraz, se recomienda su uso para el control de la antracnosis del mango en postcosecha en México, tal como lo mencionaron Gutiérrez-Alonso *et al.*, (2003). Además, al igual que en otras partes del mundo (Kuo, 2001), el uso de procloraz en México representa una alternativa eficaz para el manejo de la antracnosis del mango en campo. AgroIsleña (1996), señaló que el procloraz es un fungicida eficaz para el control del hongo causante de la antracnosis debido a que actúa como protector y erradicante, matando el hongo por contacto, por lo cual se puede emplear para el control de la enfermedad en campo y formar parte de una alternativa válida en el control integrado de la antracnosis del mango (Rondon *et al.*, 2006).

El procloraz es el único fungicida registrado para su uso en mango en postcosecha en la Unión Europea (Arauz, 2000), sin embargo, para el mercado de EE.UU. no ha sido aprobado (Ploetz y Freeman, 2009). Al igual que, en otras frutas como el plátano,

papaya y limón, el procloraz puede usarse para el control de la antracnosis del mango en postcosecha en México (Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2003; López-Navarrete, 2010; Martínez-Bolaños, 2012), debido a que el 83% de la producción nacional de mango es para consumo interno (FAOSTAT, 2014), además de que su uso está aprobado en México (SAGARPA, 2014).

## V. CONCLUSIONES

- Los 101 aislados pertenecientes al complejo *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis del mango en México, presentaron valores de CE<sub>50</sub> a procloraz que variaron de 0.0048 a 0.099  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , lo que indicó, alta sensibilidad del patógeno a este fungicida.
- Se sugiere la aplicación de este fungicida en condiciones de campo en México, tal y como se ha usado en otras partes del mundo.
- El procloraz puede ser usado para el control de la antracnosis como tratamiento postcosecha en frutos de mango producidos en México.

## VI. LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2013. Fitopatología. 2ª. Edición, México. Editorial Limusa. 856 p.
- AGROISLEÑA C.A. Editorial. 1996. Productos Agroquímicos. X edición. Caracas. 4 p.
- Arauz-Cavallini, L.F. 1998. Fitopatología: un enfoque agroecológico. Editorial de la universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 467 p.
- Arauz, L.F. 2000. Mango anthracnose: Economic impact and current options for integrated management. The American Phytopathological Society. Plant Disease. 84: 600-611.
- Bally, I.S.E. 2009. Crop Production: Mineral Nutrition. *In*: The Mango: Botany, Production and Uses. Litz, R.E. (ed.). CABI (Ed.). 2<sup>nd</sup> Edition. pp: 405-431.
- Barbera, C. 1994. Principales grupos de fungicidas. Mecanismos de acción. Phytoma España. 62: 7-10.
- Brent, K.J., and Hollomon, D.W. 1998. Fungicide resistance: The assessment of risk. Global Crop Protection Federation. Global Crop Protection Federation and Fungicide Resistance Action Committee. Monograph No. 2. Printed in the United Kingdom. 48 p.
- Brent, K.J. 1999. Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed?. Global Protection Federation and Fungicide Resistance Action Committee. Monograph No. 1. Printed in the United Kingdom. 49 p.
- Campbell, R.J. 1992. A Guide to Mangoes in Florida. Fairchild Tropical Garden, Miami, Florida. 151 p.

Cruz-Hernández, M. A. 2013. Variabilidad genética de *Colletotrichum* spp. aislado de frutos tropicales mediante el uso de marcadores moleculares RAPD. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Recursos Genéticos y Productividad-Fruticultura. Colegio de Posgraduados, Montecillos, México. 248 p.

De Villiers, E. E., and Korsten, L. 1996. Alternative strategies to control mango fruit diseases. South African Mango Grower's Association Yearbook 16: 61-64.

Dodd, J.C., Prusky, D., and Jeffries, P. 1997. Fruit diseases. *In*: The Mango: Botany, Production and Uses. Litz, R.E. (ed.). CABI (Ed.). 587 p.

Droby, S., Prusky, D., Jacoby, B., and Goldman, A. 1986. Presence of an antifungal compound and its relation in the latency of *Alternaria alternata* in unripe peel of mango fruits. Physiological and Molecular Plant Pathology 29: 173-183.

Estrada, A.B., Jeffries, P., and Dodd, J.C. 1996. Field evaluation of a predictive model to control anthracnose disease of mango in the Philippines. Plant Pathology 45: 294-301.

FAO. 1997. FAO/WHO Pesticide Database. On-line.

FAOSTAT. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Consultado el 10 de Octubre de 2014.

FRAC Code List. 2014: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). On-line.

Freeman, S., Nizani, Y., Dotan, S., Even, S., and Sando, T. 1997. Control of *Colletotrichum acutatum* in strawberry under laboratory, greenhouse, and field conditions. *Plant Disease* 81: 749-752.

Freeman, S., Katan, T. and Shabi, E. 1998. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease* 82: 596-605.

Fuchs, A., and Drandarevski, C.A. 1976. The likelihood of development of resistance to systemic fungicides which inhibit ergosterol biosynthesis. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 82: 85-87.

Galán-Saúco, V. 1999. El cultivo del mango. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Barcelona, México. Coedición Gobierno de Canarias. 298 p.

Guillén-Sánchez, D., Téliz-Ortíz, D., Mora-Aguilera, G., Mora-Aguilera, A., Sánchez-García, P. y González-Hernández, V. 2003. Desarrollo temporal de epidemias de cenicilla (*Oidium mangiferae* Berthet) en huertos de mango (*Mangifera indica* L.) en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 181-188.

Gutiérrez-Alonso, J.G., Gutiérrez-Alonso, O., Nieto-Ángel, D., Téliz-Ortiz, D., Zavaleta Mejía, E., Delgadillo-Sánchez, F. y Vaquera-Huerta, H. 2003. Evaluación de resistencia a imazalil, procloraz y azoxystrobin en aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y control de la antracnosis en mango. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 379-383.

Hofman, P.J., Smith, L.G., Joyce, D.C., Johnson, G.I. and Meiburg, G.F. 1997. Bagging of mango (*Mangifera indica* cv. 'Keitt') fruit influences fruit quality and mineral composition. *Postharvest Biology and Technology* 12: 83-91.

Jeffries, P. and Koomen, I. 1992. Strategies and prospects for biological control of diseases caused by *Colletotrichum*. *In: Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Bailey, J.A. and Jeger, M.J. (Eds.). CAB International, Wallingford, UK. pp: 337-357.

Johnson, G.I., and Hofman, P.J. 2009. Postharvest Technology and Quarantine Treatments. *In: The Mango: Botany, Production and Uses*. Litz, R.E. (ed.). CABI (Ed.). 2<sup>nd</sup> Edition. pp: 529-605.

Kefialew, Y., and Ayalew, A. 2008. Postharvest biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango (*Mangifera indica*). *Postharvest Biology and Technology* 50: 8-11.

Knight, R.J.Jr, Campbell, R.J. and Maguire, I. 2009. Important Mango Cultivars and their Descriptors. *In: The Mango: Botany, Production and Uses*. Litz, R.E. (ed.). CABI (Ed.). 2<sup>nd</sup> Edition. pp: 43-66.

Koomen, I., and Jeffries, P. 1993. Effects of antagonistic microorganisms on the post-harvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* on mango. *Plant Pathology* 42: 230-237.

Korsten, L. 2004. Biological control in South Africa: can it provide a sustainable solution for control of fruit diseases? *South African Journal of Botany* 70: 128-139.

Korsten, L., Lonsdale, J.H., De Villiers, E.E., and De Jager, E.S. 1992. Pre-harvest control of mango diseases. South African Mango Growers Association Yearbook 12: 72-78.

Kuo, K.C. 2001. Sensitivity of mango anthracnose pathogen, *Colletotrichum gloeosporioides*, to the fungicide prochloraz in Taiwan. Proc. Natl. Sci. Council. ROC(B) 25(3): 174-179.

Laignelet, L., Narbonne, J.F., Lhuguenot, J.C., and Riviere, J.L. 1989. Toxicology 59(3): 271-284.

Lima, N.B., Batista, M.V.A, De Morais Jr., M.A., Barbosa, M.A.G., Michereff, S.J., Hyde, K.D., and Camara, M.P.S. 2013. Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in north eastern Brazil. Fungal Diversity 61: 75-88.

Litz, R.E. Gómez-Lim, M.A. and Lavi, U. 2009. Biotechnology. *In: The Mango: Botany, Production and Uses*. Litz, R.E. (ed.). CABI (Ed.). 2<sup>nd</sup> Edition. pp: 641-669.

López-Navarrete, M. C. 2010. Tratamientos postcosecha en el control de la antracnosis y calidad de frutos de papaya “maradol”. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Recursos Genéticos y Productividad-Fruticultura. Colegio de Posgraduados, Montecillos, México. 89 p.

Martínez-Bolaños, M. 2012. Antracnosis del fruto del litchi (*Litchi chinensis* Soon.): etiología y control *in vitro*. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Fitosanidad Fitopatología. Colegio de Posgraduados, Montecillos, México. 60 p.



Mc Millan, R.T. 1984. Control of mango anthracnose with foliar sprays. *Proceeding of the Florida State Horticulture Society* 97: 344-345.

McMillan, R.T. 1987. Effectiveness of various postharvest treatments for mango decay control. *Proceedings of the Florida State. Horticultural Society* 100:7-9.

Mora-Aguilera, A., Téliz-Ortiz, D. y Recouças-São, J. 2002. El mango, manejo y comercialización. Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas (México) y Universidad de Estadual do Sudoeste da Bahía (Brasil). 239 p.

Mora-Aguilera, J. A., Vega, P. A. y D. Téliz- Ortiz. 1998. Enfermedades del Mango. *In: El mango y su manejo integrado en Michoacán*. Téliz, D. (ed.). Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. pp: 18-44.

Mukherjee, S.K., and Litz, R.E. 2009. Crop Production: Mineral Nutrition. *In: The Mango: Botany, Production and Uses*. Litz, R.E. (ed.). CABI (Ed.). 2<sup>nd</sup> Edition. pp: 405-431.

Noiaium, S. and Soyong, K. 1999. Integrated biological control of Mango CV. Choakanon. *In: Proceedings of the Sixth International Mango Symposium, Pattaya*. pp: 1-13.

Núñez-Elisea, R. 1985. Flowering and fruit set of a monembryonic and a polyembryonic mango as influenced by potassium nitrate sprays and shoot decapitation. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 98: 179-183.

Núñez-Elisea, R., Davenport, T.L. and Caldeira, M.L. 1993. Bud initiation and morphogenesis in 'Tommy Atkins' mango as affected by temperature and triazole growth retardants. *Acta Horticulturae* 341: 192-198.

Pandey, A., Yadava, L.P., Kumar, R. M., Kumar, B. P., Muthukumar M., and Kumari, U. C. 2012. Studies on the incident and pathogenesis of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. causes anthracnose of mango. *International Journal of Science & Nature* 3(2): 220-232

Ploetz, R.C. and Freeman, S. 2009. Foliar, Floral and Soilborne Diseases. *In: The Mango: Botany, Production and Uses*. Litz, R.E. (ed.). CABI (Ed.). 2<sup>nd</sup> Edition. pp: 232-302.

Ploetz, R. C., Zentmyer, G. A., Nishijima, W. T., Rohrbach K. G., and Ohr, H. D. 1998. Compendium of tropical fruit diseases. The American Phytopathological Society (APS) Press. Second printing. 88 p.

Prakash, O. 2004. Diseases and disorders of mango and their management. *In: Diseases of Fruits and Vegetables. Volume I. Diagnosis and Management*. Naqvi, S.A.M.H. (ed.). Kluwer Academic Publishers, the Netherlands (Ed.). pp: 511-619.

Prior, C., Elango, F., and Whitwell, A. 1992. Chemical control of *Colletotrichum* infection in mangoes. *In: Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Bailey, J.A., and Jeger, M.J. (eds.). CABI (Ed.). pp: 326-336.

Prusky, D., and Keen, N.T. 1993. Involvement of preformed antifungal compounds in the resistance of subtropical fruits to fungal decay. *Plant Disease* 77: 114-119.

Prusky, D., Freeman, S., Rodriguez, R. J., and Keen, N. T. 1993. A nonpathogenic mutant strain of *Colletotrichum magna* induces resistance to *C. gloeosporioides* in avocado fruits. *Mol. Plant-Microbe Interact* 7(3): 326-333.

Prusky, D., Kobilier, I., Miyara, I. and Alkan N. 2009. Fruit Diseases. *In: The Mango: Botany, Production and Uses*. Litz, R.E. (ed.). CABI (Ed.). 2<sup>nd</sup> Edition. pp: 210-230.

Qin, L-P., Shi G-Y.; Xie, L.; Wang, C-Q., Ren, H., Cen, Z-L., Hu, Ch-J., and Mo, J-Y. 2013. Sensitivity detection of anthracnose pathogen in mango to prochloraz. *Journal of Southern Agriculture* 44(4): 594-597.

Ríos-López, E.G. 2011. Caracterización fenotípica y sensibilidad a benomyl en aislados de *Colletotrichum gloeosporioides* de mango (*Mangifera indica* L.) de Chiapas, Veracruz y Sinaloa, México. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el título de: Ingeniero agrónomo especialista en parasitología agrícola. Chapingo, México. 59 pp.

Rojas-Martínez, R. I., Zavaleta-Mejía, E., Nieto-Ángel, D. y Acosta-Ramos, M. 2008. Virulence and Genetic Variation of isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. in Mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden. *Revista Mexicana de Fitopatología* 26(1): 21-26.

Rondón, O., Sanabría-de Albarracín, N. y Rondón, A. 2006. Respuesta *in vitro* a la acción de fungicidas para el control de antracnosis, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, en frutos de mango. *Agronomía Tropical* 56(2): 219-235.

Russell, P.E. 2004. Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management. FRAC Monograph No. 3. 56 p. Available at: [www.frac.info](http://www.frac.info).

SAGARPA, 2014. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST). Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Glosario/Paginas/CICOPLAFEST.aspx>

Saaiman, W.C. 1996. Short wave infra-red radiation as an alternative to the hot water bath to control postharvest decay in mangoes. *Acta Horticulturae* 455: 773-779.

SIAP, 2014. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>. Consultado el 10 de Octubre de 2014.

Sutton, B. C. 1992. The Genus *Glomerella* and its Anamorph *Colletotrichum*. In: *Colletotrichum* biology, pathology and control. Bailey, J. A., and Jeger, M. J. (eds.). CABI (Ed.). pp: 1-26.

Swart, S.H., Serfontein, J.J., Swart, G., and Labuschagne C. 2009. Chemical control of post-harvest diseases of mango: the effect of fludioxonil and prochloraz on soft brown rot, stem-end rot and anthracnose. In: VIII<sup>th</sup> Int. Mango Symposium. Oosthuysen, S.A. (ed). *Acta Hort.* 820. pp: 503-510.

Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martins, J., and Oliveira, H. 2002. Genetic and morphological characterisation of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins. *Phytopathology* 92: 986-996.

U.S. Environmental Protection Agency. 1999. EPA Pesticide Tolerance Index. On-line.

Zavala-León, M. J., Tun-Suárez, J. M., Cristóbal-Alejo, J., Ruiz-Sánchez, E., Gutiérrez-Alonso, O., Vázquez-Calderón, M. y Méndez-González, R. 2005. Control postcosecha de la antracnosis en papaya y sensibilidad de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. a fungicidas organosintéticos. Revista Chapingo Serie Horticultura 11(2): 251-255.

Zhang, L.H., Li, M. Gao, Z.Y., Zhang, Z.K, Yang, F.Z., Xie, Y.X., Hu, M.J., and Yang, Y. 2013. Screening and Cross-Resistance Analysis of Alternative Fungicides against Carbendazim-Resistant *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. from Mango (*Mangifera indica* L.). In: IX<sup>th</sup> Intl. Mango Symposium. Acta Hort. 992. pp: 415-422.