



Evaluación de la tolerancia a *Monilia* en cultivares de melocotonero

El melocotonero [*Prunus persica* (L.) Batch] pertenece a la familia *Rosaceae*, subgénero *Amygdalus* y género *Prunus*. Dentro de la familia de las Rosáceas, en el año 2011 fue la tercera especie frutal en importancia a nivel mundial, en términos de producción, por detrás del manzano (75,5 · 10⁶ t). La producción mundial de melocotonero ese año fue de 21,5 · 10⁶ toneladas en una superficie cultivada de 1,57 · 10⁶ hectáreas (Faostat, 2013).

R. Giménez, V.I. Obi, M.A. Moreno y Y. Gogorcena (Estación Experimental de Aula Dei-CSIC)

J.J. Barriuso (Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón)

E. Floris (Escuela Politécnica Superior de Huesca)

En España, el melocotonero fue la segunda especie más cultivada dentro de los frutales de hueso (81.400 ha) después del almendro (536.000 ha), aunque la producción anual de melocotonero (1.336.000 t) fue mucho mayor que la del almendro (212.000 t) (Figura 1) (Faostat, 2013). Las principales zonas de cultivo en España se localizan principalmente en las regiones del arco mediterráneo, siendo Cataluña, Murcia y Aragón las zonas más importantes en los últimos 20 años (MAGRAMA, 2013).

Una de las enfermedades más importantes en melocotonero, la podredumbre parda, moniliosis, o *brown rot*, está acusada causada por cuatro especies fúngicas del género *Monilinia* spp (Petróczy et al., 2012): *M. laxa* (Aderhold & Ruhland) Honey, *M. fructigena* (Aderhold & Ruhland) Honey, *M. fructicola* (Winter) Honey y *M. polystroma* van Leeuwen. En España, la especie más extendida y la que causa las mayores pérdidas en poscosecha es *Monilinia laxa* (Aderh & Rulh.) Honey (Villarino et al., 2012). Esta especie es la de mayor distribución y mayor diversidad en nuestro país, lo que indica su presencia en nuestros cultivos desde hace varios años (Gell et al., 2007a).

El ataque del hongo se produce tanto en la etapa de floración como en la etapa de maduración de los frutos y la manipulación poscosecha de los mismos. Los síntomas de la podredumbre parda en el fruto consisten en manchas marrones que lo invaden rápidamente, el fruto puede momificarse y quedar fuertemente adherido a la rama durante muchos meses, siendo una fuente importante de inóculo para la cosecha siguiente (Figura 2). En cuanto al grado de susceptibilidad a la infección por *Monilinia* spp. es variable a lo largo del desarrollo del fruto.

La susceptibilidad es elevada durante las primeras etapas del desarrollo del fruto, disminuye durante las etapas de fruta verde y aumenta de nuevo durante el periodo de maduración del melocotón (Gradziel, 1994). Durante el periodo de conservación-comercialización, los daños son también importantes ya que el hongo se ve favorecido por alta humedad relativa y la máxima maduración de los frutos.

Debido a la elevada incidencia de esta enfermedad en España, son numerosas las medidas de control, tanto en la parcela (precosecha), como durante el periodo de conservación-comercialización (poscosecha). Las medidas de control precosecha engloban medidas culturales, tendientes a reducir la cantidad de inóculo en la parcela (poda y eliminación de momias); control químico, mediante el uso de fungicidas; y control biológico mediante la aplicación de hongos antagonistas (*Penicillium frequentans* y *Epicoccum nigrum*) (Guijarro et al., 2008, Larena et al., 2010). El control poscosecha consiste en tratamientos físicos, tanto de conservación en frío como tratamientos por calor (Casals et al., 2010); tratamientos químicos con productos de baja toxicidad (chitosan y ácido peracético); y tratamientos biológicos con cepas bacterianas (*Bacillus subtilis*) (Yanez et al., 2012).

Dado que cada vez existe una mayor preocupación por la aplicación de productos químicos en agricultura, tanto desde el punto de vista medioambiental, como de salud pública, es preciso buscar alternativas con menor riesgo para el consumidor. En este sentido, la disponibilidad de variedades o cultivares más tolerantes y/o resistentes a esta enfermedad fúngica es una de las mejores soluciones para una producción de calidad y sostenible. Aunque la mayoría de los cultivares comerciales de melocotonero

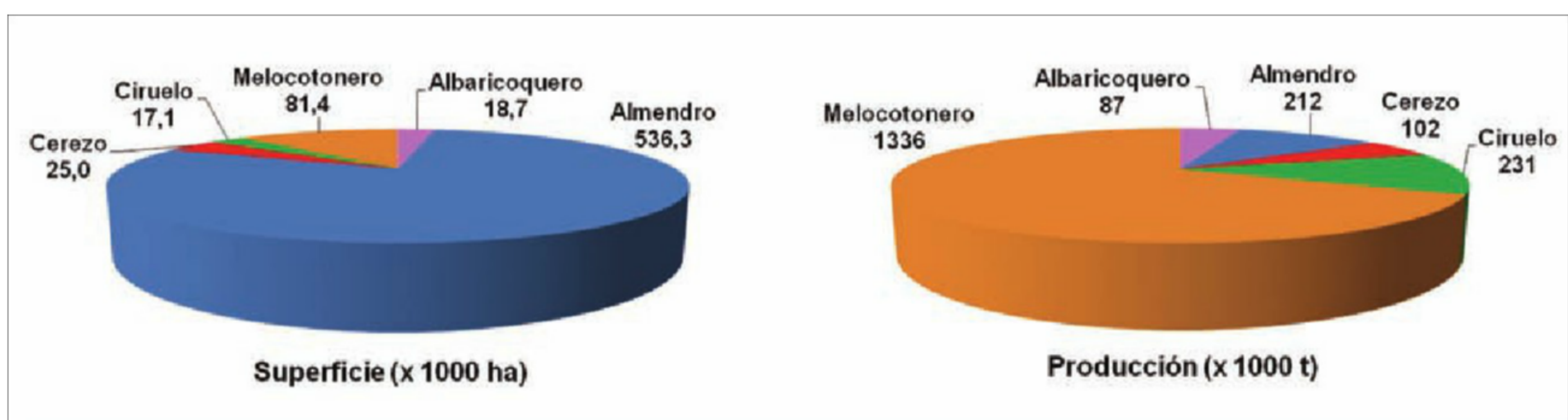


Figura 1: Superficie cultivada y producción de los principales frutales de hueso en España en el año 2011 (Faostat, 2013).

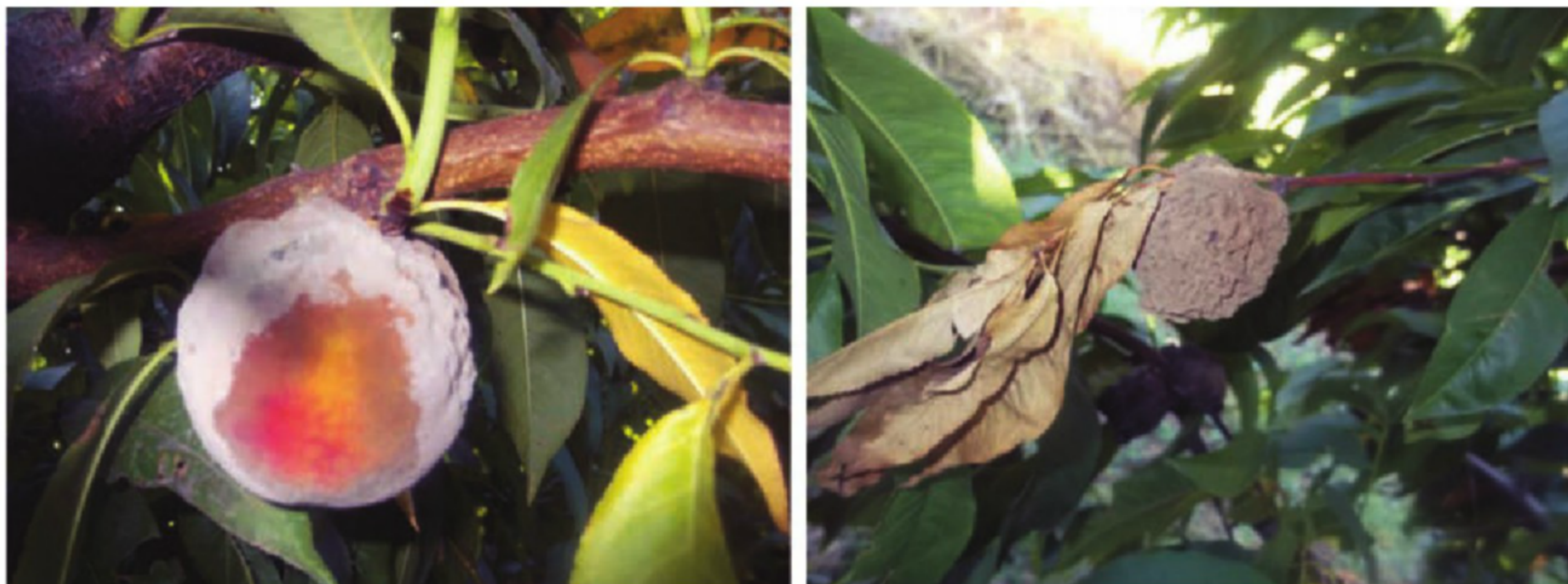


Figura 2: Síntomas en campo de la podredumbre parda en melocotón.

son susceptibles a este patógeno (Holb, 2008) es importante buscar cultivares tolerantes a *M. laxa* y sus enfermedades asociadas.

El objetivo de este trabajo ha sido la puesta a punto de la metodología para la evaluación de la tolerancia a la podredumbre parda causada por *Monilinia laxa* en cultivares de

melocotonero [*Prunus persica* (L.) Batsch]). Un nuevo protocolo ha sido optimizado para la inoculación de los frutos y su posterior evaluación en condiciones controladas. Además se discutirán los resultados preliminares obtenidos para diseñar las estrategias futuras de evaluación de la colección de germoplasma de melocotonero de la Estación Experimental de Aula Dei.

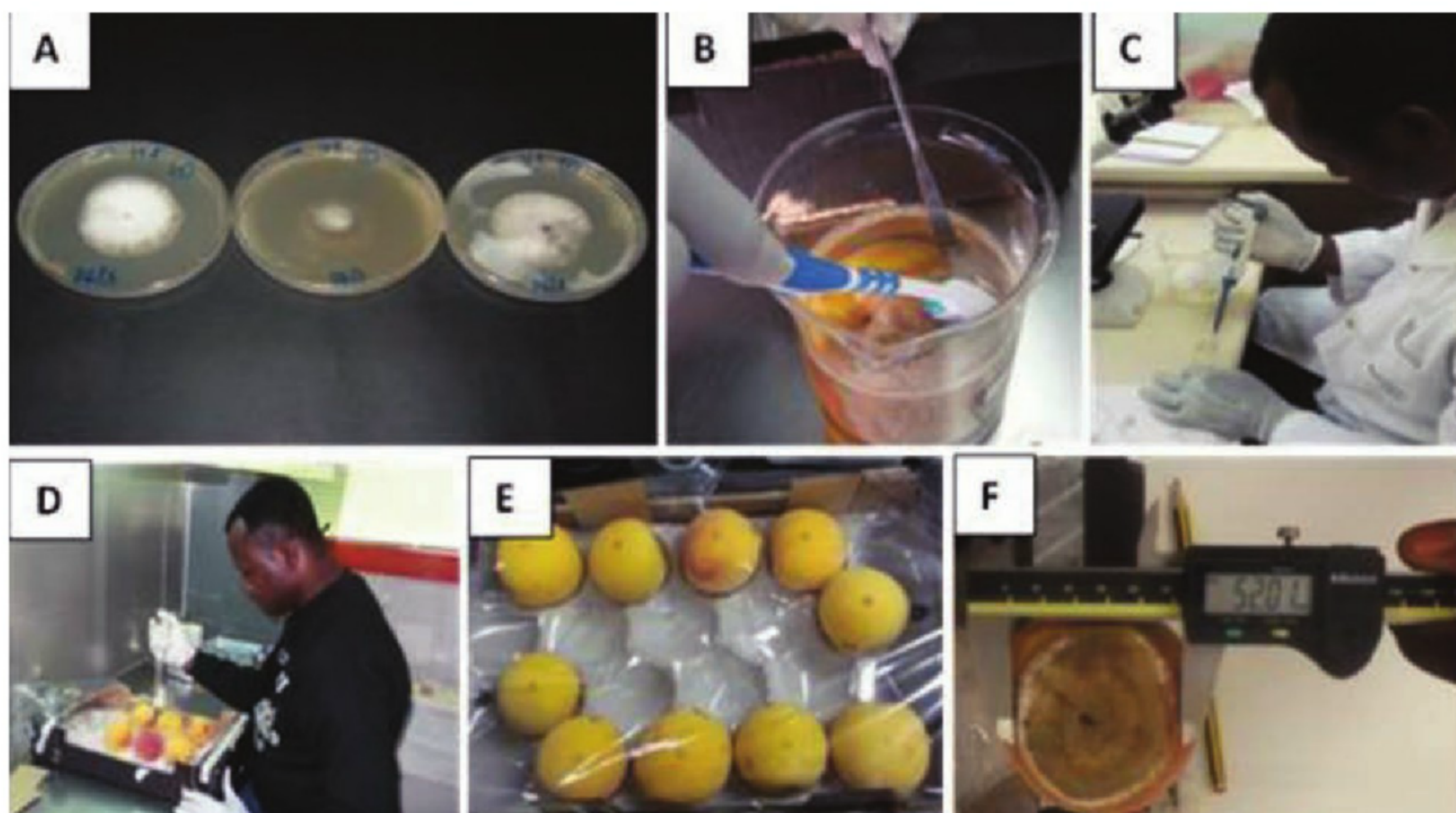


Figura 3: A: *Monilinia laxa* en placas Petri en PDA; B: recuperación de las esporas del fruto; C: cuantificación de la suspensión de esporas; D: inoculación de frutos; E: frutos recién inoculados para incubación; F: medida de la lesión y esporulación.

Metodología para la evaluación de la tolerancia a *M. laxa* en melocotonero

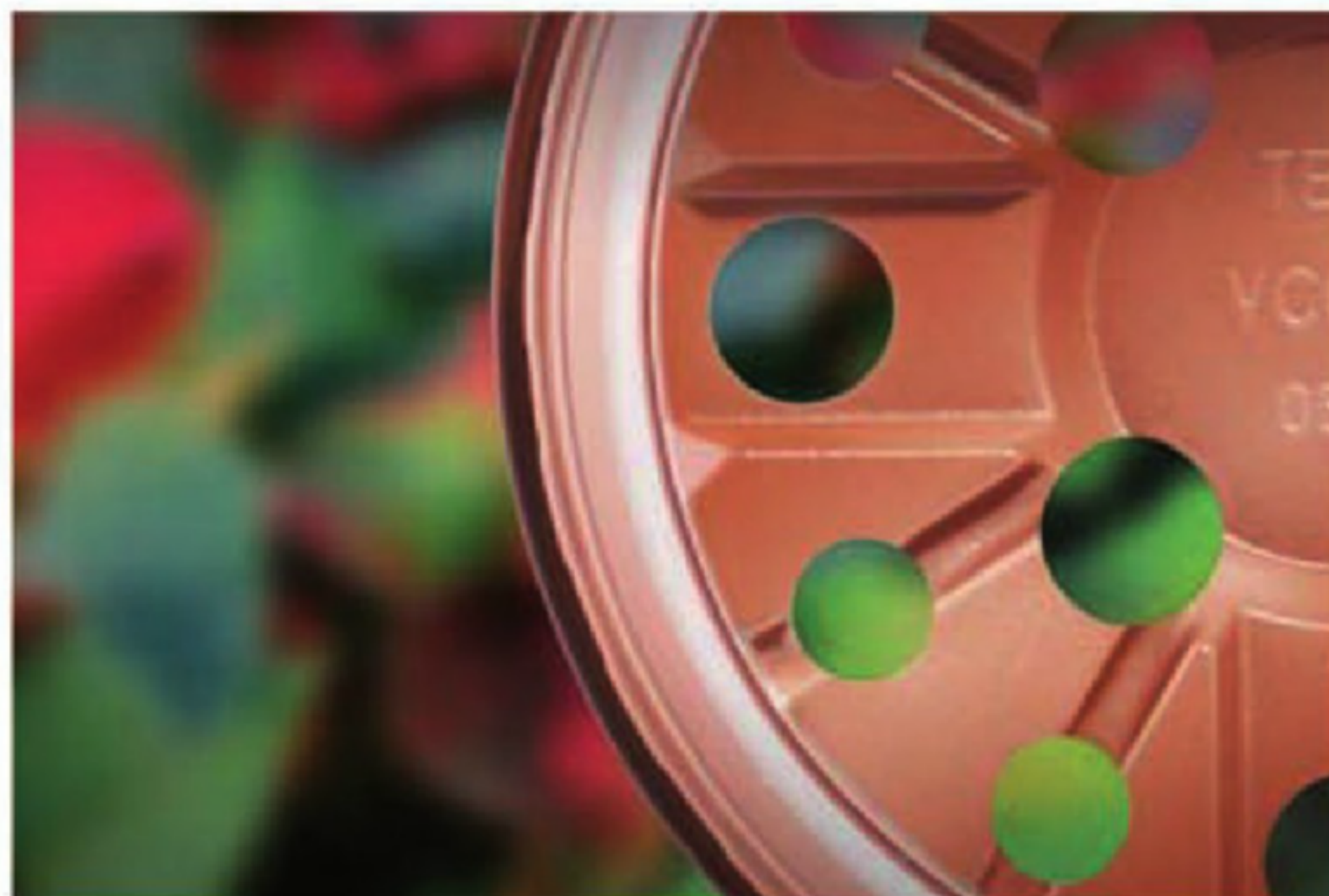
Los cultivares de melocotonero [*Prunus persica* (L.) Batsch] estudiados proceden de las colecciones de germoplasma y poblaciones de mejora de la Estación Experimental de Aula Dei-CSIC (Zaragoza). Los genotipos evaluados corresponden a las variedades 'Catherina', 'Venus' y 'Calante', y a descendientes de las poblaciones 'BabyGold 9' x 'VAC-9510' y 'BabyGold 9' x 'Crown Princess'.

El método consiste en la inoculación in vitro de los genotipos con *Monilinia laxa*. El inóculo original de *M. laxa* fue proporcionado por la Unidad de Patología del Irta (Lleida) en placas Petri con medio PDA (Figura 3A).

Para la obtención de esporas se inocularon frutos, previamente desinfectados, con una rónдела de 3 mm de medio de cultivo (PDA) de una colonia de *M. laxa* de 6 días de crecimiento. Los frutos se depositaron en cajas de cartón comerciales cubiertas con una capa de celofán transparente estéril y los extremos ligeramente cerrados con cinta adhesiva. Se incubaron a una temperatura de 23 °C, con 50-60% de humedad relativa, y bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Posteriormente, se aislaron las esporas y su concentración se midió con un citómetro al microscopio (Figura 3B-C).

En campo, se cosecharon veinticinco frutos sanos y maduros de cada genotipo que se desinfectaron durante 4 minutos por inmersión en una solución al 1,6% alcohol etílico, 1,6% hipoclorito de sodio (comercial), y 0,005% de Tween 80 en agua estéril. Posteriormente, se aclararon con agua estéril y se dejaron secar al aire al menos durante 20 minutos. Para la inoculación con heridas y esporas se realizó una lesión artificial (1 mm x 2 mm) en la posición ecuatorial del fruto, y sobre la herida se inoculó con 25 µL de una suspensión de esporas de concentración 25x10³/ml (Figura 3D). Los frutos se depositaron en cajas de cartón comerciales cubiertas con una capa de celofán transparente estéril y los extremos ligeramente cerrados con cinta adhesiva. Se incubaron a una temperatura de 23 °C (12 h día/ 12 h noche) y con 50-60% de humedad relativa (Figura 3E).

¿Solo es un fondo normal? ¿O **es la base** para su éxito?



Mirar los detalles vale la pena: descubra los detalles de los TEKU®+Valores para mejores plantas.

- Ingeniosas aberturas de drenaje en la diagonal en el 1º nivel
- Riego rápido y completo a tres niveles

› **El resultado:**

Reducción de tiempo de cultivo y plantas sanas en general.

Más de 30 años de experiencia en la horticultura. Beneficiense de los **TEKU® +Valores** de la **serie VCC** para su éxito.



Mejores plantas.



Máxima eficiencia.



Cuidado efectivo de los recursos.



PÖPPELMANN

TEKU®

Pöppelmann Ibérica.S.R.L.U. · Plaça Vicenç Casanovas 11-15 · 08340 Vilassar de Mar (Barcelona)
España · Tel. 93 754 09 20 · Fax 93 754 09 21 · teku-es@poepelmann.com · www.poepelmann.com

| Genotipos | mlg | msg | Di | dgr | %Di | %Dt |
|-----------|------------|------------|------------|-----------|------------|---------------|
| D1F2A1 | 57,4 ± 1,6 | 51,9 ± 2,9 | 54,6 ± 2,3 | 9,1 ± 0,4 | 27,3 ± 1,1 | 72,7 ± 1,1 a |
| Catherina | 54,3 ± 0,9 | 48,6 ± 1,4 | 51,5 ± 1,2 | 8,6 ± 0,2 | 25,7 ± 0,6 | 74,3 ± 0,6 ab |
| D1F5A3 | 49,8 ± 3,1 | 28,8 ± 5,7 | 39,3 ± 4,3 | 6,6 ± 0,7 | 19,7 ± 2,1 | 80,4 ± 2,1 bc |
| Venus | 38,3 ± 8,5 | 33,0 ± 8,8 | 35,6 ± 8,6 | 5,9 ± 1,4 | 17,8 ± 4,3 | 82,2 ± 4,3 c |
| Calante | 38,0 ± 5,8 | 0,0 ± 0,0 | 19,0 ± 2,9 | 3,2 ± 0,5 | 9,5 ± 1,4 | 90,5 ± 1,4 d |

mlg: crecimiento medio de la lesión (mm); msg: crecimiento medio de la esporulación (mm); Di: incidencia de la enfermedad (mm); dgr: crecimiento infección diaria (mm); %Di: porcentaje de incidencia de la enfermedad; %Dt: porcentaje de tolerancia; EE: Error Estándar.

Tabla 1: Parámetros medidos para determinar la tolerancia a *Monilinia laxa* en los genotipos de melocotonero estudiados. Datos son media ± EE (n=5 frutos).

Diariamente se observó la evolución de la enfermedad, y después de seis días de incubación se evaluó la actividad patogénica de la misma. Para cada cultivar se determinó el crecimiento medio de la lesión (mlg) y el crecimiento medio de la esporulación (msg) midiendo los diámetros en dos secciones perpendiculares con un pie de rey digital (Figura 3F, Digimatic Mitutoyo, Alico Equipamientos Industriales, Tamil- Nadu India). El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 19.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL).

Resultados y discusión

Para evaluar la incidencia de la enfermedad en cada cultivar se calculó el promedio de las medias del crecimiento de la lesión y de la esporulación ($Di = (mlg + msg) / 2$), la tasa de crecimiento diario del patógeno ($dgr = Di / 6$) y la incidencia de la enfermedad calculada en porcentaje respecto a la infección total en todos los cultivares (%Di). El genotipo D1F2A1 (descendiente del cruzamiento 'Baby-Gold 9' x 'VAC-9510') presentó la mayor tasa de crecimiento diario del patógeno y mostró la mayor incidencia porcentual de la enfermedad. Por el contrario, la variedad 'Calante' mostró el menor crecimiento diario del patógeno, resultando la menos afectada de todos genotipos en estudio (Tabla 1).

Una reducción en el porcentaje de la incidencia de la enfermedad (%Di) indica mayor tolerancia a la misma ($\%Dt = 100 - \%Di$). 'Calante' fue, de los cinco genotipos de melocotonero estudiados, el cultivar más resistente a la podredumbre parda causada por *M. laxa* ($Dt = 90,5\%$). El genotipo D1F2A1 (descendiente del cruzamiento 'Baby-Gold9' x 'VAC-9510') resultó ser el menos tolerante al patógeno ($Dt = 72,7\%$). Los otros tres genotipos en estudio

mostraron comportamientos intermedios en cuanto a la tolerancia a la enfermedad (Figura 4).

A pesar de las diferencias significativas encontradas entre genotipos respecto a la tolerancia a la enfermedad, es recomendable controlar algunos parámetros relacionados con la calidad del fruto, como los índices de madurez del fruto en el momento de la cosecha, ya que están correlacionados con la firmeza del fruto y de manera indirecta afectarán al grado de lesión del patógeno (Gradziel y Wang, 1993). La evaluación de la sensibilidad de los frutos a enfermedades fúngicas es un requisito importante a tener en cuenta en los programas de mejora (Pascal et al., 1994; Walter et al., 2004) y es indispensable en melocotonero. El método propuesto en este trabajo presenta algunas modificaciones en las condiciones de obtención del inóculo respecto a otros procedimientos publicados (Gell et al., 2007a; Jansch et al., 2012) y servirá para eva-

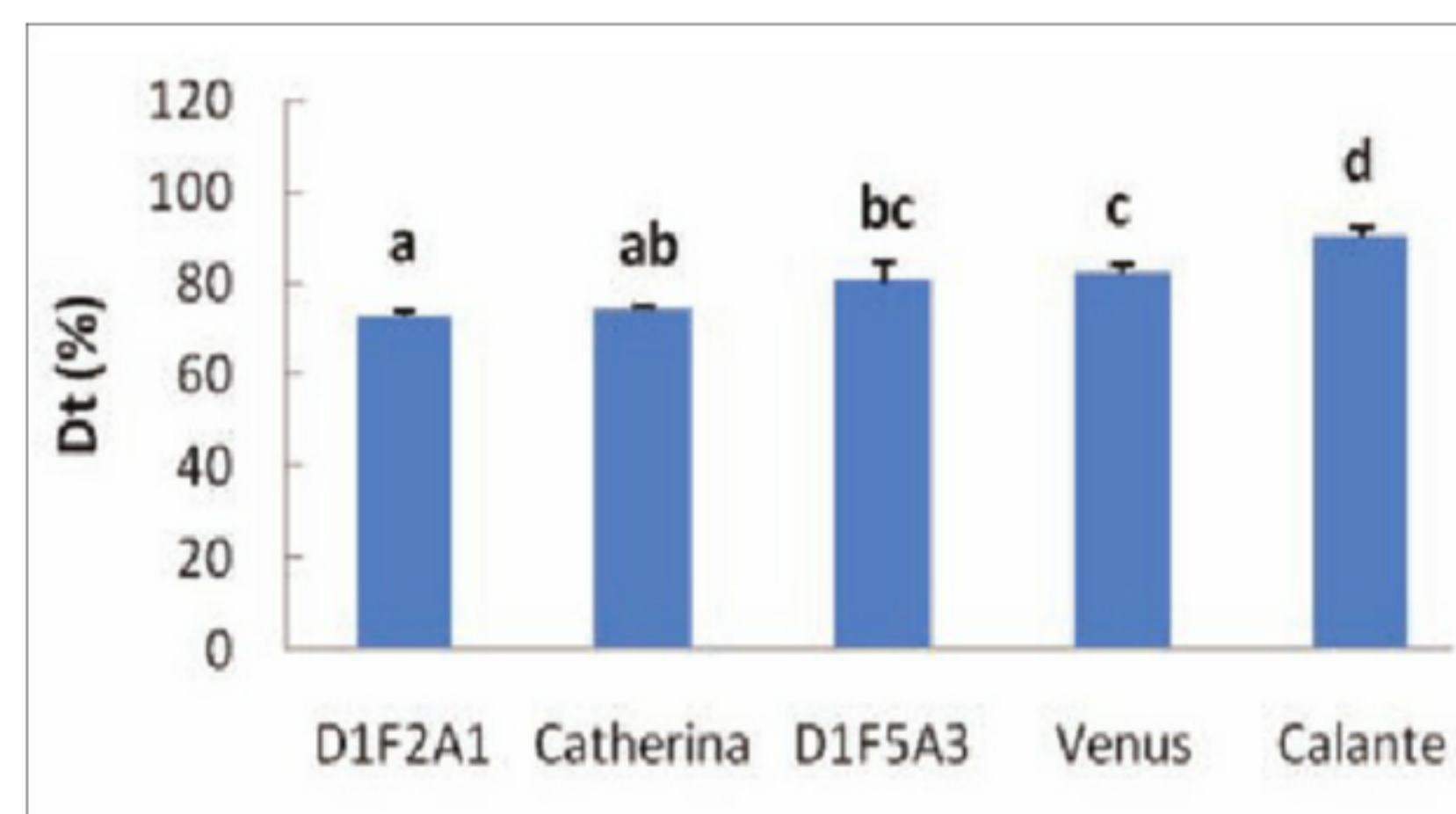


Figura 4: Comparación (%) de la tolerancia a *Monilinia laxa* en cinco genotipos de melocotonero. Dt: tolerancia a la enfermedad (%). La separación de medias se ha realizado con el test de Duncan ($p \leq 0,05$).

luar la susceptibilidad a esta enfermedad en germoplasma de melocotonero.

Conclusiones

En este trabajo se describe un método de evaluación de la susceptibilidad a la podredumbre parda causada por *Monilinia laxa* en frutos de melocotonero. El procedimiento se ha validado con cinco genotipos y se utilizará

para la evaluación de la tolerancia o susceptibilidad a la enfermedad del resto de germoplasma de melocotonero de la Estación Experimental de Aula Dei-CSIC. Las diferencias de tolerancia o susceptibilidad encontradas auguran un futuro prometedor para la selección de genotipos tolerantes a *Monilinia laxa* en los programas de mejora de melocotonero que se están llevando a cabo en la EEAD.■

Agradecimientos

A Josep Usall, de la Unidad de Patología del Irta de Lleida, por la cesión del inóculo original de *M. laxa*. A José Luis Espada, del Departamento de Agricultura del Gobierno de Aragón, que amablemente nos ha proporcionado el genotipo 'Calante' y al Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón por el uso de sus instalaciones. Este trabajo ha sido financiado por el Mineco y el Gobierno de Aragón con los proyectos AGL2011-24576 y A44, respectivamente, cofinanciados con fondos FEDER.

Referencias bibliográficas

- Casals C., Teixidó N., Viñas I., Cambray J., Usall J. 2010. Control of *Monilinia* spp. on stone fruit by curing treatments. Part II: The effect of host and *Monilinia* spp. variables on curing efficacy. *Postharvest Biology and Technology*, 56: 26-30
- FAOSTAT, 2013. Food and Agricultural Organization of the United Nations. <http://www.faostat.fao.org>. Acceso Noviembre 2013.
- Gell I., Cubero J., Melgarejo P. 2007a. Two different PCR approaches for universal diagnosis of brown rot and identification of *Monilinia* spp. in stone fruit trees. *Journal of Applied Microbiology*, 103: 2629-2637.
- Gell I., Larena I., Melgarejo P. 2007b. Genetic diversity in *Monilinia laxa* populations in peach orchards in Spain. *Journal of Phytopathology*, 155: 549-556.
- Gradziel, T.M. (1994) Changes in susceptibility to brown rot with ripening in three clingstone peach genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119: 101-105.
- Gradziel T.M., Wang D. 1993. Evaluation of brown rot resistance and its relation to enzymatic browning in clingstone peach germplasm. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 118: 675-679.
- Guijarro B., Melgarejo P., Torres R., Lamarca N., Usall J., De Cal A. 2008. *Penicillium frequentans* population dynamics on peach fruits after its applications against brown rot in orchards. *Journal of Applied Microbiology*, 104 (3): 659-671.
- Holb I.J. 2008. Brown rot blight of pome and stone fruits: symptom, disease cycle, host resistance, and biological control. *International Journal of Horticultural Science*, 14(3):15-21.
- Jansch M., Frey J.E., Hilber-Bodmer M., Broggin G.A.L., Weger J., Schnabel G., Patocchi A. 2012. SSR marker analysis of *Monilinia fructicola* from Swiss apricots suggests introduction of the pathogen from neighboring countries and the United States. *Plant Pathology*, 61(2): 247-254.
- Larena I., De Cal A., Melgarejo P. 2010. Enhancing the adhesion of *Epicoccum nigrum* conidia to peach surfaces and its relationship to the biocontrol of brown rot caused by *Monilinia laxa*. *Journal of Applied Microbiology*, 109(2): 583-593
- MAGRAMA, 2013. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. <http://www.magrama.gob.es>. Acceso Noviembre 2013.
- Pascal T., Levigner A., Kervella J., Ngyen-The C. 1994. Evaluation of two screening methods for resistance of apricot, plum and peach to *Monilinia laxa*. *Euphytica*, 77: 19-23.
- Petróczy M., Szigethy A., Palkovics L. 2012. *Monilinia* species in Hungary: Morphology, culture characteristics, and molecular analysis. *Trees*, 26: 153-164.
- Villarino M., Melgarejo P., Usall J., Segarra J., Lamarca N., De Cal A. 2012b. Secondary inoculum dynamics of *Monilinia* spp. and relationship to the incidence of postharvest brown rot in peaches and the weather conditions during the growing season. *European Journal of Plant Pathology*, 133: 585-598.
- Yanez V., Zerouh H., Viñas I., Torres R., Usall J., De Vicente A., Pérez-García A., Teixidó N. 2012. Biological control of peach brown rot (*Monilinia* spp.) by *Bacillus subtilis* CPA-8 is based on production of fengycin-like lipopeptides. *European Journal of Plant Pathology*, 132 (4): 609-619.
- Walter, M.; McLaren, G.F.; Fraser, J.A.; Fampton, C.M.; Boyd-Wilson, K.S.H.; Perry, J.H. 2004. Methods of screening apricot fruit for resistance to brown rot caused by *Monilinia* spp. *Australasian Plant Pathology*, 33: 541-547.