



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA

Desarrollo de una técnica optimizada de inoculación y tolerancia de nuevas variedades de mango amarillo a la antracnosis del follaje (*Colletotrichum sp.*)

ABRAHAM MONTEON OJEDA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2017

La presente tesis, titulada: **Desarrollo de una técnica optimizada de inoculación y tolerancia de nuevas cultivares de mango amarillo a la antracnosis del follaje (*Colletotrichum sp.*)**, realizada por el alumno: **Abraham monteón Ojeda**, con la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A)

DR. JOSÉ ANTONIO MORA AGUILERA

ASESOR (A)

DR. JOSÉ SERGIO SANDOVAL ISLAS

ASESOR (A)

DR. CARLOS DE LEÓN GARCÍA DE ALBA

ASESOR (A)

DR. ALFONSO VÁSQUEZ LÓPEZ

ASESOR (A)

DR. ELÍAS HERNÁNDEZ CASTRO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, 20 febrero de 2017

DESARROLLO DE UNA TÉCNICA OPTIMIZADA DE INOCULACIÓN Y TOLERANCIA DE NUEVAS VARIEDADES DE MANGO AMARILLO A LA ANTRACNOSIS DEL FOLLAJE

(*Colletotrichum sp.*)

Abraham Monteon Ojeda, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2017

RESÚMEN

Se desarrolló una técnica de inoculación alternativa para probar la patogenicidad de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en hojas de mango de cultivar "Ataulfo". Las cepas monospóricas de *C. gloeosporioides* de Gro y Sin fueron aisladas de hojas, flores, frutos y ramas con síntomas de antracnosis procedentes de huertos comerciales ubicados en los estados de Guerrero y Sinaloa, México y caracterizados por su carácter biológico y cultural. Estas cepas presentan un notable crecimiento micelial (2.2, 2.1 cm Ø / día), densidad de esporas (4.3×10^6 , 3.9×10^6 conidios mL⁻¹), tasas de germinación (27 y 26%) y virulencia (período de incubación 4.5 y 4.1 dai; Y 92% y severidad de 3,2 y 3,5 cm Ø). Los valores de incidencia y severidad más altos con el período de incubación más bajo se obtuvieron usando aislamiento Gro (1×10^5 conidios mL⁻¹) y monolaurato de polioxietileno-20-sorbitán como inoculante de esparadrappo inoculando sobre la superficie abaxial de hojas jóvenes desprendidas de 20 días con una Brocha suave e incubar en condiciones oscuras. Esta técnica de inoculación de hojas asegura la expresión óptima de virulencia de *C. gloeosporioides* y proporciona una diferenciación temprana clara entre cultivares de mango susceptibles y tolerantes a *C. gloeosporioides* en programas de mejora del mango (selección de cultivares tolerantes). Utilizando las técnicas anteriores se evaluó la tolerancia a la infección por *C. gloeosporioides* en la etapa vegetativa de once nuevos cultivares de mango de pulpa amarilla con potencial en el mercado de exportación. Se inocularon hojas de 15-20 días de desarrollo con el aislamiento de Gro destacado en virulencia. Basándose en los períodos de incubación, incidencia y severidad, los cultivares Alphonse, Neelum, Kesar y Ivory mostraron baja susceptibilidad, Nam Doc Mai, Rosygold y Cotaxtla fueron altamente susceptibles y Fairchild, Ataúlfo Diamante, Ataúlfo Zafiro y Mallika tuvieron susceptibilidad media. Los períodos de incubación más largos determinaron la severidad más baja (-0,89 y -0,90) y la incidencia (-0,77 y -0,85). La incidencia se correlacionó positivamente con la severidad (0,86 y 0,92). Las técnicas de hojas desprendidas y unidas fueron indistintamente útiles para inducir síntomas típicos de antracnosis y estimar la expresión de virulencia (período de incubación, incidencia y severidad) del patógeno.

Palabras clave: *Mangifera indica*, incidencia, cultivar, periodo de incubación, severidad.

DEVELOPMENT OF AN OPTIMIZED TECHNIQUE OF INOCULATION AND TOLERANCE OF NEW VARIETIES OF YELLOW MANGO TO THE FOLIAGE ANTHRACNOSE (*Colletotrichum sp.*)

Abraham Monteon Ojeda, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2017

ABSTRACT

An alternative inoculation technique was developed to test pathogenicity of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango leaves of "Ataulfo" cultivar. *Gro* and *Sin* monosporic strains of *C. gloeosporioides* were isolated from leaves, flowers, fruits and branches with anthracnose symptoms from commercial orchards located in Guerrero and Sinaloa states, Mexico and were biological and cultural characterized. These strains show outstanding mycelial growth (2.2, 2.1 cm Ø /day), spore density (4.3×10^6 , 3.9×10^6 conidia mL⁻¹), germination rates (27 and 26%) and virulence (incubation period 4.5 and 4.1 dai; incidence 90 and 92% and severity 3.2 and 3.5 cm Ø). The highest incidence and severity values with the lowest incubation period, was obtained using *Gro* isolate (1×10^5 conidia mL⁻¹) and polyoxyethylene-20-sorbitan monolaurate as spreader-sticker e inoculating on the abaxial surface of detached young leaves 20 days old with a soft brush and incubating under dark condition. This inoculation technique of leaves assure the optimal virulence expression of *C. gloeosporioides* and provide an early clear cut differentiation between susceptible and tolerant mango varieties to *C. gloeosporioides* in Mango improvement programs (screening tolerant varieties). It was evaluated the tolerance to *C. gloeosporioides* infection in the vegetative stage of eleven new cultivars of yellow pulp mango with potential in the export market. Leaves of 15-20 days of development were inoculated with the *Gro* isolation highlighted in virulence. Based on the incubation, incidence and severity periods, Alphonse, Neelum, Kesar and Ivory cultivars had low susceptibility, Nam Doc Mai, Rosygold and Cotaxtla were highly susceptible and Fairchild, Ataulfo Diamante, Ataulfo Zafiro and Mallika had average susceptibility. The longer incubation periods determined the lowest severity (-0.89 and -0.90) and incidence (-0.77 and -0.85). The incidence correlated positively with severity (0.86 and 0.92). The detached and attached leaf techniques were indistinctly useful to induce typical symptoms of anthracnose and estimate the expression of virulence (incubation period, incidence and severity) of the pathogen.

Key words: *Mangifera indica*, incidence, cultivar, incubation period, severity.

AGRADECIMIENTOS

Al pueblo de México, que a través de su Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y del Colegio de Postgraduados, hicieron posible la obtención del presente grado.

Al Fideicomiso del Colegio de Postgraduados por su apoyo en la realización de la presente tesis.

Al Dr. Antonio Mora Aguilera, por sus enseñanzas, paciencia y su gran amistad obsequiadas.

Al Dr. Carlos de León García De Alba, por su amistad, sugerencias y valiosas aportaciones al presente trabajo.

Al Dr. José Sergio Sandoval Islas, por su amistad y apoyo mostrado durante la realización de la presente investigación.

Al Dr. Alfonso Vásquez López, Por su amistad, compromiso y sugerencias en el desarrollo del estudio.

Al Dr. Elías Hernández Castro, por su amistad, apoyo y constante participación en la realización del presente trabajo.

Al Dr. Cristian Nava Díaz, por su valiosa amistad, constante apoyo e infinita paciencia.

Al Ing. Cecilio, por su ayuda, colaboración, apoyo en una parte importante del desarrollo de la investigación.

A mis padres por todo lo que soy, y a mis hermanos por su cariño y amor.

A mis amigos...

DEDICATORIA

A Dios y a mis padres...

CONTENIDO

RESÚMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
INTRODUCCION GENERAL	1
OBJETIVOS	5
General.....	5
Particulares	5
HIPÓTESIS	5
REVISIÓN DE LITERATURA	6
Antecedentes	6
Origen y distribución del mango en México	6
Producción.....	7
Comercialización	10
Exportación.....	10
Morfología del Mango	10
Importancia de variedades.....	13
Características de las variedades evaluadas.....	16
ANTRACNOSIS	20
Importancia y etiología	20
Síntomas	20
Epidemiología	21
Manejo	22
LITERATURA CITADA	24
Capítulo I	28
DESARROLLO DE UNA TÉCNICA OPTIMIZADA DE INOCULACIÓN DE <i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i> SOBRE HOJAS DE MANGO (<i>Mangifera indica</i> L.) CV. ATAULFO.	28
RESUMEN	28
ABSTRACT	28
INTRODUCCIÓN	29

MATERIALES Y MÉTODOS	30
Área de estudio.	30
Obtención de cepas y caracterización del cultivo.	30
Evaluación la virulencia en hojas desprendidas.	32
Densidades del inóculo.	33
Inoculación en plantas de vivero.	34
Análisis estadístico.	35
RESULTADOS	35
Aislamientos, virulencia y tejido susceptible.	35
Aditivos, viabilidad de conidios y densidades de inóculo.	37
Métodos de inoculación y evaluación de la severidad.....	39
Análisis de correlación.	42
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIONES	46
LITERATURA CITADA	47
Capítulo II	52
EVALUACIÓN DE TOLERANCIA A ANTRACNOSIS (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> L.) DE GERMOPLASMAS DE MANGO (<i>Mangifera indica</i> L.) POR TÉCNICAS DE INOCULACIÓN FOLIAR	52
RESUMEN	52
ABSTRACT	52
INTRODUCCIÓN	53
MATERIALES Y MÉTODOS	54
Superficie y material vegetal.....	54
Inóculo.	55
Inoculación en hojas desprendidas.	55
Inoculación en hojas unidas.	56
Análisis estadístico.	57
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
Tolerancia varietal.	57
Evaluación de la severidad.	61
Análisis de correlación.	62

CONCLUSIONES	65
LITERATURA CITADA	66
DISCUSION GENERAL	71
CONCLUSIONES FINALES.....	73
APÉNDICE	74

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Principales características genéticas, morfológicas y organolépticas de los grupos de frutos primitivos de mango (<i>Mangifera indica</i>). (Sergent 1999).....	12
Tabla 2. Principales cultivares de mango (<i>Mangifera indica</i>) y su distribución mundial considerados por Litz 2009.....	14
Tabla 3. Épocas de producción, distribución y características morfológicas de las principales variedades en México (Ballinas, 2013).....	15
Tabla 4. Crecimiento micelial, densidad de esporulación y tasas de germinación conidial de cinco aislamientos de <i>C. gloeosporioides</i> obtenidos de huertos comerciales en cinco estados productores de mango de México.	36
Tabla 5. Virulencia de cinco aislamientos de <i>C. gloeosporioides</i> inoculados a una densidad de 1x10 ⁵ conidios mL ⁻¹ sobre las superficies adaxial y abaxial de hojas de mango cv. "Ataúlfo", de 20 días de antigüedad, utilizando la técnica de inoculación de hojas desprendidas.....	37
Tabla 6. Viabilidad germinativa del aislamiento Gro (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>) in vitro a una densidad de 1x10 ⁵ conidios mL ⁻¹ utilizando tres aditivos con diferentes propiedades tensoactivas, de adherencia y dispersión después de la incubación a las 24 y 48 h.	38
Tabla 7. Evaluación de la antracnosis en cuatro concentraciones de conidios de aislamiento de Gro (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>) suspendido en polisorbato 20 (0,1%) inoculado en la	

superficie abaxial de hojas de mango cv. "Ataúlfo", de 20 días de antigüedad, utilizando la técnica de inoculación de hojas desprendidas. 40

Tabla 8. Evaluación de la antracnosis de cinco métodos de deposición de inóculo del aislamiento Gro (*Colletotrichum gloeosporioides*) suspendido en polisorbato 20 (0,1%) a densidad 1x10⁵ conidios mL⁻¹ en hojas de mango cv. "Ataúlfo" 20 días en condiciones de vivero..... 41

Tabla 9. Incidencia y severidad acumulada de antracnosis en hojas de 15 días de desarrollo de once cultivares de mango (*Mangifera indica*) de pulpa amarilla inoculados con un alto aislamiento de virulencia de *Colletotrichum gloeosporioides* con los métodos de hoja separada y hoja unida en laboratorio y vivero. Cada barra representa los valores absolutos observados en tres repeticiones experimentales (ciclo 2015-2016). 58

Tabla 10. Susceptibilidad de hojas de 15 días de desarrollo de once cultivares de mango (*Mangifera indica*) a la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) según el período de incubación, incidencia y severidad, inoculados en laboratorio con la técnica de hojas desprendidas.60

Tabla 11. Susceptibilidad de hojas de 15 días de desarrollo de once cultivares de mango (*Mangifera indica*) a antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) según el período de incubación, incidencia y severidad, inoculados en laboratorio con la Técnica de Hoja Adjunta. 61

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Principales productores de mango (*Mangifera indica*) en el mundo en 2014 (FAOSTAT, 2016). 8
- Figura 2.** Principales exportadores de mango (*Mangifera indica*) en el mundo en 2014 (FAOSTAT, 2016). 8
- Figura 3.** Principales estados productores de mango (*Mangifera indica*) en México en 2015 (SIAP, 2016). 9
- Figura 4.** Principales municipios productores de mango (*Mangifera indica*) en Guerrero en 2015 (SIAP, 2016). 9
- Figura 5.** Síntomas de antracnosis (*C. gloeosporioides*) en mango (*Mangifera indica*) cv. Manila. Tizón floral y de fruto (A - B); Cancro de tallos vegetativos y reproductivos (C- D); Manchas foliares angulares (E- F). 23
- Figura 6.** Análisis de regresión lineal de las variables severidad, incidencia y período de incubación, en hojas de 15 días de desarrollo de la cv. Ataulfo de mango (*Mangifera indica*) inoculadas con *Colletotrichum gloeosporioides* con técnicas de hoja desprendida (DLT: A, B, D. Correlación entre la estimación visual y digital de la severidad en DTL y ALT (C) $r =$ Coeficiente de correlación de Pearson. 42
- Figura 7.** Análisis de regresión lineal de las variables severidad, incidencia y período de incubación en hojas de 15 días de desarrollo de 11 cultivares de mango (*Mangifera indica*) inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides* con las técnicas de la Hoja Detechada (DLT: A, C, E) Y Hoja adosada (ALT: B, D, F). Correlación entre la estimación visual y digital de la severidad en DTL y ALT (G). $R =$ coeficiente de Pearson. 64

INTRODUCCION GENERAL

El mango (*Mangifera indica* L.) es originario de India y es la especie de mayor importancia económica de la familia de las Anacardiáceas (Galán, 2009). Internacionalmente representa el tercer fruto tropical de importancia después del banano (*Mussa spp.*) y naranja (*Citrus sinensis*) (FAOSTAT, 2016). Se cultiva en la mayoría de las zonas tropicales y subtropicales del globo, con el desarrollo de técnicas de forzado de floración es posible comercializarlo mundialmente prácticamente todo el año (Galán, 2009).

Entre 1990 y 2010, la producción mundial se incrementó en más de 50%; actualmente se producen más de 35 millones de toneladas anuales (FAOSTAT, 2016). India es el primer productor y México el primer exportador con 45% y 24 %, respectivamente (Figuras 1 y 2); México ocupa el quinto lugar en producción y segundo lugar en exportación con, 4.5% y 20% (FAOSTAT, 2016).

En México, el cultivo representa una fuente importante de empleo debido a la cantidad de mano de obra utilizada en el sistema de producción. En 2015 se cultivaron 2,269,140 ha, con una producción de 12657668 ton. Guerrero, Chiapas, Nayarit, Sinaloa, Oaxaca, Michoacán y Veracruz producen más de 90 % del volumen nacional (Figura 3) (SIAP, 2016); Guerrero es el primer productor y las principales regiones de cultivo en la entidad son la Costa Chica, la Tierra Caliente (trópico seco) y la Costa Grande (trópico subhúmedo); en esta última, Técpan de Galeana constituye el principal municipio productor (Figura 4) (SIAP, 2016).

En la actualidad hay aproximadamente 150 cultivares comerciales de mango (Yahia *et al*, 2006). México es el principal exportador de mango en el mundo, no obstante, del volumen total de la fruta producida que es cercano a 1.4 millones de toneladas, solamente un 10% se destina a la exportación. Los cultivares de mango producidos para el mercado de exportación son; Tommy Atkins, Kent, Haden,

Keitt, y recientemente Ataulfo, mientras que el cultivar Manila, del cual solo existen poco más de 30 mil hectáreas, se destina al mercado nacional. (Ayala-Garay, 2009, Ledyn, 1957).

Las principales plagas reportadas en el mundo sobre este cultivo son antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* y *C. acutatum*), cenicilla (*Oidium mangiferae*), proliferación vegetativa y floral (*Fusarium spp.*), muerte descendente (*Lasiodiplodia theobromae*), mosca de la fruta (*Anastrepha spp.*), trips (*Scirtothrips spp.*, *Frankliniella spp.*), escama blanca (*Aulacaspis tubercularis*) y el ácaro de las yemas (*Aceria mangiferae*) (Dodd *et al.*, 1997) en este estudio y para fines del mismo solamente se abordarán las dos primeras.

La antracnosis del mango (*Mangifera indica*) es una enfermedad causada principalmente por *C. gloeosporioides* (teleomorfo: *Glomerella cingulata*), patógeno más frecuente, y *C. acutatum* (teleomorfo: *G. acutata*), que participa en menor escala, la cual forma colonias grisáceas a gris oscuras en medio de cultivo a base de agar papa dextrosa. Los conidios se forman sobre conidióforos ligeramente pigmentados dentro de cuerpos fructíferos superficiales llamados acérvulos en los órganos atacados (Fitzell, 1979; Mora *et al.*, 2002).

La enfermedad es la más importante del cultivo en pre y postcosecha en todas las áreas productoras de mango en el mundo, es más severa con humedad relativa alta y lluvia abundante. Infecta hojas, flores, frutos y ramas de todas las edades, puede causar pérdidas del 50% a 100% en frutos producidos con alta humedad ambiental y sin manejo. La severidad en frutos en amarre inicial y tamaño de 8-15 mm de diámetro puede alcanzar hasta 70-80% cuando no se utiliza control químico (Arauz, 2000; Becerra-Leor, 1995; Monteon *et al.*, 2012).

Las exportaciones mexicanas de mango han disminuido en 24 puntos porcentuales entre 1997 y 2004, debido a que cuenta únicamente con "Ataúlfo", como variedad amarilla de exportación, la cual enfrenta

severos problemas de productividad por partenogénesis (mango estenospermocárpico o “mango niño”) (Gehrke-Vélez, 2011), estacionalidad de producción y mezclas genéticas que limitan su comercialización. Por esta razón, es indispensable diversificar la oferta de mangos poliembriónicos. El Colegio de Posgraduados en 2012 introdujo ocho nuevas cultivares con potencial de exportación (Nam Doc Mai, Rosigold, Mallika, Ivory y Alphonse, Neelum, Fairchild y Kesar) procedentes del Fairchild Botanic Garden Florida, USA, adicionalmente, el INIFAP registró en 2009 y 2012 Ataúlfo Diamante y Ataúlfo Zafiro por lo que es necesario evaluar su adaptabilidad (tolerancia a plagas, crecimiento y desarrollo, fenología, necesidades hídricas y nutrimentales) y adecuar tecnologías de manejo fitosanitario y frutícola de alta rentabilidad.

La evaluación de métodos de inoculación permite determinar las condiciones óptimas de infección y desarrollo de los patógenos, la relación fisiológica con sus hospederos así como el establecimiento de estrategias de manejo de la enfermedad. También facilitan la estimación óptima de la resistencia de cultivares a enfermedades (Denoyes-Rothan *et al.*, 2003; Dillard, 1989; Varo *et al.*, 2016). Aunque existen diversos estudios acerca de la etiología y epidemiología de *C. gloeosporioides* que involucran la inoculación del patógeno en inflorescencias y frutos, las investigaciones disponibles acerca de la evaluación y validación de técnicas de inoculación del patógeno en follaje son limitadas (Acosta *et al.*, 2001; Biggs and Miller, 2001; Moral and Trapero 2009) y operan con distinto grado de eficiencia, siendo frecuentemente inconsistentes.

Es relevante considerar que hospedantes que son altamente susceptibles a antracnosis en etapa vegetativa, tendrán mayores tasas de epidemia debido a que patógenos que tienen varios ciclos por temporada de crecimiento, el número de ciclos de infección secundarios usualmente determina la intensidad de las epidemias en campo y mostrarán mayor severidad en etapas críticas (Tivoli *et al.*, 2006).

La evaluación de germoplasmas introducidos al ataque de patógenos en zonas productoras es esencial para el establecimiento de sistemas de manejo, monitoreo y pronóstico de epidemias que permitan llevar un adecuado manejo de la enfermedad, así también permitirá su integración a estudios de mercado como una herramienta en la toma de decisiones que afectan la economía del sistema de producción.

OBJETIVOS

General

Generar una técnica de inoculación efectiva para la inducción de síntomas típicos de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) y evaluar la tolerancia a la enfermedad en ocho cultivares de mango en mango (*M. indica*) de reciente introducción a México y con potencial de exportación, en dos de reciente registro por INIFAP y en la cv. Ataulfo ya posicionada en el mercado internacional.

Particulares

Comprobar la eficacia de la técnica de inoculación utilizada.

Registrar las condiciones favorables para el desarrollo del inoculo.

Evaluar la susceptibilidad de 10 cultivares de mango al ataque de *C. gloeosporioides*.

HIPÓTESIS

Las técnicas de inoculación desarrolladas presentan diferencia entre sí y son estadísticamente superiores al testigo no inoculado.

Todos los cultivares de mango presentan tolerancia diferenciada a la infección por *C. gloeosporioides*, con base en las fuentes de variación: Periodo de Incubación (*Pi*), Incidencia (*Inc*) y Severidad (*Sev*).

REVISIÓN DE LITERATURA

Antecedentes

El mango es indudablemente la especie de mayor importancia de la familia de las Anacardiáceas, tanto por su distribución mundial – entre 33° de latitud sur y 36° de latitud Norte – como por su importancia económica – 5° fruto de consumo mundial y 3° entre los tropicales (Galán, 2009). El género *Mangifera* comprende 69 especies según reciente revisión efectuada por Kosterman y Bompard (1993).

Origen y distribución del mango en México

La zona de origen de este género, en el sudeste de Asia, va desde los 27° de latitud Norte hasta casi los 5° sobre el ecuador y desde Sri Lanka hasta las islas Carolinas. (Galán, 2009). El centro primario de evolución del mango (*Mangifera indica* L.) es señalado en la región Indo- Birmana y Sur-Este de Asia, Isla de Borneo y Sumatra, encontrándose en forma silvestre en toda la región tropical de Asia: India, Sri Lanka, Myanmar, Tailandia, Indochina, Sureste de China. Malasia, Indonesia, Papúa, Nueva Guinea. Filipinas, e incluso en lugares tan distantes de Asia como las Islas Carolina y Solomon (Kosterman y Bompard, 1993; Sergent, 1999). En México existe una doble introducción de este fruto. Según Velasco Cárdenas (op. Cit.) los españoles que trajeron el mango manilla en la Nao de China desde Filipinas hasta Acapulco en el S. XVI o S. XVII y de otra parte, posteriormente en el S. XIX (Mosqueda Vázquez et al., 1996) a la costa este procedentes de las Antillas, vía la ruta seguida por la introducción de los portugueses. (Galán, 2009).

Producción

La producción mundial de mango alcanzó los 34.3 millones de toneladas en el año 2009, el 83% de la producción mundial de mango se concentró en 10 países, destacándose entre los primeros lugares India y China quienes por si solos concentraron el 51% de la producción mundial. (CONASPROMANGO, 2012), en el cual México ocupa el Quinto lugar (Figura 1). En el país se producen múltiples de variedades destacándose 'Manila', 'Ataulfo', 'Haden', 'Kent', 'Tommy Atkins', 'Keitt', 'Sensation', 'Zill' 'Irwin'. Las variedades más importantes en el mercado nacional, sobre todo en el centro y sur del país, son Manila y los tipos Criollos Los principales cultivares que se producen en el país con fines de exportación son 'Tommy Atkins', 'Haden', 'Kent', 'Keitt' y 'Ataulfo', debido a sus características de sabor, aroma y tamaño (CONASPROMANGO, 2012). Es importante destacar que de las seis principales variedades que se producen en México, las variedades Manila y Ataulfo, representan el 51% del total del volumen producido en el país. Ver Figura 2 (CONASPROMANGO, 2012). El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) precisó que la producción total de este fruto en México fue de un millón y medio de toneladas, con un consumo per cápita de 11 kilogramos. Cabe señalar que el mango se produce en 23 estados, de los cuales, 10 contribuyen con el 98 por ciento del total de la producción nacional. (SIAP, 2016). El estado de Guerrero es el principal productor con el 22 por ciento del volumen total; Nayarit, con un 17 por ciento, y Sinaloa con un 14 por ciento. Estas tres entidades participan con el 53 por ciento de la producción nacional. El resto se produce en Chiapas, Oaxaca, Michoacán, Veracruz, Jalisco, Colima y Campeche. (SIAP, 2016).

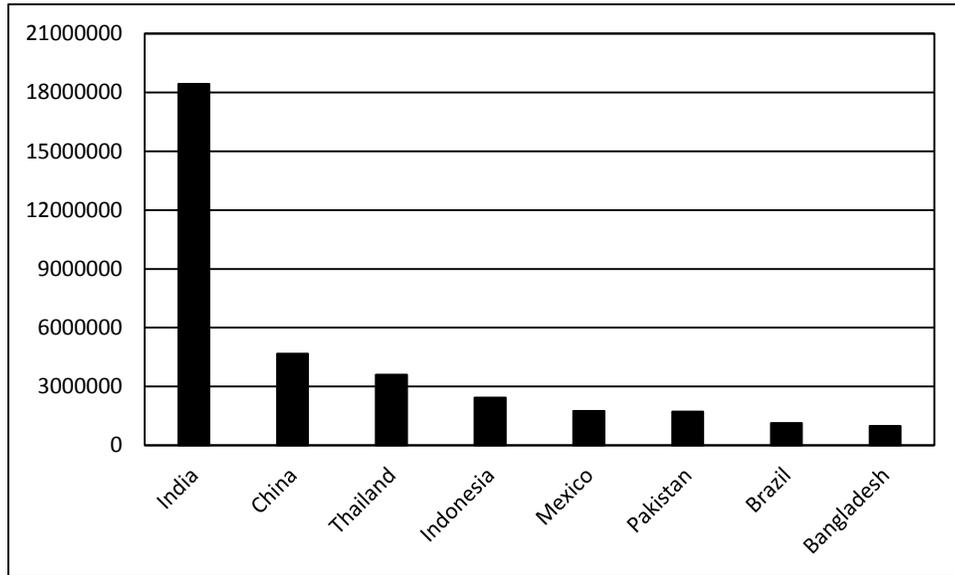


Figura 1. Principales productores de mango (*Mangifera indica*) en el mundo en 2014 (FAOSTAT, 2016).

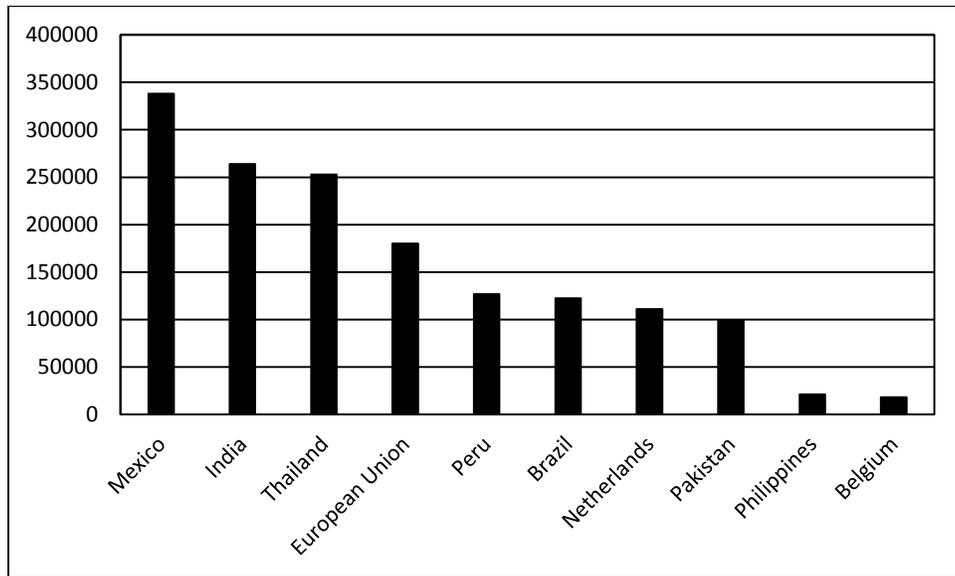


Figura 2. Principales exportadores de mango (*Mangifera indica*) en el mundo en 2014 (FAOSTAT, 2016).

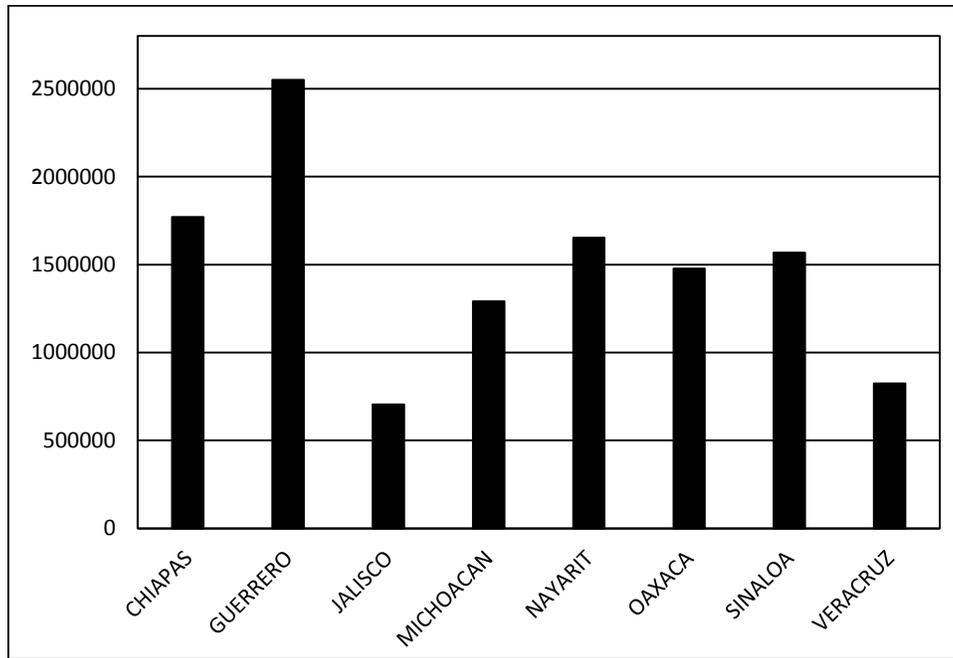


Figura 3. Principales estados productores de mango (*Mangifera indica*) en México en 2015 (SIAP, 2016).

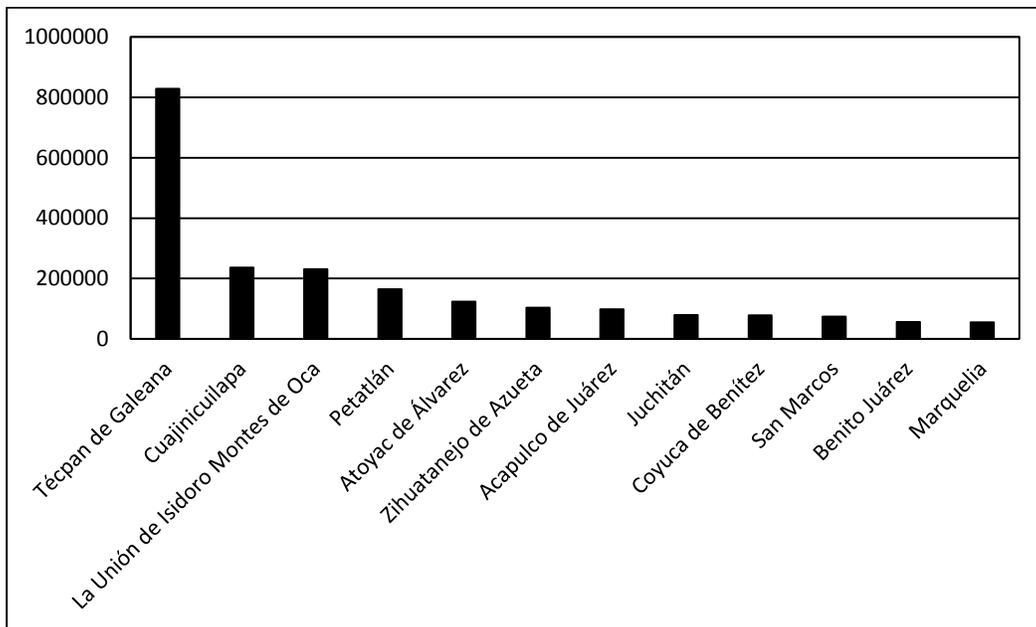


Figura 4. Principales municipios productores de mango (*Mangifera indica*) en Guerrero en 2015 (SIAP, 2016).

Comercialización

Los cuatro grandes focos de comercialización del mango son la Unión Europea, Estados Unidos, La Península Arábiga y los mercados Asiáticos (especialmente China, Malasia y Japón). Como en otros frutos existen oportunidades de mercado cada vez más importantes para mangos orgánicos. De hecho, desde hace algunos años se están pagando precios superiores a un 15-25% por mangos orgánicos en los principales mercados del mundo particularmente en Estados Unidos, Europa y Japón (Galán, 2009).

Exportación

México es el principal exportador de mango del mundo y está entre los primeros siete países productores (Figura 3) (FAOSTAT, 2016). Durante 2013, el valor de las exportaciones de mango mexicano se incrementó 16 por ciento, lo que contribuyó a consolidar a México en el primer lugar mundial en las ventas de este producto. Los principales destinos de exportación del mango mexicano son Estados Unidos, Canadá, Japón, Reino Unido y los Países Bajos. (SIAP, 2016).

Morfología del Mango

El mango es una especie tropical arbórea de hojas perennes, que puede alcanzar entre 10 o 40 m. de altura. (Minaya, 1999). Las hojas son simples, sin estípulas, alternas, con peciolo de 1 a 12 cm de largo, generalmente oblongas con ápices variando de redondeado a acuminado, de forma diferente entre variedades, pero es más coherente dentro de una misma variedad; sin embargo, en un mismo árbol se puede presentar una variada gama de tamaños de hoja (Bally, 2006). Su distanciamiento es muy irregular y lo determinan los periodos de crecimiento (llamados flujos); al iniciarse éstos, las hojas aparecen muy juntas, durante el crecimiento de la rama se aprecian más espaciadas, al detenerse el flujo de crecimiento vuelven a apreciarse muy juntas. La lámina es por lo general oblonga o lanceolada

con los bordes por lo común ondulados. El nervio central y los nervios laterales son muy prominentes, el haz es duro y brillante, de color verde oscuro, mientras que el envés es amarillo verdoso (Rodríguez et al., 2002). En cuanto al color de las hojas, Crane y Balerdi (2006) indican que es rosa, bronce, ámbar o verde pálido cuando son jóvenes, pero se transforma a verde oscuro cuando las hojas maduran.

El crecimiento vegetativo es por periodos o ciclos de crecimiento simpódicos, denominados “flujos vegetativos” o “flushers” (Sergent, 1999). La forma y tamaño del árbol depende del tipo de propagación. Los de semillas o propagados sexualmente son erectos y altos, la propagación asexual (injerto, acodo estaca) son de menor tamaño, de ramificación escasa y abierta (Sergent, 1999). Las flores están ubicadas en panículas piramidales terminales glabras o pubescentes; la inflorescencia es rígida y erecta y es ampliamente ramificada, usualmente densamente florecida (Litz, 2006). Puede alcanzar según Bally (2006) hasta 60 cm de largo en algunas variedades y ser de color verde pálido a rosado o rojo y llevar cientos de flores. Las flores son pequeñas, monoicas y polígamas. Ambas flores, masculinas y perfectas, son encontradas dentro de una misma inflorescencia. Las flores tienen cuatro a cinco sépalos que son de aovados a aovado oblongos y cuatro a cinco pétalos de oblongos a lanceolados y en ambos casos altamente pubescentes. Aunque hay cuatro a cinco estambres, sólo uno o dos de ellos son fértiles, el resto son estaminodios estériles (Litz, 2006). El disco se divide en un receptáculo de cuatro o cinco lóbulos carnosos que forma los nectarios. Las flores masculinas son similares a las flores hermafroditas, pero no tienen el pistilo, que ha sido abortado y hay ausencia de ovario (Bally, 2006; Nakasone y Paull, 1998). En las flores hermafroditas el gineceo consta de un ovario conspicuo, globoso; el estilo es lateral, curvado hacia arriba y liso; el estigma es pequeño y terminal. La antesis ocurre en la noche o en las primeras horas de la mañana. Las anteras se abren poco después del perianto y se tornan azuladas por el polen, para su apertura se requiere tiempo

brillante y caluroso (Cartagena y Vega, 1992). El estigma puede ser receptivo aun antes de abrirse la flor y continúa haciéndolo por dos días (Rodríguez et al., 2002). El fruto es una drupa aplanada que varía entre redonda a ovalada oblonga con longitudes de 5 a 30 cm, La cual dependiendo de la variedad pueden ser muy variable en forma, color, sabor y textura. Puede pesar de menos de 50 g a más de 2 kg, el fruto presenta un color verde oscuro de fondo durante el desarrollo en el árbol y se vuelve verde claro a amarillo o naranja cuando madura. Algunas variedades desarrollan un color rojizo que queda hasta la maduración. El mesocarpio carnoso, parte comestible de la fruta, por lo general es dulce y con ligero sabor a trementina. Las frutas maduran de dos a cuatro meses después de la florescencia, dependiendo de la variedad y la localidad. (Bally, 2006).

Los cultivares existentes en mango, provienen de dos grandes grupos cuyos orígenes son: India (monoembrionicos) e Indochina y Filipinas (poliembriónicos), (Tabla 1) (Sergent, 1999). La producción de mango en Mexico (Tabla 3).

Tabla 1. Principales características genéticas, morfológicas y organolépticas de los grupos de frutos primitivos de mango (*Mangifera indica*). (Sergent 1999)

Carácter	Hindú (monoembrionico)	Indochino y Filipino (poliembriónico)
Número de embriones	Uno	Varios
Contenido de fibras	Poco	Mucho
Trementina	Poco	Mucho
Agrupación en el árbol	Solitarios	En racimos
Color	Rojizos y/o amarillentos	Amarillo verdoso
Forma	Redondeados	Achatados y/o alargados

Importancia de variedades

Como consecuencia de su gran antigüedad como cultivo y la naturaleza de su reproducción anual se ha originado un gran número de variedades cultivadas (cultivares) de mango. Todos los cultivares existentes tienen sus defectos y por eso continúa activa la búsqueda de nuevos cultivares, en la cual se debe tener en cuenta en primer lugar, el mercado de destino. Una vez discernido el destino de la producción debe considerarse la adaptación al medio. Galán, 2009. Los principales cultivares que en México son: Ataulfo, Haden, Tommy Atkins, Irwin, Kent, Manila, Palmer, Sensation y Van Dake (Tabla 2) (Ballinas *et al.*, 2013; Galán, 2009).

Tabla 2. Principales cultivares de mango (*Mangifera indica*) y su distribución mundial considerados por Litz 2009.

Continente o región	País	Cultivares
África	Cote d'Ivoire	Amelie, kent
	Egypt	Alphonse, Bullock's Heart. Hindi be Sannara, Langra, Mabrouka, Pairie, Taimour, Zebda
	Kenya	Boubo, Ngowe, Batawi.
	Mali	Amelie, kent.
	South Africa	Fascell, haden, keitt, kent, Sensation, Tommy Atkins, Zill
Asia	Bangladesh	Aswina, Fazli, , Gopal Bhog, Himsagar, Khirsapati, Langra.
	China	Gui Fei, Tainong No 1, keitt, sensation, Zill, Zihua, Jin Huang.
	India	Alphonse, Banganapalli, Bombay, Bombay Green, Chausa, Dashehari, Fazli, Fernandian, Himsagar, Kesar, Kishen Bhong, langra, Mallika, Mankurad, Mulgoa, Neelum, Pairi, Samar, Behisht, Suvarnarekha, Totapuri, Vanraj, Zardalu.
	Indonesia	Arumanis, Dodol, Gedong, Golek, Madu, Manalagi,
	israel	Haden, Tommy Atkins, Keitt, Maya, Nimrod, Kent, Palmer
	Malaysia	Apple Rumani, Arumanis, Golek, Kuala Selangor 2, Malgoa
	Myanmar	Aug Din, Ma Chit Su, Sein Ta Lone, Shwe Hin Tha
	Pakistan	Anwar Ratol, Began Pali, Chausa, Dashehari Gulab Khas, Langra, Siroli, Sindhri, Suvarnarekha, Zafran,
	The Philippines	Carabao, Manila Super, Pico
	Taiwan	Irwin, Jin-hwung, Keitt, Tommy Atkins, Tainong No. 1, Tsar swanin
Thailand	Nam Doc Mai, Ngar Charn, Ok Rong, Keow Savoey, Pimsen Mum. Calypso, Kensington Pride.	
América del Norte y Central	Costa Rica	Haden, Irwin, Keitt, Mora, Tommy Atkins
	Dominic Republic	Haden, Keitt, Kent, Tommy Atkins
	Guatemala	Haden, , Keitt,, Kent, Tommy Atkins
	Haiti	Francine, Madame Francis.
	México	Ataulfo, Haden, Keitt, Kent, Manila, Palmer, Sensation, Tommy Atkins, Van Dyke.
	USA	Keitt, Kent, Tommy Atkins.
América del Sur	Brazil	Bourbon, Coite, Coquinho, Coracao, Espada, Haden, Itamaraca, Keitt, Mamao, Palmer, Rosa, Tommy Atkins, Uba, Van Dake.
	Colombia	Vallenato
	Ecuador	Haden, Keitt, Kent, Tommy Atkins.
	peru	Haden, Keitt, Kent, Tommy Atkins.
	Venezuela	Haden, Keitt, Kent, Tommy Atkins.

Tabla 3. Épocas de producción, distribución y características morfológicas de las principales variedades en México (Ballinas, 2013).

Variedad	Meses	Estados	Características
Ataulfo	Febrero-julio	Chiapas, Guerrero, Oaxaca, Colima Nayarit, Sinaloa	Color amarillo, tipo alargado (longitud desde 12.5 -14 cm) peso 180-260 g. contiene poco fibra
Haden	Febrero-agosto	Colima, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Nayarit, Sinaloa	Color rojo/amarillo, redondo, longitud 10.5-14 cm, anchura 9-10.5 cm, peso 510-680 g, poca fibra
Kent	Julio-agosto	Jalisco, Michoacán, Nayarit, Sinaloa, colima	Color rojo/amarillo, redondo, longitud 12-14 cm, anchura 9.5-11 cm, peso 450-700 g, poca fibra.
Tommy Atkins	Febrero - agosto	Michoacán, Jalisco, Colima, Guerrero, Nayarit, Sinaloa.	Color amarillo/rojo, redondo, longitud 12-14.5 cm, anchura 10-13 cm, peso 450-700 g, contiene fibra regular
Keitt	Abril-septiembre	Colima, Jalisco, Nayarit, Sinaloa.	Color rosado/amarillo, tipo redondo, longitud 13-15.5 cm, anchura de 9-11 cm, peso 510- 2000 g, contiene muy poca fibra.

Características de las variedades evaluadas.

Cv. "Mallika"

El árbol es enano moderadamente vigoroso con un dosel denso; La fruta es de color amarillo brillante sin rubor y numerosos pequeños puntos amarillos claros, oblongos con base redondeada, de 10-12 cm de largo por 6.5-7.5 cm de ancho por 5-5.5 cm de espesor, pesando 280- 450 g; La piel es gruesa. Resistente y fácil de separar; La pulpa es suave, tierna y jugosa, con poca fibra, de color amarillo oscuro a naranja, rica, fuertemente aromática y dulce. De excelente calidad; La semilla es monoembrionica dentro de un hueso grueso y leñoso. Este cultivar madura a mediados de temporada y es un productor irregular (Litz, 2009).

Cv. "Kesar"

Se caracteriza por su color dorado con tonos verdes. La fruta es ligeramente más pequeña en comparación con la variedad Alphonse. Los frutos son de tamaño mediano a grande (250 – 325 g por fruta), de forma oblonga con un atractivo color amarillo albaricoque claro. El sabor es muy bueno y la mezcla de azúcar / ácido es excelente. El cultivar está libre de tejido esponjoso y malformaciones. Árbol de frutos de excelente calidad con pulpa de color azafrán cuando maduro y delicioso. Excelente para frutas de mesa, de tamaño mediano con fibra de menos piedra. El fruto "Kesar" tiene de 18 a 22 por ciento TSS, 0,25 a 0.29 por ciento de acidez y de 10,5 a 12,0 por ciento de azúcares totales con capacidad de almacenamiento de 15 a 20 días (Chovatiya, 2015).

Cv. “Ataulfo”

El mango Ataulfo es el cultivar de origen mexicano con más aceptación en los mercados internacionales. Si bien su genealogía es incierta, pues se desconocen sus progenitores, se ha mencionado que posiblemente provenga de una mutación, o bien, sea producto de una hibridación natural. Deben pasar cerca de cien días desde la floración hasta la maduración de frutos en la variedad Ataulfo. Por tratarse de una planta alógama, sus flores deben ser polinizadas por insectos, tales como moscas y abejas. El peso promedio de los frutos del cultivar Ataulfo es de 200 a 300 g. El posicionamiento de este cultivar en los mercados está asociado a la calidad de la pulpa, el color amarillo intenso, la piel delgada, la semilla pequeña, el alto contenido de azúcar, el excelente aroma y sabor, por tener menos fibra que otros cultivares y su larga vida de anaquel (Infante *et al.*, 2011).

Cv. “Fairchild”

El árbol es moderadamente vigoroso, de color verde oscuro, las hojas son elípticas-lanceoladas, con una longitud media de 22 cm y una anchura media de 5,5 cm. La copa es densa. La fruta es oblonga-ovoide a oblongo-reniforme con un peso medio de 200 g y un intervalo de 180 a 240 g. longitud media de 9,2 cm; Ancho 6,6 cm; Y grosor de 5,7 cm. La superficie de la fruta es ondulada. El fruto base es aplanada, con un tallo delgado y ligeramente oblicuo no hay cavidad en la base de la fruta. El ápice está sin punta sin pico. La piel es delgada y tierna y generalmente adhesivo. Hay unas grandes lenticelas blancas y rojizas en la superficie del fruto. La pulpa es de color amarillo intenso, firme, derretida y jugoso no presenta fibra. El sabor es dulce, rico y su aroma es fuerte y agradable. Con semilla monoembriónica (Galán, 2009).

Cv. “Alphonse”

También conocido como “Appus”, “Badami”, “Gundu”, “Hapus”, “kagdi” y “khader Pasand”. El árbol es moderadamente grande con copa amplia, redonda y densa, el fruto es amarillo ovalado-oblicuo con un promedio de 6 cm de largo y 5 cm de ancho, peso 225-325 g (promedio de 226 g), la piel es delgada, la pulpa es firme a suave, Bajo en fibra, amarillo, dulce con aroma característico y con un sabor muy agradable preferido por muchos que conocen este cultivar, elevando precios de la prima en la India y mercados internacionales. La semilla es monoembrionica con hueso grande y leñoso; La calidad es excelente, madurando la fruta a mediados de temporada. (Prasad, 1977, Schnell et al., 1995).

Cv. “Neelum”

El árbol es moderadamente vigoroso con una pequeña y compacta copa; La fruta es de color amarillo brillante sin rubor con pequeños y numerosos puntos blancos, ovalados con base aplanada o ligeramente redondeada, 9,5 - 11 cm de largo por 7,5-8,5 cm de ancho por 6-6,5 cm de espesor, pesando 230-300 g; La piel es gruesa. Tierna y fácil de separar; La pulpa es suave, derretida y jugosa, sin fibra, de color amarillo fuerte, suave y dulce con un aroma deliciosamente agradable, de buena a excelente calidad; La semilla es monoembrionica, es un cultivar tardío (Litz, 2009).

Cv. “Nam Doc Mai”

El árbol es vigoroso, de tamaño mediano, con un dosel vertical y denso; La fruta es de color verdoso a amarillo brillante con un leve rubor rosado y pequeños y numerosos puntos verdes largos y alces, de forma sigmoide con una base redondeada, 17-19 cm de largo por 7.5-8.5 cm de ancho por 6.5-7.5 cm de espesor, con un peso de 340- 580 g; La piel es de espesor medio. Tierna y fácilmente separada de la pulpa que es suave, tierna y jugosa sin fibra, amarillo, rico, picante y muy dulce con aroma agradable, de excelente calidad; La semilla es poliembriónica. Este cultivar madura temprano a mediados de temporada, las frutas con regularidad y puede tener múltiples cultivos en una temporada. Es altamente resistente a la infección foliar, y resistente a la infección de la fruta por mancha negra bacteriana en Queensland (Litz, 2009).

ANTRACNOSIS

Importancia y etiología

La antracnosis del mango (*Mangifera indica* L.), producida por el hongo *Colletotrichum* sp., causa graves pérdidas económicas en diversos cultivos de regiones tropicales y subtropicales del mundo (Jeffries *et al.*, 1990; Ploetz, 1994; Prusky *et al.*, 2000). En México, se ha reportado como una enfermedad que afecta hojas, inflorescencias y frutos en las regiones productoras de mango, siendo el daño más importante en postcosecha (García, 1976; Mosqueda-Vázquez *et al.*, 1996; Allende-Molar *et al.*, 2003; Benítez-Camilo *et al.*, 2003). La antracnosis ataca ramas, flores, frutos en desarrollo y en postcosecha, se han reportado pérdidas del 50% a 100% en frutos producidos con alta humedad ambiental y sin manejo. La severidad en frutos en amarre inicial y tamaño de 8-15 mm de diámetro puede alcanzar hasta 70-80% cuando no se utiliza control químico (Arauz, 2000; Becerra-Leor, 1995; Monteon *et al.*, 2012).

La antracnosis es causada por dos especies de hongos relacionados. *Colletotrichum gloeosporioides* (teleomorfo: *Glomerella cingulata*), responsable en la mayoría de los casos (Dodd *et al.*, 1997), y *C. acutatum* (teleomorfo: *G. acutata*) que juega un menor rol en algunas localidades (Fitzell, 1979; Ploetz y Prakash, 1997; Tarnowski y Ploetz, 2008).

Síntomas

Afecta hojas, inflorescencias y frutos; el daño más importante consiste en tizón floral. Los síntomas en follaje consisten en manchas angulares oscuras de 3-5mm que pueden coalescer y necrosar áreas más extendidas, generalmente rodeadas de halo amarillo clorótico; el centro necrótico de las lesiones viejas puede secarse y caer dejando la hoja con perforaciones alargadas extendidas y de apariencia senescente. En inflorescencias aparecen manchas negras diminutas que provocan necrosis extensiva

(tizón) de flores y frutos pequeños que se desprenden fácilmente por el viento o lluvia dejando únicamente los raquis adheridos al árbol. Los frutos en desarrollo temprano afectados pueden permanecer momificados en panículas necróticas o ser abortados. En frutos con desarrollo cercanos a madurez se presentan infecciones quiescentes que originan manchas irregulares oscuras que pudren rápidamente la pulpa del fruto cuando está en senescencia. En tallos vegetativos tiernos, el hongo causa manchas necróticas hundidas o canchales (Jeffries *et al.*, 1990; Fitzell y Peak, 1984; Holguín *et al.*, 2009) (Figura 5).

Epidemiología

C. gloeosporioides produce conidios y ascosporas en acérvulos o peritecios en hojas, inflorescencias infectadas y frutos abortados o momificados, que son diseminados principalmente por salpique de agua de lluvia o viento. Después de la deposición sobre tejido susceptible, los conidios y ascosporas emiten un tubo germinativo y posteriormente forman apresorios melanizados que se constituyen como infecciones latentes (Jeffries *et al.*, 1990). Se desarrolla (germinación, formación de tubos germinativos y apresorios) óptimamente entre 25°C y 30°C de temperatura y 90 a 100 % de humedad relativa. Aun cuando la penetración puede ser por aberturas naturales, la penetración directa (hifa de penetración) es más común. Los órganos infectados constituyen reservorio de propágulos para infecciones (Estrada *et al.*, 2000; Osorio, 2008; Sangeetha y Rawal, 2009).

En Iguala, Gro., la severidad estuvo significativamente influenciada por la incidencia, densidad de esporas y precipitación pluvial, y exhibió curvas del progreso temporal de incidencia y severidad de tipo monomolecular y Gombertz (Acosta, 2002). En Michoacán, las epidemias de antracnosis floral fueron descritas adecuadamente por el modelo Weibull ($r^2 \geq 0.93$); la densidad de conidios se relacionó positivamente con la severidad ($r=0.74$) (Guillén, 2000).

Manejo

El control de las enfermedades se ha basado tradicionalmente en cuatro principios: exclusión, erradicación, protección y resistencia genética; La combinación del control genético, cultural, químico y legal conduce al control integral (Téliz, 1992). El manejo integrado de la enfermedad puede incluir variedades tolerantes, fungicidas protectores y curativos, podas sanitarias y de ventilación, incorporación de materia orgánica, riego optimizado, fertilización balanceada, reducción de fuentes de inóculo y adelanto de floración. Para disminuir la frecuencia y mejorar la eficiencia de los fungicidas es conveniente desarrollar modelos de predicción de riesgo de infección basados en factores abióticos relevantes como temperatura y humedad ambiental, así como también etapas susceptibles del hospedante, periodos de protección, tipo y modo de acción de los fungicidas (Acosta *et al.*, 2003; Guillen, 2000).

En México, el control químico de la antracnosis se ha basado principalmente en el uso de fungicidas benzimidazoles (Vega, 1994). Sin embargo, se han detectado frecuentes casos de resistencia de *C. gloeosporioides* a fungicidas de este grupo químico (Hsin *et al.*, 2009; Gutiérrez *et al.*, 2003). En contraste, compuestos triazoles, imidazoles, estrobilurinas y protectores multisitio han mostrado efectos satisfactorios y bajo riesgo de resistencia (Nieto *et al.*, 2003; Gutiérrez *et al.*, 2003; Sundravadana *et al.*, 2009).

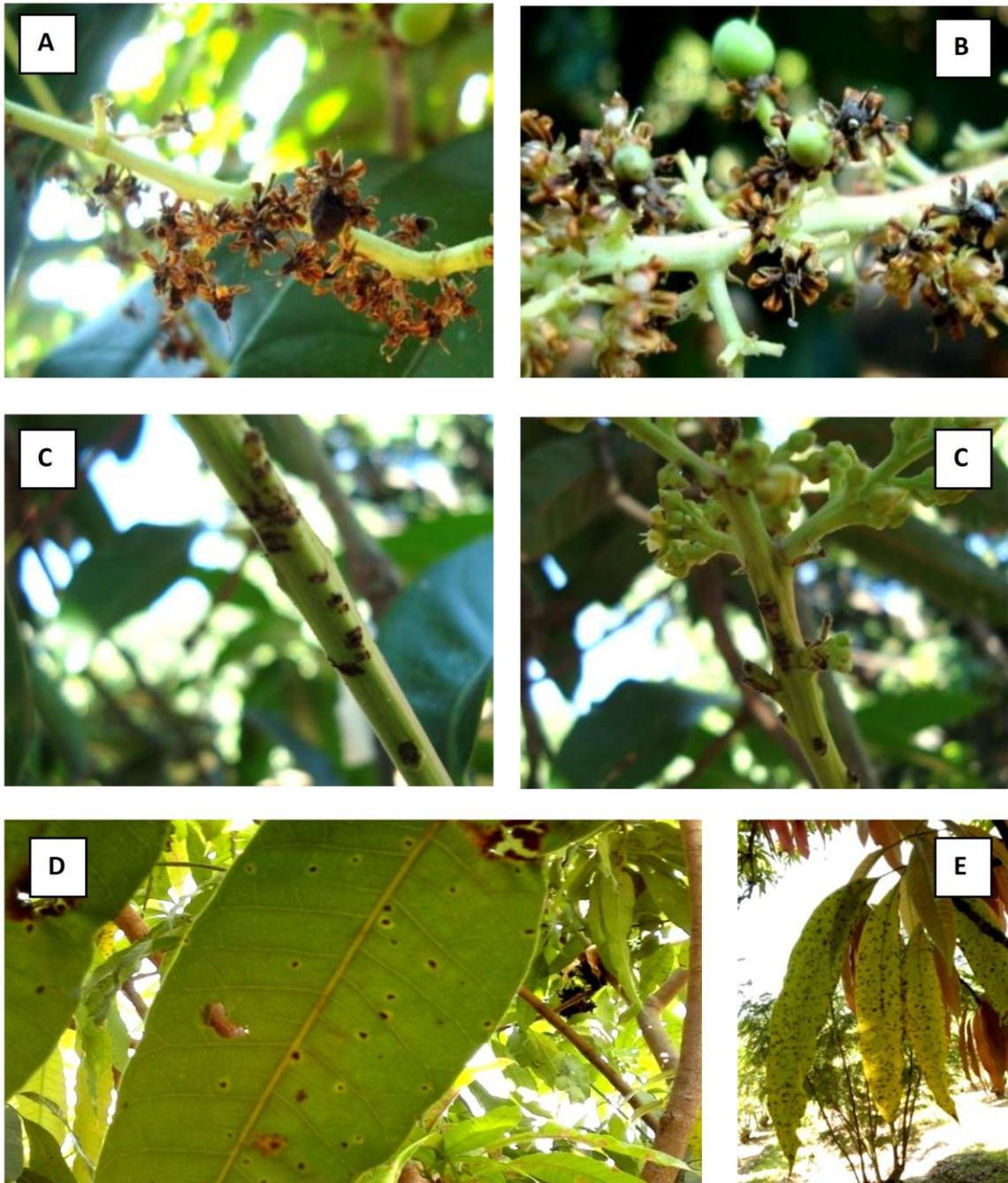


Figura 5. Síntomas de antracnosis (*C. gloeosporioides*) en mango (*Mangifera indica*) cv. Manila. Tizón floral y de fruto (A - B); Cancro de tallos vegetativos y reproductivos (C- D); Manchas foliares angulares (E- F).

LITERATURA CITADA

- ACOSTA, M.R.; NIETO-ÁNGEL D.; DOMÍNGUEZ-ÁLVAREZ, J.L.; DELGADILLO-SÁNCHEZ, J.L. Calidad y tolerancia en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) a la inoculación del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., en postcosecha. **Revista Chapingo. Serie Horticultura** 7(1): 119-130, 2001.
- ARAUZ, L. F. Mango Anthracnose: Economic Impact and Current Options For Integrated Managaement. *Plant disease*, 84(6), 600-611, 2000.
- AYALA-GARAY, A. V., ALMAGUER-VARGAS, G., LA TRINIDAD-PÉREZ, D., CAAMAL-CAUICH, I., RENDÓN, R. Competitividad de la producción de mango (*Mangifera indica* L.) en Michoacán. **Revista Chapingo. Serie horticultura**, 15(2), 133-140, 2009.
- BALLINAS, D. E. J., G. VELA, G., E. J. LÓPEZ, Z., O. A. AGUILAR, N., A. CABALLERO, R., P. I. MEZA, G., A. PÉREZ, J., L. E. FLORES, G., J. M. LEÓN, G. Mango: Cultivo, Tratamiento Pre y Postcosecha. Propiedades Nutrimientales y Funcionales. Editorial UNICACH. Universidad de Ciencias y artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. 73 p, 2013.
- BALLY, I. S. *Mangifera indica* (mango). *Traditional Trees of Pacific Islands. Their Culture, Environment, and Use*, 441-464, 2006.
- BECERRA-LEOR, E. N. Enfermedades del cultivo de mango. *Mata, BI y Mosqueda, VR*, 84-86, 1995.
- BIGGS, A.R.; MILLER, S.S. Relative susceptibility of selected apple cultivars to *Colletotrichum acutatum*. **Plant Disease**. 85:657-660, 2001.
- CARTAGENA, J. R., VEGA, D. El mango, *Manual de Asistencia Técnica, fruticultura colombiana*, (43), 19-27, 1992.
- CHOVATIYA, V. M., PARMAR, K. B., AGHERA, S. R. Bio-chemical Evaluation of Mango (*Mangifera Indica* L.) Cv. Kesar at Different Locations in Saurashtra Region (Gujarat). **Journal of Horticulture**, 2015.
- CONASPROMANGO, Consejo Nacional del Sistema Producto Mango. Plan Rector Nacional de Sistema Producto Mango. Comité Nacional Sistema Producto Mango. Tecomán, Colima, México. 57 p., 2012.

CRANE, J. H., BALERDI, C. F., MAGUIRE, I. Mango growing in the Florida home landscape. *Co-operative extension service, Institute of Food and Agricultural Services, University of Florida, Gainesville FL, (32)611*, 2006.

DENOYES-ROTHAN, B.G.; GUÉRIN, C.D.; SMITH, B.; MINZ, D.; MAYMON, M.; FREEMAN, S. Genetic diversity and pathogenic variability among isolates of *Colletotrichum* species from strawberry. **Phytopathology** 93(2): 219–228, 2003.

DILLARD, H.R. Effect of temperature, wetness duration and inoculum density on infection and lesion development of *Colletotrichum coccodes* on tomato fruit. **Phytopathology** 79(10): 1063-1066, 1989.

DODD, J.C.; PRUSKY, D.; JEFFRIES, P. Fruit diseases. *The mango: botany, production and uses. (Ed. RE Litz) pp*, 1997, p. 257-280, 1989.

FAOSTAT. 2016. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (consulta, febrero 2017).

FITZELL, R. D. *Colletotrichum acutatum* as a cause of anthracnose of mango in New South Wales [Australia]. **Plant Disease Reporter**, 1979.

GALÁN, S. El cultivo del mango. 2nd ed. Editorial Mundi-Prensa, S.A. de C.V. México, 341 p., 2009

GEHRKE-VÉLEZ, M. R. Viabilidad y germinación del polen en mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataúlfo. **Interciencia**, 36(5), 378-385, 2011.

INFANTE, F., QUILATÁN, J., ROCHA, F., ESQUINCA, H., CASTILLO, A., IBARRA NÚÑEZ, G. P. V. Mango Ataúlfo: Orgullo Chiapaneco. CONABIO. **Biodiversitas**, 96, 1-5, 2011.

KOSTERMAN, A.J.G.H., BOMPARD, J.M. The Mangoes: Their Botany, Nomenclature Ledin, R. B. (1957). Mangos in Mexico, 1993.

LITZ, R.E. The mango: botany, production and uses. 2nd ed. Oxfordshire, UK: CABI, 2006. 680 p.

Minaya, A., & Caro, J. *El mango en el Perú y sus vínculos con el mercado mundial*. Ministerio de Agricultura. 1999.

MONTEON, O.A., MORA A.J., VILLEGAS M.A., NAVA D.C., HERNÁNDEZ C.E., HERNÁNDEZ M.J. Temporal analysis and fungicide management strategies to control mango anthracnose epidemics in Guerrero, Mexico. **Tropical Plant Pathology**, 37(6), 375-385, 2012.

MORA, M. J., GAMBOA, P. J., MURILLO, R. E. Guía para el cultivo del mango. *San José: Ministerio de Agricultura y Ganadería*, 2002.

MORAL, J.; TRAPERO, A. Assessing the susceptibility of olive cultivars to anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. **Plant disease** 93(10): 1028-1036, 2009.

MOSQUEDA VÁZQUEZ, R. Manual para cultivar mango en la planicie costera del Golfo de México, 1996.

NAKASONE, H. Y., PAULL, R. E. (1998). Mango. *Tropical Fruits. CAB International, Wallingford*, 208-237.

PRASAD, A. Bearing behavior and fruit quality of South Indian varieties of mango in Northern India. **Indian Journal of Horticulture**, 34(4), 372-376, 1977.

RODRÍGUEZ, C. M., GUERRERO, B. M., SANDOVAL, R. Guía técnica el cultivo del mango. *CENTA, El Salvador*, 2002.

RODRÍGUEZ, M. C., GUARDIOLA, L. F., PACHECO, R. Aplicación de la ingeniería de matrices en la fortificación de mango (var. Tommy Atkins) con calcio. **Dyna**, 74(153), 19-26, 2007.

SCHNELL, R. J., RONNING, C. M., KNIGHT, R. J. Identification of cultivars and validation of genetic relationships in *Mangifera indica* L. using RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, 90(2), 269-274, 1995.

SERGENT, E. El cultivo del mango: botánica, manejo y comercialización, 1999.

SIAP. Servicio de información agroalimentaria y pesquera, 2016. Disponible en: <http://www.gob.mx/siap/> (consulta, febrero 2017)

TIVOLI, B.; BARANGER, A.; AVILA, C. M.; BANNIZA, S.; BARBETTI, M.; CHEN, W.; SADIKI, M. Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. **Euphytica**, v.147, n. 1-2, p. 223-253, 2006.

VARO, A., MORAL, J., LOZANO-TÓVAR, M. D., TRAPERO, A. Development and validation of an inoculation method to assess the efficacy of biological treatments against *Verticillium* wilt in olive trees. *BioControl*, 61(3), 283-292, 2016.

YAHIA, E. M., FLORES, J. D. J. A., YAHIA, R. E. M., PAZ, J. D. J. O., FLORES, R. A. El mango, 2006.

Capítulo I

DESARROLLO DE UNA TÉCNICA OPTIMIZADA DE INOCULACIÓN DE *Colletotrichum gloeosporioides* SOBRE HOJAS DE MANGO (*Mangifera indica* L.) CV. ATAULFO.

Monteon-Ojeda, A., Mora-Aguilera, J.A., Sandoval-Islas, J.S., De León-García De Alba, C., Vásquez-López, A., Hernández-Castro, E.

RESUMEN

Se desarrolló una técnica de inoculación alternativa para probar la patogenicidad de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en hojas de mango de cultivar "Ataulfo". Las cepas monospóricas de *C. gloeosporioides* de *Gro* y *Sin* fueron aisladas de hojas, flores, frutos y ramas con síntomas de antracnosis procedentes de huertos comerciales ubicados en los estados de Guerrero y Sinaloa, México y caracterizados por su carácter biológico y cultural. Estas cepas presentan un notable crecimiento micelial (2.2, 2.1 cm Ø / día), densidad de esporas (4.3×10^6 , 3.9×10^6 conidios mL⁻¹), tasas de germinación (27 y 26%) y virulencia (período de incubación 4.5 y 4.1 dai; Y 92% y severidad de 3,2 y 3,5 cm Ø). Los valores de incidencia y severidad más altos con el período de incubación más bajo se obtuvieron usando aislamiento *Gro* (1×10^5 conidios mL⁻¹) y monolaurato de polioxietileno-20-sorbitán como inoculante de esparadrapo inoculando sobre la superficie abaxial de hojas jóvenes desprendidas de 20 días con una Brocha suave e incubar en condiciones oscuras. Esta técnica de inoculación de hojas asegura la expresión óptima de virulencia de *C. gloeosporioides* y proporciona una diferenciación temprana clara entre cultivares de mango susceptibles y tolerantes a *C. gloeosporioides* en programas de mejora del mango (selección de cultivares tolerantes).

ABSTRACT

An alternative inoculation technique was developed to test pathogenicity of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango leaves of "Ataulfo" cultivar. *Gro* and *Sin* monosporic strains of *C. gloeosporioides* were isolated from leaves, flowers, fruits and branches with anthracnose symptoms from commercial orchards located in Guerrero and Sinaloa states, Mexico and were biological and cultural characterized. These strains show outstanding mycelial growth (2.2, 2.1 cm Ø /day), spore density (4.3×10^6 , 3.9×10^6 conidia mL⁻¹), germination rates (27 and 26%) and virulence (incubation period 4.5 and 4.1 dai; incidence 90 and 92% and severity 3.2 and 3.5 cm Ø). The highest incidence and severity values with the lowest incubation period, was obtained using *Gro* isolate (1×10^5 conidia mL⁻¹) and polyoxyethylene-20-sorbitan monolaurate as spreader-sticker e inoculating on the abaxial surface of detached young leaves 20 days old with a soft brush and incubating under dark condition. This inoculation technique of leaves assure the optimal virulence expression of *C. gloeosporioides* and provide an early clear cut differentiation between susceptible and tolerant mango varieties to *C. gloeosporioides* in Mango improvement programs (screening tolerant varieties).

INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.) es la tercera fruta tropical más importante del mundo, después de los plátanos (*Musa* sp.) Y las naranjas (*Citrus sinensis*). México es el principal exportador de mango del mundo y está entre los primeros siete países productores (FAO, 2013). La antracnosis es una de las enfermedades más importantes de este cultivo, causada principalmente por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) (Ploetz y Prakash, 2000, Prusky, 1994). *C. gloeosporioides* tiene una distribución cosmopolita en las regiones productoras de mango y afecta más severamente durante la floración, el establecimiento de frutos y la postcosecha (Carreon et al., 2010). La antracnosis causa pérdidas que varían de 50 a 100% y severidad de hasta 80% en frutos jóvenes (8-15 mm) con alta humedad ambiental y manejo agronómico inadecuado (Arauz, 2000, Becerra-Leor, 1995, Prusky et al., 2009). Los síntomas iniciales en las hojas consisten en pequeñas manchas oscuras con halo clorótico. Las lesiones pueden crecer y coalescerse hasta alcanzar ± 1.0 cm de diámetro. Las flores muestran pequeñas lesiones pardas en el eje primario y secundario que resultan en una especie de barrilete en la panícula (Lim y Khoo, 1985; Prusky, 1994). Una técnica de inoculación de *C. gloeosporioides* para determinar condiciones óptimas de infección, producción de síntomas y estudio de la relación del patógeno con sus huéspedes puede ser útil para probar la resistencia de nuevas cultivares de mango y establecer estrategias para manejar esta enfermedad (Denoyes-Rothan Et al., 2003, Dillard, 1989, Hong y Hwang, 1998, Moral y Trapero, 2008, 2009, Hernández et al., 2005). La mayoría de los estudios sobre etiología y epidemiología de *C. gloeosporioides* informan métodos de inoculación del patógeno en flores y frutos; Sin embargo, las investigaciones sobre las técnicas de inoculación de hojas son limitadas y operan con diferentes grados de eficiencia, siendo a menudo inconsistentes entre sí (Acosta y col., 2001; Biggs y Miller, 2001; Gutiérrez-Alonso et al., 2003; Moral y Trapero, 2009). Es relevante considerar que los huéspedes que son altamente susceptibles a la antracnosis en la etapa

vegetativa tendrán mayores tasas de epidemia debido a reinfecciones posteriores y mostrarán mayor severidad en las etapas reproductivas. Estos Los protocolos generalmente consideran los diversos componentes de las técnicas frecuentemente en forma independiente como densidades de inóculo y métodos de deposición, aditivos, estadios fenológicos y condiciones incubadas (Paéz, 1997). El objetivo de esta investigación fue generar una técnica de inoculación alternativa para *C. gloeosporioides*, optimizando algunos de los componentes más relevantes como virulencia aislada, densidad de conidios, deposición de inóculos en hojas, tensoactivos, fenología de cultivos y manejo de plantas para una rápida, efectiva y consistente Determinación de la tolerancia de los cultivares de mango en etapa vegetativa (cribado de genotipo juvenil).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio.

El estudio se realizó en la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y ambientales de la Universidad Autónoma de Guerrero, en Iguala, Guerrero, México (18 ° 25'N, 99 ° 35'W, 731 msnm). Las plantas de mango fueron de 18 meses de edad, injertadas con cultivar "Ataulfo", establecidas en macetas de plástico en un vivero cubierto de plástico transparente (calibre 600) y una malla de polipropileno, 50% de sombra. Las plantas fueron fertilizadas aplicando semanalmente una solución nutritiva Steiner (1,0 L por planta vertida en el suelo y 1,0 mL L-1 rociada en el dosel) y regada a la capacidad de campo cada tercer día. La temperatura, la humedad relativa y el fotoperiodo en el vivero se registraron cada dos horas con un registrador de datos Hobo®, modelo U12.

Obtención de cepas y caracterización del cultivo.

Se recolectaron hojas, flores, frutos juveniles y ramas vegetativas anuales con síntomas de antracnosis en huertos comerciales de mango localizados en los estados de Oaxaca, Guerrero,

Colima y Sinaloa, México. Se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% durante 2 min, se lavaron tres veces con agua estéril y se secaron con una toalla absorbente estéril antes de transferirlos a placas de Petri que contenían medio de patata-dextrosa-agar (PDA, DIFCO®, EE.UU.,). Las placas se incubaron a 28 °C durante siete días bajo condiciones alternas 12:12 h light:12 h oscuridad. Las colonias obtenidas se purificaron usando la técnica monospórica. Para evaluar la tasa de crecimiento, esporulación y germinación, se transfirió un disco de crecimiento de micelio PDA de 2 cm de diámetro de cada cepa a placas individuales con PDA e incubó a 22-25 °C durante siete días. El diámetro de la colonia se midió (cm) con un Vernier digital. Se realizaron cinco repeticiones por aislamiento (tratamiento). Para estimar la esporulación, se recolectaron cinco discos de crecimiento de micelio de 2 cm de diámetro por medio de aislamiento de cultivos de siete días de edad y se colocaron en una mezcladora (Oster® 500w) con 50 ml de agua destilada estéril y se mezclaron durante cuatro intervalos de dos segundos para promover el desprendimiento de conidios y acervos. El contenido filtrado a través de una malla metálica (200 mallas / pulgada²) se recogió en un vaso de precipitados de vidrio y se ajustó a 100 ml con agua destilada estéril. La suspensión de conidios se agitó en vórtice (Mixer®) durante 20 segundos y se estimó la concentración de conidios mL⁻¹ en cinco preparaciones usando una cámara Neubauer. La viabilidad de la germinación se cuantificó depositando una gota (50 µl) de inóculo (1x10⁵ conidios mL⁻¹) en una diapositiva excavada con una lámina de cubierta y se colocó en una placa de Petri en un disco de papel estéril húmedo para evitar la deshidratación. Las láminas se incubaron a 24 ± 3°C bajo condiciones de luz y oscuridad de 12:12. Los conidios que emitieron tubos germinativos más largos que el cuerpo de los conidios se cuantificaron después de 48 h mediante microscopía óptica. Se cuantificaron cinco láminas (unidades experimentales) por aislamiento (tratamiento) en cada condición. Se utilizó un diseño estadístico completamente aleatorio y se realizaron análisis de varianza (GLM) y media de separación (LSD, p ≤ 0.05) con el

software estadístico SAS v.9.1.3 (SAS Institute Inc, 2012). Aditivos y viabilidad conidial. Gro aislados a una densidad de 1×10^4 conidios mL^{-1} se mezclaron por separado con 0,1% de monolaurato de polioxietileno-20-sorbitán (Tween 20®), 0,1% de mezcla comercial de isoparafina de poliglicol etoxilado (Soltrol®) y 0,1% de alcoholes de aril-polietoxietanol (Inex-A®). El agua destilada estéril se incluyó como control. Se colocó una gota de cada suspensión en un portaobjetos excavado, se cubrió y se colocó en una placa de Petri en un disco de papel estéril húmedo para evitar la deshidratación y se incubó a 24 ± 3 °C en oscuridad continua. La germinación conidial se cuantificó a las 24 y 48 h con un microscopio estereoscópico Olympus®. Se utilizaron cinco láminas (unidades experimentales) por cepa (tratamiento). Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar y se realizaron análisis de varianza (GLM) y media de separación (LSD, $p \leq 0.05$) con el software estadístico SAS v.9.1.3 (SAS Institute Inc, 2003).

Evaluación la virulencia en hojas desprendidas.

El período de incubación (P_i), la incidencia y la severidad de cada uno de los aislados (Tabla 4) se evaluaron utilizando la técnica de inoculación de hoja separada (Rojas-Martínez et al., 2008), modificada para este estudio. Los brotes vegetativos se marcaron en cv. "Ataulfo" planta en el vivero para observar desarrollo foliar; Las hojas fueron cortadas cuando tenían 20 días de edad. Las hojas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0,5% durante 30 s, se enjuagaron tres veces con agua destilada en autoclave y se secaron con una toalla estéril. Anteriormente se desinfectaron $25 \times 35 \times 10$ cm (L, W, D) con hipoclorito de sodio (5%), se limpiaron con alcohol (95%) y se dejaron en un gabinete de flujo laminar hasta secar. A continuación, el fondo del recipiente se cubrió con toallas estériles humidificadas hasta saturación con agua destilada en autoclave. Las hojas de mango desinfectadas y secadas se colocaron sobre las toallas húmedas dentro del recipiente de plástico. Se inoculó la mitad de cada hoja (con respecto al nervio central) depositando (sin heridas) tres gotas ($50 \mu\text{l}$) de una suspensión conidial (1×10^5 conidios mL^{-1}) sobre

la superficie adaxial y abaxial de las hojas. Cada gota se colocó por separado, equidistante, aproximadamente 15 mm del nervio central de cada hoja para generar lesiones individuales. Los envases de plástico con las hojas inoculadas se cubrieron con polietileno transparente y se incubaron a $24 \pm 3^\circ\text{C}$, bajo condiciones de oscuridad: luz 12:12 y humedad relativa del 100% durante ocho días. Se colocaron cinco hojas en cada recipiente (unidades experimentales) y se evaluaron cinco recipientes por cepa (tratamientos). El Pi y la incidencia fueron cuantificados. La severidad se determinó ocho días después de la inoculación (dai) midiendo cada diámetro de lesión (cm) con un Vernier digital. Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar y se realizaron análisis de varianza (GLM) y media de separación (LSD, $p \leq 0.05$) con el software estadístico SAS v.9.1.3 (SAS Institute Inc, 2003).

Densidades del inóculo.

CV. Se inocularon hojas de mango de 20 días de edad "Ataulfo" con la cepa Gro debido a su alta virulencia, usando 1×10^4 , 1×10^5 , 4×10^5 y 1×10^6 conidias mL^{-1} con monolaurato de polioxietilen-20-sorbitán (0,1%) usando la técnica de hoja separada descrita anteriormente. En este ensayo, el inóculo se depositó sólo sobre la superficie abaxial de la aleta. Los recipientes de plástico con las hojas inoculadas se incubaron a $24 \pm 3^\circ\text{C}$ en condiciones de oscuridad 12:12 alternas: luz y 100% de humedad relativa. Se inocularon cinco hojas por contenedor (unidad experimental) y se evaluaron cuatro recipientes (replicados) por tratamiento (dosis). El Pi y la incidencia fueron cuantificados. La severidad se evaluó después de ocho días, considerando el diámetro de cada lesión (cm) con un Vernier digital. Se utilizó un diseño completamente al azar y se realizó un análisis de varianza (GLM) y separación media (LSD, $p = 0,05$) con el software estadístico SAS v.9.1.3 178 (SAS Institute Inc, 2003).

Inoculación en plantas de vivero.

Plantas de mango de vivero cv. Ataulfo, de 18 meses de edad, con características de crecimiento y vigor similares fueron seleccionados para este estudio. Se marcaron los brotes vegetativos y cuando las hojas tuvieron 20 días de desarrollo se recogieron y desinfectaron con solución de NaCl al 0,5% durante 30 s, se enjuagaron tres veces con agua destilada en autoclave con un pulverizador portátil de mano (Swissmex®) y se dejaron secar durante 10 minutos. Se evaluaron cinco procedimientos de inoculación: 1) pulverización manual, 2) contacto con un hisopo de algodón, 3) contacto con un brocha suave (pelo de camello), 4) contacto con un paño de algodón y 5) contacto directo con el micelio. La inoculación se realizó en la superficie abaxial y adaxial de las hojas inoculando en la mitad de la hoja, considerando el nervio foliar central como referencia. Se utilizó una concentración 1×10^5 de conidios ml^{-1} suspendido en monolaurato de polioxietileno-20-sorbitán (0,1%) de aislamiento Gro. Se inocularon cinco hojas por planta (unidad experimental) y se evaluaron cuatro plantas (repeticiones) por tratamiento (procedimiento de inoculación). La inoculación se realizó antes de la puesta del sol a las 18:00 h (± 300 -450 lm), las hojas inoculadas se cubrieron con una bolsa de plástico oscura durante 12 horas y las plantas se mantuvieron en un vivero cubierto con malla de sombra (70% de sombra) hasta que aparecieron los síntomas. Pi y la incidencia se determinaron. Se evaluó la severidad de 15 dai a través de imágenes digitales, estimando el área afectada (%) de cada hoja utilizando el software GIMP 2.0 para Windows™. En el vivero la temperatura osciló entre 29 y 31°C, la humedad relativa del 85-90% y el fotoperiodo 12 ± 1 h de luz. Estas variables se registraron cada dos horas con un registrador de datos Hobo®, modelo U12. Se utilizó un diseño estadístico de bloques completamente al azar y se realizó un análisis de varianza y separación media (LSD, $p \leq 0.05$) utilizando el software estadístico SAS v.9.1.3 (SAS Institute Inc, 2003).

Análisis estadístico.

El análisis de varianza y la separación media (LSD, $p \leq 0.05$) para las variables de incidencia, severidad y períodos de incubación para los bioensayos de hojas desprendidas y adjuntas se realizaron utilizando SAS Software v.9.1.3 (SAS Institute Inc, 2008). Con el fin de detectar correlaciones entre estas variables, las pruebas de correlación de Pearson y análisis de regresión lineal y de potencia (log-log) se realizaron utilizando SigmaPlot para obtener los valores P y r.

RESULTADOS

Aislamientos, virulencia y tejido susceptible.

Las cepas monospóricas Gro, Col, Oax, Sin y Tux se aislaron de tejido de mango infectado; Gro y Sin mostraron la mayor tasa de crecimiento, densidad de esporulación y germinación (Tabla 4). Estos factores se correlacionan con la virulencia (Estrada et al., 1997, Heale et al., 1989, Montesinos-Matías et al., 2011). Observamos que Gro y Sin indujeron la mayor incidencia y severidad en hojas desprendidas (Tabla 5) ($p < 0,05$). La germinación conidial más alta se registró en la oscuridad; La incubación sin luz favorece el inóculo y ejerce la presión más alta sobre el tejido del mango (Maddison y Manners, 1973; Willocquet et al, 1996). El período de 12h de oscuridad seguido por 12 h de luz natural estimuló la germinación de conidios y favorece el establecimiento de la infección. La inoculación en la superficie abaxial sin heridas dio como resultado, en un corto período de incubación, la mayor incidencia y severidad (Tabla 5).

Tabla 4. Crecimiento micelial, densidad de esporulación y tasas de germinación conidial de cinco aislamientos de *C. gloeosporioides* obtenidos de huertos comerciales en cinco estados productores de mango de México.

Isolate	Conidia mL ⁻¹ in			
	Diameter of colonies (cm) ¹	micelial growth disc (2.0 cm Ø) ¹	% Germination in light (300 lm) ¹	% Germination in dark ¹
<i>Gro</i>	2.27 a	4,367,436 a	27.33 a ¹	61.00 a ¹
<i>Sin</i>	2.10 a	3,992,519 a	26.50 a	64.75 a
<i>Tux</i>	2.45 a	572,439 b	14.75 b	38.50 b
<i>Col</i>	1.45 b	1113 c	15.50 b	21.75 c
<i>Oax</i>	1.45 b	4875 c	17.33 b	22.33 c
LSD (5%)	0.32	1.7x10 ⁶	4.07	9.53
CV (%)	10.76	63.24	9.95	11.19

¹ de crecimiento después de siete días de incubación en medio PDA y 12:12 condiciones de luz y oscuridad.
²Germinación in vitro a una densidad de 1x10⁵ conidios / mL y 48 h de incubación en condiciones 12:12 luz-oscuridad.
³ Los valores con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tuckey p <0,05). CV = Coeficiente de variación. LSD = Diferencia de menor importancia.

Tabla 5. Virulencia de cinco aislamientos de *C. gloeosporioides* inoculados a una densidad de 1×10^5 conidios mL⁻¹ sobre las superficies adaxial y abaxial de hojas de mango cv. "Ataúlfo", de 20 días de antigüedad, utilizando la técnica de inoculación de hojas desprendidas.

Isolate	Incubation period (dai) ¹		% of Incidence ¹		% of severity ¹	
	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial
<i>Gro</i>	5.12 dc ³	4.57 de ³	81.25 b ³	90.50 a ³	2.57 b ³	3.27 a ³
<i>Sin</i>	5.25 dc	4.17 e	77.50 cb	92.25 a	3.12 ba	3.50 a
<i>Col</i>	7.25 a	6.50 ba	71.25 cd	71.25 cd	0.87 c	1.02 c
<i>Oax</i>	7.25 a	6.00 bc	58.75 f	65.50 ed	0.75 c	1.30 c
<i>Tux</i>	7.30 a	6.33 ba	60.00 ef	63.33 ef	0.77 c	0.76 c
Control ²	0	0	0	0	0	0
LSD (5%)	0.98		6.35		0.6	
CV (%)	11.34		5.68		18.87	

¹ Parámetros fitosanitarios ocho días después de la inoculación (dai), ²Control inoculado con agua destilada estéril. ³ Los valores con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tuckey $p < 0,05$). CV = Coeficiente de variación. LSD = Diferencia de menor importancia.

Aditivos, viabilidad de conidios y densidades de inóculo.

La tasa de germinación más alta se observó cuando los conidios se suspendieron en agua y monolaurato de polioxietileno-20-sorbitán (Tabla 6). Debido a sus propiedades tensoactivas, de adherencia y dispersión, el monolaurato de polioxietileno-20-sorbitán ha sido utilizado por algunos investigadores para maximizar el tiempo y la uniformidad del contacto del inóculo con el tejido foliar; Siendo un material tensoactivo no iónico, permite la rotura de cohesión de las gotas pulverizadas (Frias et al., 1995; Griffin, 1954). Tres densidades de inóculo (1×10^5 , 4×10^5 y 1×10^6) ($p \leq 0.05$) dieron como resultado la mayor severidad de la antracnosis con el corto periodo de incubación en hojas de mango desprendidas (Tabla 4). Utilizamos 1×10^5 conidios mL⁻¹ de densidad, ya que algunos de los aislamientos tenían menor tasa de esporulación y esta

concentración era más factible de obtener en el laboratorio de un menor número de colonias de hongos.

Tabla 6. Viabilidad germinativa del aislamiento Gro (*Colletotrichum gloeosporioides*) in vitro a una densidad de 1×10^5 conidios mL⁻¹ utilizando tres aditivos con diferentes propiedades tensoactivas, de adherencia y dispersión después de la incubación a las 24 y 48 h.

Additives	% Germination at	% Germination at
	24 h ¹	48 h ¹
Conidia + Water	33.10 a ²	74.75 a ²
Conidia + polyoxyethylene-20-sorbitan monolaurate (Tween 20®) (0.1 %)	33.35 a	73.00 a
Conidia + aryl-polyethoxy ethanol alcohols (Inex-A®) (0.1%)	20.00 b	42.00 b
Conidia + ethoxylated polyglycol (Soltrol®) (0.1%)	13.27 c	25.25 c
LSD (5%)	3.00	9.79
CV (%)	5.77	8.56

¹Ahorro de cinco preparaciones por tratamiento, temperatura 24 ± 3 ° C en oscuridad. ² Los valores con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tuckey $p < 0,05$). CV = Coeficiente de variación. LSD = Diferencia de menor importancia.

Métodos de inoculación y evaluación de la severidad.

El método de inoculación de la hoja de mango desprendida (Tablas 4 y 5) fue efectivo para evaluar la patogenicidad (Inc) y los factores de virulencia (Pi, severidad) del aislamiento experimental de Gro, que mostró la mayor capacidad parasitaria para ser incluida en la técnica de inoculación generada en este estudio. Se observó que las hojas de 20 días de edad son las más susceptibles a la antracnosis (en comparación con hojas mayores de 25 días, datos no mostrados). El uso de un brocha blanda, seguido de lavado con algodón y pulverización conidial fue el método más eficaz para inocular y reproducir adecuadamente los síntomas de antracnosis en la superficie abaxial de las hojas de la planta en condiciones de vivero ($p < 0,05$). El software GIMP 2.0 para Windows™ nos permitió determinar la proporción real del tejido dañado y evitar sobre o subestimación que ocurre con frecuencia cuando se utiliza un diagrama pictórico. Un método similar de análisis de imágenes digitales fue utilizado satisfactoriamente por Saucedo-Acosta et al. (2015) para evaluar la severidad de Puccinia triticina en trigo a través del software ImageJ 1.0 para Windows™, por lo que se sugiere utilizar este tipo de procedimientos digitales para cuantificar la severidad de otras enfermedades foliares.

Tabla 7. Evaluación de la antracnosis en cuatro concentraciones de conidios de aislamiento de Gro (*Colletotrichum gloeosporioides*) suspendido en polisorbato 20 (0,1%) inoculado en la superficie abaxial de hojas de mango cv. "Ataúlfo", de 20 días de antigüedad, utilizando la técnica de inoculación de hojas desprendidas.

Conidial concentration (conidiosmL⁻¹)	Incubation period (dai)¹	Incidence¹	% Severity¹
1x10 ⁴	5.60 a ³	95.00 a ³	2.10 a ³
1x10 ⁵	4.22 b	92.50 a	3.32 b
4x10 ⁵	4.17 b	93.25 a	3.32 b
1x10 ⁶	4.15 b	92.25 a	3.45 b
Control ²	0	0	0
LSD (5%)	0.73	7.25	0.64
CV (%)	7.58	6.70	10.45

¹ parámetros fitosanitarios ocho días después de la inoculación (dai), promedio de cinco hojas por tratamiento, incubación a 24 ± 3 ° C y 100% HR, 12:12 luz: oscura. ² Control inoculado con agua destilada estéril en polisorbato 20 (0,1%). ³ Los valores con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tuckey p <0,05). CV = Coeficiente de variación. LSD = Diferencia de menor importancia.

Tabla 8. Evaluación de la antracnosis de cinco métodos de deposición de inóculo del aislamiento Gro (*Colletotrichum gloeosporioides*) suspendido en polisorbato 20 (0,1%) a densidad 1×10^5 conidios mL⁻¹ en hojas de mango cv. "Ataúlfo" 20 días en condiciones de vivero.

Method of deposition	Incubation period (dai) ¹	Incidence ¹	% Severity ¹
Contact with a soft brush (camel hair)	6.57 b ³	49.75 a ³	5.30 a ³
Contact with a cotton swab	6.25 b	29.50 b	2.62 b
Manual spraying	8.30 b	19.00 c	2.16 cb
Contact with cotton cloth	12.45 a	8.05 d	1.37 c
Direct mycelium contact	12.40 a	5.42 d	1.45 c
Control ²	0	0	0
LSD (5%)	3.27	6.83	0.98
CV (%)	18.21	15.45	19.64

¹ Parámetros fitosanitarios 15 días después de la inoculación (dai), promedio de cinco hojas por tratamiento, incubación entre 29 y 31 °C, humedad relativa entre 85 y 90% y fotoperiodo 12 ± 1 h light. ² Control inoculado con agua destilada estéril en polisorbato 20 0,1%). ³ Los valores con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tuckey $p < 0,05$). CV = Coeficiente de variación. LSD = Diferencia de menor importancia.

Análisis de correlación.

La severidad y la incidencia en la técnica de la hoja desprendida se correlacionan significativamente con el período de incubación ($r = 0,74$ años = $0,87$) (Figura 6), además se encontró una alta relación entre la severidad y la incidencia de la técnica. Figura 6), también se encontró una alta relación entre las severidades de las técnicas de hoja desprendida y adherida ($r = 0.97$) (Figura 6).

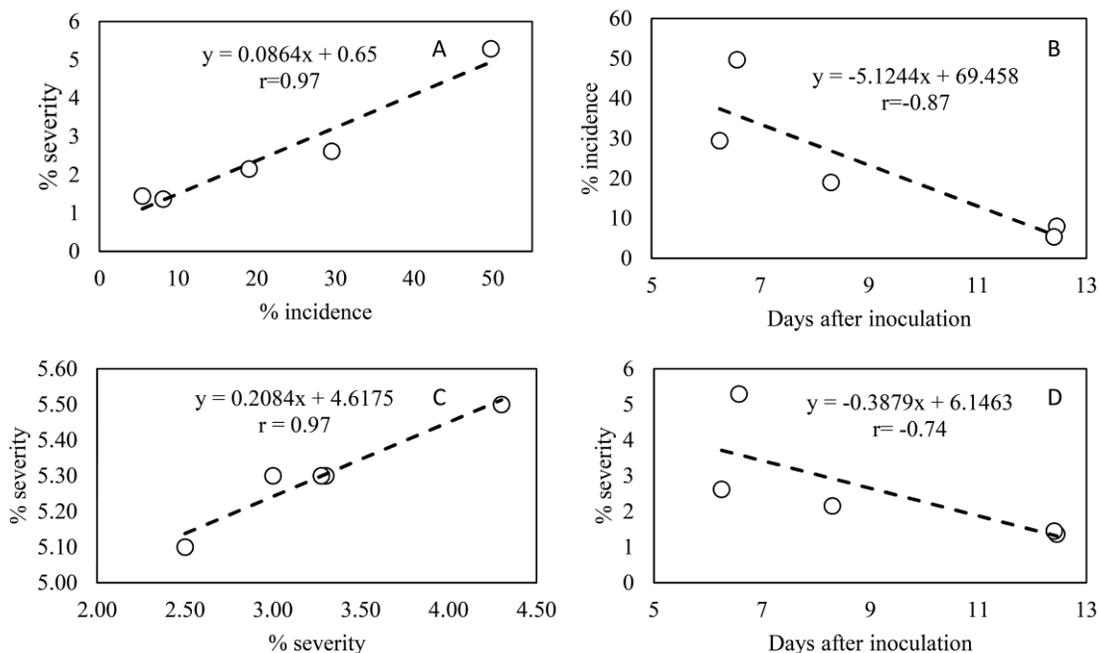


Figura 6. Análisis de regresión lineal de las variables severidad, incidencia y período de incubación, en hojas de 15 días de desarrollo de la cv. Ataulfo de mango (*Mangifera indica*) inoculadas con *Colletotrichum gloeosporioides* con técnicas de hoja desprendida (DLT: A, B, D. Correlación entre la estimación visual y digital de la severidad en DTL y ALT (C) r = Coeficiente de correlación de Pearson.

DISCUSIÓN

Colocar el inóculo en la superficie abaxial de hojas viejas de 20 días en condiciones oscuras a una concentración de 1×10^5 conidios mL^{-1} del aislamiento Gro suspendido en monolaurato de polioxietileno-20-sorbitán al 0,1%, utilizando un brocha suave para no causar Cualquier herida, fue la mejor opción integrada para reproducir de manera consistente los síntomas de antracnosis con la mayor calidad (mayor incidencia y severidad, menor Pi) en hojas de plantas de mango en condiciones de vivero. Los aislados Gro y Sin, obtenidos de los estados de Guerrero y Sinaloa, México, mostraron mejores factores de virulencia y virulencia (Tablas 1 y 2), resultados similares fueron reportados por Gutiérrez-Alonso et al. (2001), que caracterizó cepas de *C. gloeosporioides* de varias regiones productoras de mango en México a través de estudios de morfología, morfometría, tasa de germinación, crecimiento, esporulación y patogenicidad. Por otra parte, Nelson et al. (2014) y Moral et al. (2009) encontraron que la incubación en la oscuridad a 25 °C favoreció la infección exitosa y la presencia de síntomas en frutos de mango inoculados con *Colletotrichum* spp. En este estudio 12 h de oscuridad estimularon la germinación de conidios y el establecimiento de la infección. Moral et al. (2009), Nelson y col. (2014) y Than et al. (2008) informaron que el uso de un fotoperíodo de 12 h dio lugar a infecciones exitosas y síntomas típicos de antracnosis en varios huéspedes.

Gutiérrez-Alonso et al. (2001) y Jayasankar et al. (1999) encontraron que el monolaurato de polioxietileno-20-sorbitán en suspensiones de conos de *C. gloeosporioides* para inocular frutos de mango resultó en la tasa de germinación más alta. Aunque la pulverización conidial con agua induce altos valores de germinación, será mejor utilizar un surfactante para evitar una rápida deshidratación y prolongar la viabilidad del inóculo, así como para mejorar la calidad de la infección. Sugerimos utilizar una densidad de conidios de 1×10^5 conidios mL^{-1} para inducir adecuadamente los síntomas de la

enfermedad. Este resultado fue similar al descrito por Alemu et al. (2014) que obtuvieron síntomas típicos cuando inocularon frutos de mango con la misma densidad de *C. gloeosporioides* conidia mL⁻¹ para evaluar la actividad antifúngica de los extractos botánicos y coincidió parcialmente con Kuc y Richmond (1977), que no encontraron diferencias significativas en Antracnosis (*C. gloeosporioides*) incidencia y severidad al inocular frutos de mango con densidades de 1x10⁵ y 1x10⁷ conidios mL⁻¹. El método de inoculación de hojas desprendidas fue útil para evaluar la virulencia de los aislados experimentales de mango, este procedimiento fue análogo al usado satisfactoriamente para clasificar la alta virulencia de cepas de *C. gloeosporioides* mango (Rojas-Martínez et al., 2008) *C. lindemuthianum* (Tu, 1986) a través de un método de hojas desprendidas. La superficie abaxial de las hojas desprendidas fue más susceptible, probablemente debido a la cutícula superior, son más duras y contienen capas más gruesas de cera que contribuyen a la pérdida de inóculo por derrame como documentado para *C. lindemuthianum* en el frijol (Tu, 1986). Las hojas de 20 días de edad fueron altamente susceptibles según lo documentado por Rojas-Martínez et al. (2008) que indujeron síntomas de antracnosis inoculando hojas de mango de 15 días de desarrollo. No se encontró bibliografía sobre la susceptibilidad de las etapas fenológicas de las hojas de mango a la antracnosis; Sin embargo, se ha documentado la susceptibilidad diferenciada de los órganos del huésped (hojas, frutos) a la infección patógena según su edad (Aranzazu, 1999; Espinosa et al., 2004). Las hojas más jóvenes pueden presentar síntomas más severos del oídio (*Oidium mangiferae*) en el mango (Sinha et al., 2002) y promover más conidios germinados y mayor longitud de lesiones esporuladas de *Uncinula necator* en *Vitis vinifera* (Doster y Schnathorst, 1992). Este protocolo optimizado es particularmente útil en proyectos de investigación donde es necesario asegurar la expresión óptima de parasitismo y virulencia del patógeno, así como reproducir la antracnosis con mayor eficiencia y calidad para medir con mayor precisión el desarrollo de la enfermedad y el beneficio Efecto de los tratamientos de control.

Esto también es cierto en los programas genéticos de mejoramiento del mango que consideran la evaluación temprana de las cultivares tolerancia a *C. gloeosporioides* en la etapa vegetativa (selección de cultivares) cuando no es posible evaluar los parámetros de incidencia y severidad en los tejidos reproductivos debido a la condición juvenil del Plantas. Es relevante considerar que los huéspedes que son altamente susceptibles a la antracnosis en la etapa vegetativa tendrán tasas epidémicas más altas debido a reinfecciones posteriores y mostrarán mayor severidad en las etapas reproductivas.

En el presente estudio se pudo observarse que en general, los periodos de incubación más prolongados determinaron la menor severidad y la incidencia La relación entre estas variables fue informada por Chala et al. (2010), quienes relataron la correlación significativa ($r^2 = 0.86-0.92$) entre la incidencia y severidad de antracnosis en hojas de *Sorghum vulgare* inoculadas con *C. sublineolum*. Además se observó la concordancia en la severidad observada en las técnicas, DLT o ALT, mostrando altos niveles de relación, estas interrelaciones entre las variables sanitarias evidencia que la inoculación en el laboratorio ofrece importantes para detectar la tolerancia con mayor rapidez. Miles et al. (2012) demostraron que diferentes técnicas de inoculación de *C. acutatum* en los frutos desprendidos (aspersión, goteo e inyección) de diferentes genotipos de arándanos (*Vaccinium corymbosum*) operan con la misma eficiencia, el aspecto que comprueba la efectividad de este tipo de metodología cuando es Necesaria una evaluación rápida de la resistencia a un patógeno de importancia económica.

CONCLUSIONES

- Los periodos de incubación más prolongados determinaron la menor severidad y la incidencia.
- Ambas técnicas fueron altamente efectivas para la inducción de síntomas de antracnosis en hojas.
- Se observó concordancia en la severidad calculada en ambas técnicas de inoculación.
- Las técnicas de hojas desprendidas y unidas son útiles para inducir la antracnosis y estimar la expresión de virulencia de *C. gloeosporioides*, sin embargo, la técnica de hojas desprendidas promueve los valores más altos de la enfermedad y aumenta la eficiencia del trabajo experimental.
- El procesamiento digital de imágenes es una herramienta útil para la evaluación precisa de la antracnosis vegetativa del mango y puede ser incorporado en la evaluación de diferentes interacciones parasitarias.

LITERATURA CITADA

- ACOSTA, M.R.; NIETO-ÁNGEL D.; DOMÍNGUEZ-ÁLVAREZ, J.L.; DELGADILLO-SÁNCHEZ, J.L. 2001. Calidad y tolerancia en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) a la inoculación del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., en postcosecha. Revista Chapingo Serie Horticultura 7(1): 119-130.
- AINSWORTH, G.C.; SPARROW, F.K.; SUSSMAN, A.S. 1973. The Fungi. An Advanced Treatise. Academic press, Inc. New York, vol IV, 621 pp.
- ALEMU, K.; AYALEW, A.; WELDETSADI, K. 2014. Evaluation of antifungal activity of botanicals for postharvest management of mango anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). International Journal of Life Sciences 8(1): 1-6.
- ARANZAZU, F. 1999. Determinación de la presencia de enfermedades quiescentes causadas por 318 (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en: Frutos de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*). Convenio CORPOICA-PRONATTA. 20 p.
- ARAUZ, L.F. 2000. Mango anthracnose: economic impact and current options for integrated management. Plant disease, 84(6): 600-611.
- BARNETT, H.L.; Hunter, B.B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th Edition, APS Press, Minnesota.
- BECERRA-LEOR, E.N. 1995. Enfermedades del cultivo del mango. In: Mata-Beltrá I, Mosqueda-Vázquez R (Eds.) La Producción de Mango en México. Noriega Editores, México. pp. 83–101.
- BIGGS, A.R.; MILLER, S.S. 2001. Relative susceptibility of selected apple cultivars to *Colletotrichum acutatum*. Plant Disease. 85:657-660.
- CARREÓN, S.L.; BALDERAS, K.A.; WONG, M.A.; ROSAS, D.R.; Fentanes, E.G. 2010. Biofungicidas para el control de la antracnosis del mango: logrando frutos de alta calidad internacional para mercados exigentes. Revista Claridades Agropecuarias 20:8.
- CHALA, A.; BRURBERG, M.B.; TRONSMO, A.M. 2010. Incidence and severity of sorghum anthracnose in Ethiopia. Plant Pathology Journal (Faisalabad), 9(1): 23-30.

- DENOYES-ROTHAN, B.G.; GUÉRIN, C.D.; SMITH, B.; MINZ, D.; MAYMON, M.; FREEMAN, S. 2003. Genetic diversity and pathogenic variability among isolates of *Colletotrichum* species from strawberry. *Phytopathology* 93(2): 219–228.
- DILLARD, H.R. 1989. Effect of temperature, wetness duration and inoculum density on infection and lesion development of *Colletotrichum coccodes* on tomato fruit. *Phytopathology* 79(10): 1063-1066.
- DOSTER, M.A.; SCHNATHORST, W.C. 1985. Comparative susceptibility of various grapevine cultivars to the powdery mildew fungus *Uncinula necator*. *American Journal of Enology and Viticulture* 36(2): 101-104.
- ESPINOSA, A.J.; ARIAS, S.J.; RICO, P.H.; MIRANDA, S.M.; CHÁVEZ, C.X. 2004. Dinámica del daño y control de la antracnosis *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) en mango de Michoacán. INIFAP. Folleto Técnico. Núm. 5. 1-28 pp.
- ESTRADA-VALENCIA, M.N.; VÉLEZ-ARANGO, P.E.; MONTOYA-RESTREPO, E.C. 1997. Caracterización de cultivos monospóricos del hongo *Beauveria bassiana*. *CENICAFÉ* 48(4): 217–224.
- FAOSTAT. 2013. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en: http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E Accedido en octubre 24, 2016.
- FRIAS, G.A.; PURDY, L.H.; SCHMIDT, R.A. 1995. An inoculation method for evaluating resistance of cacao to *Crinipellis perniciosa*. *Plant Disease* 79(8): 787-791.
- GRIFFIN, W.C. 1954. Calculation of HLB values of non-ionic surfactants. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists* 5(4): 249-56.
- GUTIÉRREZ-ALONSO, J.G.; NIETO-ÁNGEL, D.; TÉLIZ-ORTIZ, D.; ZAVALA-MEJÍA, E.; VAQUERA-HUERTA, H.; MARTÍNEZ-DAMIÁN, T.; DELGADILLO-SÁNCHEZ, F. 2001. Características de crecimiento, germinación, esporulación y patogenicidad de aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. obtenidos de frutos de mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 19:90-93.
- GUTIÉRREZ-ALONSO, O.; GUTIÉRREZ, J.G.; NIETO, D.A.; TÉLIZ, D.O.; ZAVALA, E.M.; DELGADILLO, F.S.; VAQUERA, H.H. 2003. Evaluación de resistencia a benomil, thiabendazol y

azoxystrobin para el control de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) en frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) en postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:228-232.

HEALE, J.B.; ISAAC, J.E.; CHANDLER, D. 1989. Prospect for strain improvement in entomopathogenic fungi. *Pesticide Science* 26: 79-92.

HERNÁNDEZ, A.; PINEDA, J.; VERA, A.G.; GIL, E.; NASS, H.; BARRIENTOS, V. 2005. Técnica de inoculación rápida y eficiente para la evaluación de materiales de maíz ante "*Rhizoctonia solani* Kühn". *Bioagro* 17(2): 93-98.

HONG, J.K.; HWANG, B.K. 1998. Influence of inoculum density, wetness duration, plant age, inoculation method, and cultivar resistance on infection of pepper plants by *Colletotrichum coccodes*. *Plant Disease* 82(10): 1079-1083.

JAYASANKAR, S.; LITZ, R.E.; GRAY, D.J.; MOON, P.A. 1999. Responses of embryogenic mango cultures and seedling bioassays to a partially purified phytotoxin produced by a mango leaf isolate of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 35(6): 475-479.

KUC, J.; RICHMOND, S. 1977. Aspects of the protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. *Phytopathology* 67:533-536

LIM, T.K.; KHOO, K.C. 1985. *Diseases and Disorders of Mango in Malaysia*. Tropical Press, Kuala Lumpur, Malaysia. 101 p.

LÓPEZ-ORDAZ, A.; BACA-CASTILLO, G.A.; Fernández-Pavía, Y.L. 2011. Soluciones nutritivas para inducir cambios de concentración de N, P, K en plantas de mango. *Revista Mexicana de Ciencias agrícolas* 2(6): 867-883.

MADDISON, A.C.; MANNERS, J.G. 1973. Lethal effects of artificial ultraviolet radiation on cereal rust uredospores. *Transactions of the British Mycological Society*, 60(3): 471-494.

MONTESINOS-MATÍAS, R.; VINIEGRA-GONZÁLEZ, G.; ALATORRE-ROSAS, R.; GALLARDO-ESCAMILLA, F.; LOERA, O. 2011. Variación de fenotipos de crecimiento y de virulencia en cepas mutantes de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. resistentes a 2-desoxi-D-glucosa. *Agrociencia* 45(8): 929-942.

- MORAL, J.; TRAPERO, A. 2009. Assessing the susceptibility of olive cultivars to anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *Plant disease* 93(10): 1028-1036.
- MORAL, J.; DE OLIVEIRA, R.; TRAPERO, A. 2009. Elucidation of the disease cycle of olive anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology* 99(5): 548-556.
- MORAL, J.K.; BOUHMIDI, K.; TRAPERO, A. 2008. Influence of fruit maturity, cultivar susceptibility, and inoculation method on infection of olive fruit by *Colletotrichum acutatum*. *Plant Disease* 92: no. 10.
- NELSON, B.; LIMA, W.G.; TOVAR-PEDRAZA, J.M.; Michereff, S.J.; Câmara, M. 2014. Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 141(4): 679-688.
- MILES, T.D.; HANCOCK, J.F.; CALLOW, P.; SCHILDER, A.M.C. 2012. Evaluation of screening methods and fruit composition in relation to anthracnose fruit rot resistance in blueberries. *Plant Pathology*, v. 61, n. 3, p. 555-566.
- PAÉZ, R. 1997. Respuesta de cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) a la antracnosis en la Costa Atlántica colombiana. *Revista CORPOICA* v. 2(1):45-53.
- PLOETZ, R.C.; Prakash, O. 2000. Foliar, floral and soilborne diseases. pp. 281-285 In: Litz ER (ed.) *The Mango: Botany, Production and Uses*. CAB International. London, UK. 350 p.
- PRUSKY, D. 1994. Mango-anthracnosis. pp. 88-92 In: Ploetz RC, Zentmeyer GA, Nishijima WT, Rohrbach KG and Ohr HD (eds.) *Compendium of Tropical Fruit Diseases*. APS Press. St. Paul Minnesota, USA. 88 p.
- PRUSKY, D.; Kobilier, I.; Miyara, I.; Alkan, N. 2009. Fruit diseases. In: Litz RE (Eds.). 2nd Edn. *The mango: Botany, Production and Uses*, CAB International, Wallingford, UK. Rojas-Martínez RI, Zavaleta-Mejía E, Nieto-Ángel D and Acosta-405 Ramos M (2008) Virulence and genetic variation of isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. On mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden. *Revista Mexicana de Fitopatología* 26(1): 21-26.
- SAS Institute Inc. Base SAS® 9.3. 2012. *Procedures Guide: Statistical Procedures*. Third ed. Cary, NC: SAS Institute Inc.

- SAUCEDA-ACOSTA, C.P.; LUGO-GARCÍA, G.A.; VILLASEÑOR-MIR, H.E.; PARTIDA-RUVALCABA, L.; REYES-OLIVAS, Á. 2015. Un método preciso para medir severidad de roya de la hoja (*Puccinia triticina* Eriksson) en trigo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 38(4): 427-434.
- SINHA, P.; PRAJNESHU, R.; VARMA, A. 2002. Growth models for powdery mildew development of mango. *Annals of Plant Protection Sciences* 10: 84-87.
- SUTTON, B.C.; BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. *Colletotrichum: biology, pathology and control*. 1-26.
- THAN, P.P.; JEEWON, R.; HYDE, K.D.; Pongsupasamit, S.; Mongkolporn, O.; Taylor, P.W. 2008. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathology* 57(3): 562-572.
- TU, J.C. 1986. A detached leaf technique for screening beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in vitro against anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). *Canadian Journal of Plant Science*, 66(3): 805-809.
- WILLOCQUET, L.; COLOMBET, D.; ROUGIER, M.; FARGUES, J.; CLERJEAU, M. 1996. Effects of radiation, especially ultraviolet B, on conidial germination and mycelial growth of grape powdery mildew. *European Journal of Plant Pathology* 102(5): 441-449.

Capítulo II

EVALUACIÓN DE TOLERANCIA A ANTRACNOSIS (*Colletotrichum gloeosporioides* L.) DE GERMOPLASMAS DE MANGO (*Mangifera indica* L.) POR TÉCNICAS DE INOCULACIÓN FOLIAR

Monteon-Ojeda, A., Mora-Aguilera, J.A., Sandoval-Islas, J.S., De León-García De Alba, C., Vásquez-López, A., Hernández-Castro, E.

RESUMEN

La antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) es una enfermedad importante del mango (*Mangifera indica*) debido a su amplia distribución en el mundo ya inducir epidemias severas en los estadios vegetativo y reproductivo de los hospedantes e importantes pérdidas de producción. El objetivo de este trabajo fue evaluar la tolerancia a la infección por *C. gloeosporioides* en la etapa vegetativa de once nuevos cultivares de mango de pulpa amarilla con potencial en el mercado de exportación. Se inocularon hojas de 15-20 días de desarrollo con el aislamiento de Gro destacado en virulencia. Basándose en los periodos de incubación, incidencia y severidad, los cultivares Alphonse, Neelum, Kesar y Ivory mostraron baja susceptibilidad, Nam Doc Mai, Rosygold y Cotaxtla fueron altamente susceptibles y Fairchild, Ataúlfo Diamante, Ataúlfo Zafiro y Mallika tuvieron susceptibilidad media. Los periodos de incubación más largos determinaron la severidad más baja (-0,89 y -0,90) y la incidencia (-0,77 y -0,85). La incidencia se correlacionó positivamente con la severidad (0,86 y 0,92). Las técnicas de hojas desprendidas y unidas fueron indistintamente útiles para inducir síntomas típicos de antracnosis y estimar la expresión de virulencia (periodo de incubación, incidencia y severidad) del patógeno.

ABSTRACT

Anthracoise (*Colletotrichum gloeosporioides*) is an important diseases of mango (*Mangifera indica*) due to its wide distribution in the world and to induce severe epidemics in the vegetative and reproductive stages of the hospedant and important losses of production. The objective of this work was to evaluate the tolerance to *C. gloeosporioides* infection in the vegetative stage of eleven new cultivars of yellow pulp mango with potential in the export market. Leaves of 15-20 days of development were inoculated with the Gro isolation highlighted in virulence. Based on the incubation, incidence and severity periods, Alphonse, Neelum, Kesar and Ivory cultivars had low susceptibility, Nam Doc Mai, Rosygold and Cotaxtla were highly susceptible and Fairchild, Ataúlfo Diamante, Ataúlfo Zafiro and Mallika had average susceptibility. The longer incubation periods determined the lowest severity (-0.89 and -0.90) and incidence (-0.77 and -0.85). The incidence correlated positively with severity (0.86 and 0.92). The detached and attached leaf techniques were indistinctly useful to induce typical symptoms of anthracnose and estimate the expression of virulence (incubation period, incidence and severity) of the pathogen.

INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.) se cultiva en la mayoría de las áreas tropicales y subtropicales del mundo y representa la tercera fruta tropical de importancia económica (Galán, 2009). India es el principal productor y exportador, mientras que México ocupa el quinto y segundo lugar, respectivamente (FAOSTAT, 2016). En México, entre 1997 y 2004, las exportaciones disminuyeron 24 puntos debido a la falta de nuevos cultivares poliembriónicos amarillos que demandan al mercado estadounidense, el principal destino de exportación del mango mexicano (Malc et al., 2011). En México, la producción del principal cultivar Ataúlfo está limitada por problemas fitosanitarios, de fertilización y mercados (Becerra, 1995; Malc et al., 2011).

La antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* L.) es una de las enfermedades más importantes de las frutas pre y postcosecha en todas las zonas productoras del mundo. El patógeno también infecta hojas, flores y ramas. La enfermedad es más severa en humedad relativa alta y abundante lluvia; La antracnosis puede causar una pérdida de producción del 50 al 100% en huertos con manejo agronómico deficiente (Arauz, 2000; Monteon-Ojeda et al., 2012). La mayoría de los estudios sobre la epidemiología o la patogénesis de la antracnosis hacen hincapié en las etapas fenológicas comercialmente críticas, como la floración y la fructificación; Altamente susceptible durante las etapas no críticas como la fase vegetativa, tienen mayores tasas de epidemia debido a este patógeno policíclico. Los ciclos secundarios de infección normalmente determinan la intensidad, frecuencia y duración de las epidemias y promueven una alta severidad durante etapas fenológicas de importancia comercial como la fructificación (Tivoli et al., 2006). Este problema se potenció en el mango ya que este cultivo tiene varios (más de tres) flujos vegetativos, dependiendo del cultivar (Delgado et al., 2011; Litz, 2009). Este fenómeno puede contribuir significativamente al aumento y dispersión del inóculo. Se ha observado que la inoculación de hojas y frutos desprendidos ofrece una predicción positiva de la

tolerancia al mango, de modo que estas técnicas pueden utilizarse para el cribado de germoplasma (Bigirimana 2001, Iwaro 1997, Tu 1986). En todas las áreas productoras de mango es necesario implementar estrategias integradas de manejo fitosanitario que incorporen la evaluación de la tolerancia de los nuevos cultivares a la antracnosis. El objetivo de esta investigación fue evaluar la tolerancia a la antracnosis en la etapa vegetativa de 11 cultivares de mango amarillo que incluyen genotipos de cultivo extensivo en México (Cotaxtla), reciente introducción (Nam Doc Mai, Rosigold, Mallika, Ivory, Alphonse, Neelum, Fairchild y Kesar, del Jardín Botánico Tropical, Florida, USA) y el reciente registro (Ataúlfo Diamante y Ataúlfo Zafiro) Investigación Nacional de la Agricultura y Ganadería (INIFAP).

MATERIALES Y MÉTODOS

Superficie y material vegetal.

El estudio se desarrolló durante el año 2015-2016 en la Unidad Académica de Ciencias Agrícolas y Ambientales de la Universidad Autónoma de Guerrero, ubicada en el municipio de Iguala, Gro., México (18 ° 25'N, 99 ° 35'W, 731 m.a.s.l.). Plantas de mango de 18 meses de edad de los cultivares Cotaxtla, Nam Doc Mai, Rosigold, Mallika, Ivory, Alphonse, Neelum, Fairchild, Kesar, Ataúlfo Diamante y Ataúlfo Zafiro fueron plantadas en macetas plásticas en un vivero (con 50% de sombra). Las plantas fueron fertilizadas semanalmente con una solución nutritiva Steiner aplicada al suelo (1 L-1 por planta) y rociada al follaje (1 mL / L) y las plantas fueron regadas cada dos días hasta la saturación.

Inóculo.

Para inoculaciones se utilizó una raza de *C. gloeosporioides* recogida y aislada de huertos de mango con antracnosis en Guerrero (Gro), México. Este aislado tiene altas tasas de crecimiento, germinación y esporulación, así como virulencia en hojas de mango (datos no mostrados). Se preparó una suspensión conidial cuando se colocó un disco de crecimiento de micelio PDA de 2 cm de diámetro de un cultivo de 7 días (incubado en PDA a $24 \pm 3^\circ\text{C}$) en un mezclador (Oster® 500w) con 50 ml de agua destilada en autoclave Y se mezcló cuatro veces durante intervalos de dos segundos para promover el desprendimiento de conidios y acervos. La mezcla se pasó a través de una malla 200 / pulgada 2 y el filtrado se recogió en un vaso de precipitados de vidrio y vórtice (Mixer®) durante 10 segundos. La concentración de conidios se ajustó a 105 conidios mL⁻¹ usando una cámara Neubauer y se suspendió en monolaurato de polioxietilen-20-sorbitán (0,1%).

Inoculación en hojas desprendidas.

Las hojas desprendidas se inocularon usando una técnica modificada descrita por Rojas-Martínez et al., (2008). En cada cultivar se marcaron los brotes vegetativos para observar el desarrollo del follaje; Las hojas se separaron cuando tenían 15 días de edad. En las hojas de laboratorio se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0,5% durante 30 s, se aclararon tres veces con agua destilada en autoclave y se secaron con una toalla esterilizada en autoclave. Las toallas estériles se colocaron dentro de recipientes de plástico limpios (25 x 35 x 10 cm) y las toallas se saturaron con agua destilada en autoclave. Las hojas de mango desinfectadas y secadas se colocaron sobre las toallas húmedas dentro del recipiente de plástico. Se sembraron medio hojas longitudinales (respecto al nervio central) colocando tres gotas (50 µl) del inóculo en la superficie abaxial. Las gotas se colocaron por separado y aproximadamente 15 mm desde el nervio central. Los envases de plástico con las hojas inoculadas se cerraron herméticamente y se incubaron a $24 \pm 3^\circ\text{C}$, bajo condiciones alternas de oscuridad y luz

de 12:12 h a 100% de humedad relativa. Se evaluaron cinco recipientes (repeticiones) por cultivar (tratamientos). El tiempo de incubación (tiempo desde la inoculación hasta los síntomas) y la incidencia (%) se evaluaron una vez y la severidad (%) se evaluó ocho días después de la inoculación midiendo cada diámetro de la lesión necrótica (cm) con un Vernier digital. La temperatura, la humedad relativa y la intensidad de luz se midieron con un datalogger HOBO® Modelo U12. En este experimento se utilizó un diseño estadístico completamente aleatorio.

Inoculación en hojas unidas.

Se marcaron los brotes vegetativos y cuando las hojas tenían 15 días de edad se desinfectaron las hojas con solución de NaCl al 0,5% durante 30 s, se enjuagaron tres veces con agua destilada en autoclave con un pulverizador de mano (Swissmex®) y se dejaron secar durante 10 Min. El inóculo se extendió a la mitad (considerando el nervio foliar central como referencia) tanto de superficie abaxial como adaxial usando un brocha suave (pelo de camello). Se inocularon cinco hojas por planta (unidad experimental) y se evaluaron cuatro plantas (repeticiones) por cultivar (tratamientos). La inoculación se llevó a cabo antes del atardecer (18:00 h \pm 300-450 lx). Las plantas inoculadas se cubrieron con una bolsa de plástico oscuro durante las primeras 12 h y luego se mantuvieron en el vivero (Temp 29 - 31 °C, humedad relativa del 85 al 90% y fotoperiodo 12 \pm 1 h de luz, registrada con un datalogger HOBO ® Modelo U12) Hasta que aparecieron los síntomas. Se registraron el periodo de incubación (días después de la inoculación) y la incidencia (%). La severidad (%) se evaluó 15 días después de la inoculación por imágenes digitales. La proporción de área afectada se determinó usando el software GIMP 2.0 para Windows™. Se utilizó un diseño estadístico de bloques completamente aleatorio para este experimento y el experimento completo se repitió tres veces.

Análisis estadístico.

El análisis de varianza y la separación de la media (LSD, $p \leq 0,05$), las variables de incidencia, severidad y períodos de incubación para los experimentos de hojas desprendidas y unidas se realizaron utilizando el software SAS v.9.1.3 (SAS Institute Inc, 2008). Para calcular las correlaciones entre las variables, las pruebas de correlación de Pearson y el análisis de regresión lineal y de potencia (log-log) se realizaron utilizando Sigma Plot para calcular los valores P y r.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tolerancia varietal.

Los cultivares Alphonse y Neelum muestran los valores más bajos de severidad (1,65-2,11%) e incidencia (49,41-60,83%) y el período de incubación más prolongado, según los resultados observados en las técnicas de hojas sueltas (DLT) y anexas (ALT) (7,43-8,87 dai) que los clasificó como baja susceptibilidad a la antracnosis. En contraste, los cultivares de Nam Doc Mai, Rosygold y Cotaxtla muestran la mayor incidencia y severidad, con el corto período de incubación, siendo altamente susceptible a la antracnosis. Fairchild, Ataúlfo Diamante, Ataúlfo Zafiro y Mallika en el rango medio; Kesar (DLT) y Marfil (ALT) fueron de baja susceptibilidad a la antracnosis (Figura 7, Tablas 9 y 10). No se encontraron datos acerca de la tolerancia de las cultivares de mango a la antracnosis en el tejido vegetativo. Sin embargo, se ha documentado que los frutos de cultivares comerciales son susceptibles a la antracnosis (Nishijima, 1993, Paez, 1997, Pernezny y Ploetz, 2000). Se observó que todos los cultivares evaluados fueron afectados por la antracnosis, y Alphonse, Neelum, Kesar y Marfil muestran la mayor tolerancia. Estos resultados fueron similares a los reportados por Lei et al. (2006) y Chanana et al. (2005), quienes observaron resistencia moderada en el cultivar Mallika, pero

contrastaron con Nishijima (1993) y Haggag (2010), quienes reportaron que Neelum y Alphonse eran muy susceptibles y clasificaron a Fairchild como resistente. Esta investigación proporciona una metodología estandarizada y optimizada que nos permite comparar tanto los resultados obtenidos en

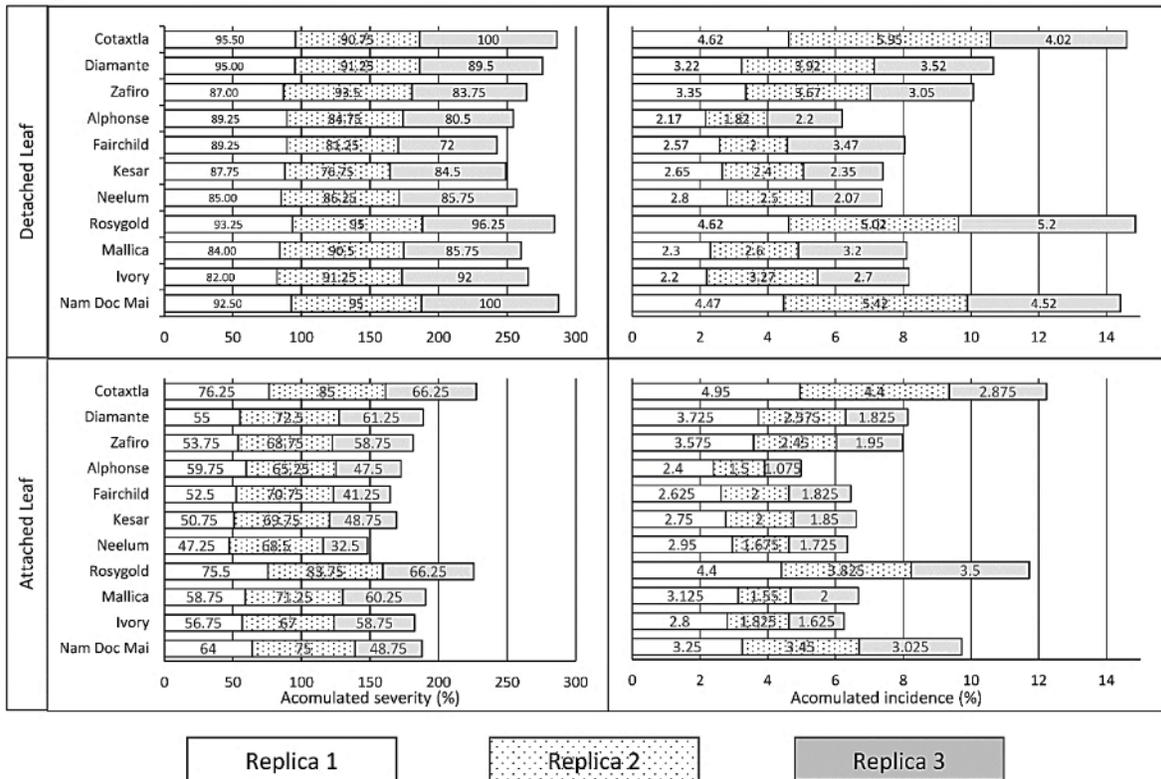


Tabla 9. Incidencia y severidad acumulada de antracnosis en hojas de 15 días de desarrollo de once cultivares de mango (*Mangifera indica*) de pulpa amarilla inoculados con un alto aislamiento de virulencia de *Colletotrichum gloeosporioides* con los métodos de hoja separada y hoja unida en laboratorio y vivero. Cada barra representa los valores absolutos observados en tres repeticiones experimentales (ciclo 2015-2016).

-laboratorio como en vivero o campo. La severidad de la antracnosis en el campo puede depender del complejo de especies que causan la enfermedad (Lima et al., 2013) y la virulencia, estructura de la población, interacción de los aislamientos que determinan la presión estacional y la fluctuación del inóculo, inductividad ambiental y susceptibilidad Nishijima (1993) propone cuatro niveles de

susceptibilidad (resistentes, moderadamente resistentes, susceptibles y muy susceptibles), mientras que Pernezny And Ploetz (2000) Sugieren sólo tres niveles de susceptibilidad (altamente susceptible, susceptible y moderadamente susceptible). En estos experimentos, se propusieron niveles de susceptibilidad considerando los cultivares utilizados. La severidad, la incidencia y los períodos de incubación observados se agruparon en tres niveles de severidad, alta, media y baja susceptibilidad. Estos experimentos se realizaron proporcionando óptimas condiciones ambientales y de manejo para el desarrollo del patógeno, incluyendo la alta susceptibilidad de hojas de 15-20 días de desarrollo a la antracnosis determinada en estudios previos (datos no publicados); Se espera que la expresión de la susceptibilidad para un cultivar en condiciones de campo pueda variar entre las regiones dependiendo de las condiciones ambientales y la virulencia del patógeno (Afanador-Kafuri et al., 2003, Alahakoon et al., 1994, Gomes et al., 2010 Rojas Martínez, 2008)

Tabla 10. Susceptibilidad de hojas de 15 días de desarrollo de once cultivares de mango (*Mangifera indica*) a la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) según el período de incubación, incidencia y severidad, inoculados en laboratorio con la técnica de hojas desprendidas.

Cultivar	Incubation period (ddi) ²	Incidence (%) ¹	Severity (%) ¹	Susceptibility
Alphonse	4.45 a	84.83 d	2.06 d	Low
Neelum	3.85 a	85.66 d	2.45 d	Low
Kesar	3.95 a	83.00 d	2.46 d	Low
Fairchild	3.79 a	80.83 d	2.68 c	Media
Ataúlfo Zafiro	4.11 a	88.08 b	3.35 c	Media
Ivory	4.34 a	88.41 b	2.72 c	Media
Mallika	4.00 a	86.75 b	2.7 c	Media
Ataúlfo Diamante	4.22 a	91.91 b	3.55 b	Media
Nam Doc Mai	2.18 b	95.83 a	4.80 a	high
Cotaxtla	2.17 b	95.41 a	4.86 a	high
Rosygold	2.26 b	94.83 b	4.94 a	high
LSD	1.15	8.28	0.85	
CV (%)	18.95	5.48	15.07	

(1) Las medias seguidas por letras iguales en las columnas no son significativamente diferentes, prueba de LSD, a 5% de probabilidad. (2) dai = días después de la inoculación.

Tabla 11. Susceptibilidad de hojas de 15 días de desarrollo de once cultivares de mango (*Mangifera indica*) a antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) según el período de incubación, incidencia y severidad, inoculados en laboratorio con la Técnica de Hoja Adjunta.

Cultivar	Incubation period (ddi) ²	Incidence (%) ¹	Severity (%) ¹	Susceptibility
Alphonse	8.87 b	57.50 c	1.65 e	Low
Neelum	8.01 b	49.41 c	2.11 d	Low
Ivory	7.43 d	60.83 b	2.08 d	Low
Fairchild	9.15 a	54.83 c	2.14 c	Media
Kesar	8.80 b	56.41 c	2.20 c	Media
Zafiro	7.60 c	60.41 b	2.65 c	Media
Diamante	7.49 d	62.91 b	2.70 c	Media
Mallika	7.48 d	63.41 b	2.22 c	Media
Nam Doc Mai	6.54 e	62.56 b	3.24 b	high
Cotaxtla	5.95 e	75.83 a	4.07 a	high
Rosygold	5.58 e	75.16 a	3.90 a	high
LSD	1.07	9.07	0.59	
CV (%)	8.9	8.7	9.1	

(1) Las medias seguidas por letras iguales en las columnas no son significativamente diferentes, prueba de LSD, a 5% de probabilidad. (2) dai = días después de la inoculación.

Evaluación de la severidad.

La estimación visual del número de lesiones influye en la exactitud y precisión con respecto a la proporción real del área infectada, cuanto mayor es el número de lesiones, la sobreestimación también es mayor. También es común sobrestimar la severidad cuando el nivel real es inferior al 10%. El uso de fotografías de luz visible y análisis de imágenes digitales es una herramienta cada vez más utilizada para resolver estos problemas. El software disponible y las herramientas de edición son más fáciles de usar (Do Vale, 2001). En este estudio se utilizó el software GIMP 2.0 para WindowsTM que resultó efectivo para evaluar la severidad de la antracnosis foliar inducida artificialmente en cultivares de mango. El mismo método fue utilizado por Saucedo-Acosta et al. (2015) para evaluar la severidad de la roya del trigo de la hoja causada por *Puccinia triticina* con el software Image J 1.0 para WindowsTM y Wijekoon et al. (2008) para cuantificar con exactitud la severidad de las lesiones foliares causadas

en diferentes huéspedes por *C. destructivum*, *C. dematium* y *Oidium sp.*, Con Scion Image®. En los frutos, Corkidi et al. (2006) cuantificaron la severidad de la antracnosis (*C. gloeosporioides*) en el área superficial de los frutos de mango utilizando un sistema de análisis de imágenes tridimensional con alta correlación con la severidad real ($r^2 = 0,99$). En nuestra investigación, los métodos de estimación visual y digital de las lesiones obtenidas con DLT y ALT tuvieron una alta correlación ($R^2 = 0,97$) (Figura 8), por lo que se pueden utilizar de forma intercambiable para evaluar la antracnosis del mango, dependiendo de las condiciones del sitio de los estudios experimentales.

Análisis de correlación.

Independientemente de la técnica de inoculación utilizada (DLT o ALT), los períodos de incubación más largos se correlacionaron con la severidad más baja ($R^2 = -0,90$ DLT, $-0,89$ ALT) e incidencia ($R^2 = -0,77$ DLT, $-0,85$ HAL). En contraste, la incidencia se correlacionó positivamente con la severidad ($R^2 = 0,92$ DLT, $R^2 = 0,86$ ALT) (Figuras 1 y 2). La relación entre estas variables fue informada previamente por Chala et al. (2010), que informaron una correlación significativa ($r^2 = 0,86-0,92$) entre la incidencia y la severidad de la antracnosis en hojas de *Sorghum vulgare* inoculadas con *C. sublineolum*. Además, Lamsupasit (1993) observó que la esporulación y el período de incubación de *C. gloeosporioides* en seis accesiones de la leguminosa de *Stylosanthes hamata* presentaron una correlación positiva ($P < 0,05$) con la resistencia (AFPC) de plantas adultas en el campo y documentaron una estrecha relación Entre el período de incubación, esporulación diaria y AUDPC ($r = 0,90$). En los cultivares de melocotón y nectarina se observó que una mayor resistencia a *Monilinia fructicola* se correlaciona con una epidermis más gruesa y más densa que en los cultivares susceptibles, factores que retrasan la penetración del hongo y promueven períodos de incubación más largos (Adaskaveg et al., 1989, 1991). Según Niks (1986), en la resistencia no hipersensible, como la resistencia pre-haustorial, pueden observarse períodos de incubación más largos y menos esporulación, posiblemente debido al

frecuente fracaso del desarrollo haustorial, como en *Puccinia hordei* en cebada. También al lento crecimiento de las colonias de hongos, como sucede en *Oidium (Erysiphe graminis f. Avenae)* de avena (Carver y Carr, 1978). El acuerdo entre las dos técnicas (DLT o ALT) probado en este estudio muestra que una rápida inoculación de laboratorio ofrece importantes ventajas en la detección de tolerancia ahorrando tiempo y recursos. Ambas técnicas son útiles para evaluar la enfermedad con precisión y precisión y deben implementarse en programas de mejoramiento que consideren el cribado temprano de genotipos para antracnosis en tejido vegetativo cuando no es posible realizarlo en inflorescencias y frutos. Este enfoque es particularmente útil cuando se introducen nuevos cultivares de interés comercial en el mercado de exportación y se prioriza la caracterización sanitaria de los materiales para estimar el potencial impacto epidémico y la demanda de tecnología de gestión sanitaria para su cultivo. Las ventajas de DLT han sido documentadas por Tu (1986), quienes concluyeron que la técnica de hojas divididas fue eficiente para evaluar la patogenicidad, virulencia y resistencia de cultivares de frijol a *C. lindemuthianum* o múltiples patógenos utilizando una única planta y evitando situaciones indeseables como ausencia de inóculo y condiciones ambientales adversas. Además, Bigirimana (2001) demostró que la inoculación de las hojas desprendidas excedió la inoculación de semillas y plántulas germinadas debido a su mayor velocidad y sensibilidad, aunque los tres métodos permitieron caracterizar de forma similar la resistencia de las cultivares de frijol a *C. lindemuthianum*. Moral y Trapero (2009) encontraron una alta correlación entre la incidencia y severidad de la antracnosis de la aceituna en el campo y en las frutas desprendidas. Miles et al. (2012) demostraron que diferentes técnicas de inoculación de *C. acutatum* en frutas desprendidas (spray, goteo e inyección) en arándanos fueron útiles para evaluar la resistencia ya que operan con la misma eficiencia y proporcionan una evaluación rápida de la resistencia.

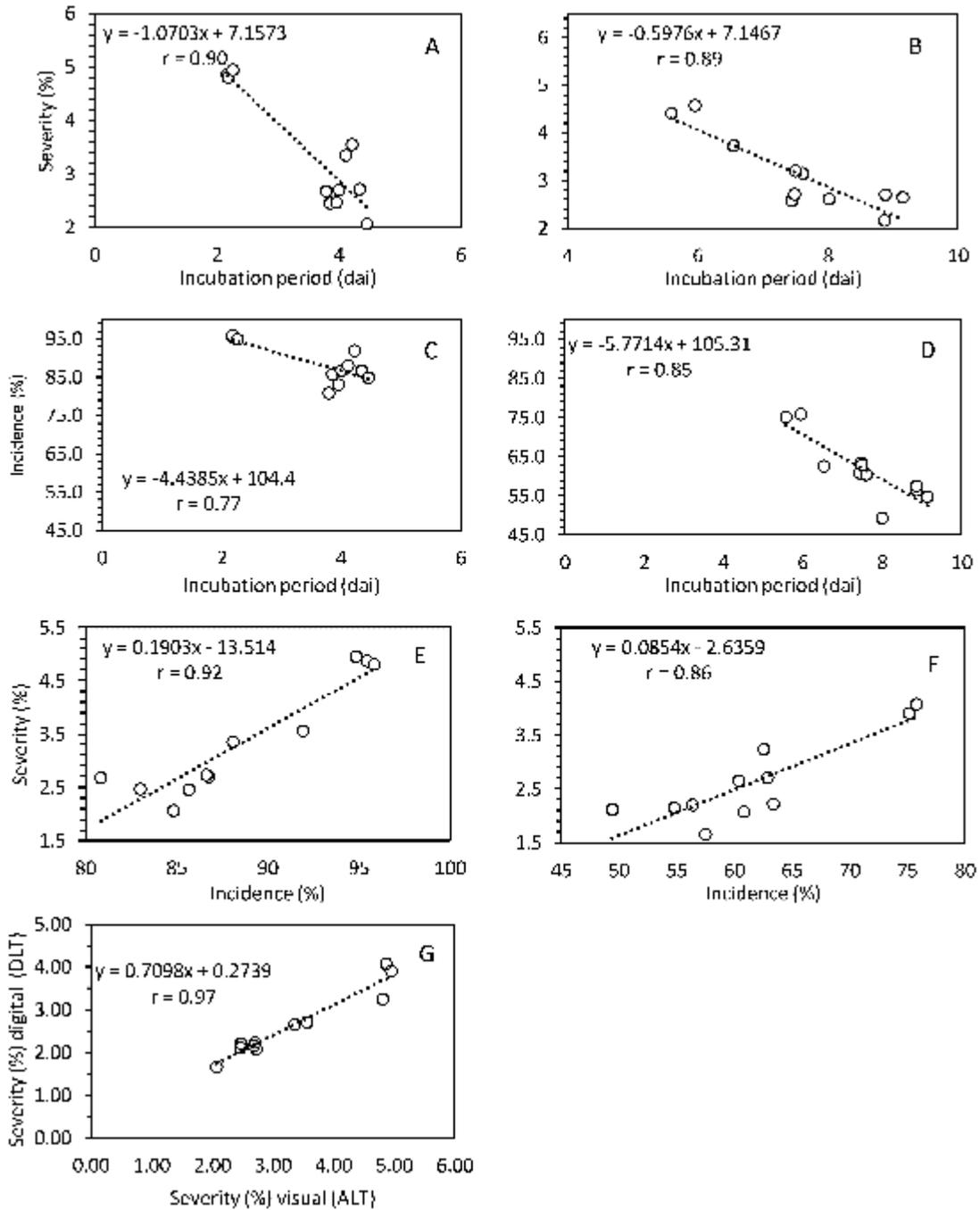


Figura 7. Análisis de regresión lineal de las variables severidad, incidencia y período de incubación en hojas de 15 días de desarrollo de 11 cultivares de mango (*Mangifera indica*) inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides* con las técnicas de la Hoja Detechada (DLT: A, C, E) Y Hoja adosada (ALT: B, D, F). Correlación entre la estimación visual y digital de la severidad en DTL y ALT (G). R = coeficiente de Pearson.

CONCLUSIONES

- Los cultivares de mango Alphonse, Neelum, Kesar y Ivory son los más tolerantes a la antracnosis vegetativa.
- Existe una correlación negativa de los períodos de incubación con la incidencia y la severidad, y positiva entre la incidencia y la severidad.
- Las técnicas de hojas desprendidas y unidas son útiles para inducir la antracnosis y estimar la expresión de virulencia de *C. gloeosporioides*, sin embargo, la técnica de hojas desprendidas promueve los valores más altos de la enfermedad y aumenta la eficiencia del trabajo experimental.
- El procesamiento digital de imágenes es una herramienta útil para la evaluación precisa de la antracnosis vegetativa del mango y puede ser incorporado en la evaluación de diferentes interacciones parasitarias

LITERATURA CITADA

- ADASKAVEG, J. E.; FELICIANO, A. J.; OGAWA, J. M. Comparative studies of resistance in peach genotypes to *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, v. 79, p. 1183-1184, 1989.
- ADASKAVEG, J. E.; FELICIANO, A. J.; OGAWA, J. M. Evaluation of the cuticle as a barrier to penetration by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, v. 81, n. 10, p. 1150, 1991.
- AFANADOR-KAFURI, L.; MINZ, D.; MAYMON, M.; FREEMAN, S. Characterization of *Colletotrichum* isolates from tamarillo, passiflora, and mango in Colombia and identification of a unique species from the genus. **Phytopathology**, v. 93, n. 5, p. 579-587, 2003.
- ALAHAKOON, P. W.; BROWN, A. E.; SREENIVASAPRASAD, S. Genetic characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates obtained from mango. **International Journal of Pest Management**, v. 40, n. 2, p. 225-229, 1994.
- ARAUZ, L. F. Mango anthracnose: economic impact and current options for integrated management. **Plant Disease**, v. 84 n. 6, p. 600-611, 2000.
- BECERRA-LEOR, E.N. Enfermedades del cultivo del mango. In: MATA-BELTRÁN, I.; MOSQUEDA-VÁZQUEZ, R. (Ed.). **La Producción de mango en México**. Noriega Editores, México, 1995. p. 83-101.
- BIGIRIMANA, J.; HÖFTE, M. Bean anthracnose: inoculation methods and influence of plant stage on resistance of *Phaseolus vulgaris* cultivars. **Journal of Phytopathology**, 149 v.7-8, p. 403-408, 2001.
- CARVER, T. L. W.; CARR, A.J.H. Effects of host resistance on the development of haustoria and colonies of oat mildew. **Annals of Applied Biology**, v. 88, n. 1, p. 171-178, 1978.
- CHALA, A.; BRURBERG, M.B.; TRONSMO, A.M. Incidence and severity of sorghum anthracnose in Ethiopia. **Plant Pathology Journal (Faisalabad)**, v. 9, n. 1, p. 23-30, 2010.
- CHANANA, Y. R.; JOSAN, J. S.; ARORA, P.K. Evaluation of some mango cultivars under North India Conditions. In: PROCEEDINGS OF INTERNATIONAL CONFERENCE ON MANGO AND

- DATE PALM: CULTURE AND EXPORT, June, 2005. **Proceedings**. University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan. 2005. p. 36-40.
- CORKIDI, G.; BALDERAS-RUIZ, K.A.; TABOADA, B.; SERRANO-CARREON, L.; GALINDO, E. Assessing mango anthracnose using a new three-dimensional image analysis technique to quantify lesions on fruit. **Plant Pathology**, v. 55, p. 250–257, 2006.
- DELGADO, P.H.; ARANGUREN, M.; REIG, C.; GALVÁN, D.F.; MESEJO, C.; FUENTES, A.M.; AGUSTI, M. Phenological growth stages of mango (*Mangifera indica* L.) according to the BBCH scale. **Scientia Horticulture**, v. 130, n. 3, p. 536-540, 2011.
- DO VALE, F.X.R.; FILHO, E.I.F.; LIBERATO, J.R.; ZAMBOLIM, L. Quant—a software to quantify plant disease severity, 2001. Available at:
<<http://scholar.google.com.mx/scholar?hl=es&q=.+Quant%E2%80%93a+software+to+quantify+plant+disease+severity&btnG=&lr=>> Accessed on: 28 January 2017.
- FAOSTAT. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2013. Available at:
http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E Accedido en Octubre 24, 2016.
- GALÁN, S. **El cultivo del mango**. 2nd ed. Editorial Mundi-Prensa, S.A. de C.V. México, 2009. 341 p.
- GUPTA, V.K.; PANDEY, A.; KUMAR, P.; PANDEY, B.K.; GAUR, R.K.; BAJPAI, V.; SHARMA, S. Genetic characterization of mango anthracnose pathogen *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. by random amplified polymorphic DNA analysis. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 26, p. 4009-4013, 2010.
- HAGGAG, W.M. Mango diseases in Egypt. **Agriculture and Biology Journal of North America**, v. 1, n. 3, p. 285-289, 2010.
- IWARO, A.D.; SREENIVASAN, T. N.; UMAHARAN, P. Foliar resistance to *Phytophthora palmivora* as an indicator of pod resistance in *Theobroma cacao*. **Plant Disease**, v. 81, n. 6, p. 619-624, 1997.

- KING, W.T.; MADDEN, L.V.; ELLIS, M.A.; WILSON, L.L. Effects of temperature on sporulation and latent period of *Colletotrichum* spp. infecting strawberry fruit. **Plant Disease**, v. 81, n. 1, p. 77-84, 1997.
- LEANDRO, L.F.S.; GLEASON, M.L.; NUTTER J.R.F.W.; WEGULO, S.N.; DIXON, P.M. Germination and sporulation of *Colletotrichum acutatum* on symptomless strawberry leaves. **Phytopathology**, v. 91, n. 7, p. 659-664, 2001.
- LEI, X.T.; ZHAO, Y.L.; YAO, Q.S.; HE, Y.B.; SUN, G.M.; MA, W.H.; ZHAN, R.L. Identification and analysis of the resistance of different mango cultivars to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). **Journal of Fruit Science**, v. 6, p. 11, 2006.
- LIMA, N.B.; DE, A.; BATISTA, M.V.; DE MORAIS, M.A.; BARBOSA, M.A.G.; MICHEREFF, S.J.; HYDE, K.D.; CAMARA, M.P.S. Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. **Fungal Diversity**, v. 61, p. 75, 2013.
- LITZ, R.E. **The mango: botany, production and uses**. 2nd ed. Oxfordshire, UK: CABI, 2006. 680 p.
- LIU, G.; KENNEDY, R.; GREENSHIELDS, D.L.; PENG, G.; FORSEILLE, L.; SELVARAJ, G.; WEI, Y. Detached and attached Arabidopsis leaf assays reveal distinctive defense responses against hemibiotrophic *Colletotrichum* spp. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 20, n. 10, p. 1308-1319, 2007.
- MALC, R.; GEHRKE-VELEZ.; CASTILLO-VERA.; RUIZ-BELLO, C.; MORENO-MARTÍNEZ, L. Viabilidad y germinación del polen en mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataulfo. **Interciencia**, v. 36, n. 5, p. 378-385, 2011.
- ILES, T.D.; HANCOCK, J.F.; CALLOW, P.; SCHILDER, A.M.C. Evaluation of screening methods and fruit composition in relation to anthracnose fruit rot resistance in blueberries. **Plant Pathology**, v. 61, n. 3, p. 555-566, 2012.
- MONTEON-OJEDA, A.; MORA-AGUILERA, J.A.; VILLEGAS-MONTER, A.; NAVA-DIAZ, C.; HERNÁNDEZ-CASTRO, E.; HERNÁNDEZ-MORALES, J. Temporal analysis and fungicide management strategies to control mango anthracnose epidemics in Guerrero, Mexico. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, n.6, p. 375-385, 2012.

- MORAL, J.; TRAPERO, A. Assessing the susceptibility of olive cultivars to anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. **Plant Disease**, v. 93, n. 10, p. 1028-1036, 2009.
- NIKS, R. E. Failure of haustorial development as a factor in slow growth and development of *Puccinia hordei* in partially resistant barley seedlings. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 28, n. 3, p. 309-322, 1986.
- NISHIJIMA, W. Mango diseases and their control. In: CONFERENCE ON MANGO IN HAWAII, 3., 1993, Hawaii. **Proceedings**. University of Hawaii at Mānoa, College of Tropical Agriculture and Human Resources, 1993. p. 20–24.
- PAÉZ, A.R. Respuesta de cultivares de mango (*Mangifera indica*) a la antracnosis en la Costa Atlántica colombiana. **Revista Corpoica**, v. 2, n. 1, p. 43-53, 1997.
- PERNEZNY, K.; PLOETZ, R. Some common diseases of mango in Florida. FL, USA: University of Florida/Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, 2000. Available at: https://3774ceeb-a-62cb3a1a-sites.googlegroups.com/site/dileepiiithyderabad/protection-of-fruits-crops/VH04800.pdf?attachauth=ANoY7cporvMKUM2BwXTttnymIdekYAoanA2YVrOqnFx4UUIY-AQ3O-fVZd9kcs_EI8UOwoyBEyEsi4AKv0ibwQCNnmIN3rGbx0Di4y9VWmizCRgsa_3pZFTTuSHkd9n-aU0DdbW1-SYm42p2WyJRPtF-JtpvvKQ8GDSEmWU9hSCcv7EnDgIfakBYAQxFdfVreAks6MBfhSUpX-kdX33r021z8EGx7PLc3PTKBvmciA7pRKlofT1rglNuenihcgwguFRIPyGEWTMC&attredirects=0 Accessed on: 28 January 2017.
- ROJAS-MARTÍNEZ, R.I.; ZAVALA-MEJÍA, E.; NIETO-ÁNGEL, D. Virulence and Genetic Variation of Isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. on Mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 26, n. 1, p. 21–26, 2008.
- SAUCEDA-ACOSTA, C.P.; LUGO-GARCÍA, G.A.; VILLASEÑOR-MIR, H.E.; PARTIDA-RUVALCABA, L.; REYES-OLIVAS, Á. Un método preciso para medir severidad de roya de la hoja (*Puccinia triticina* Eriksson) en trigo. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 38, n. 4, p. 427-434, 2015

- TIVOLI, B.; BARANGER, A.; AVILA, C. M.; BANNIZA, S.; BARBETTI, M.; CHEN, W.; SADIKI, M. Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. **Euphytica**, v.147, n. 1-2, p. 223-253, 2006.
- TU, J.C. A detached leaf technique for screening beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in vitro against anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). **Canadian Journal of Plant Science**, v. 66, n. 3, p. 805-809, 1986.
- WIJEKOON, C.P.; GOODWIN, P.H.; HSIANG, T. Quantifying fungal infection of plant leaves by digital image analysis using Scion Image software. **Journal of Microbiological Methods**, v. 74, n. 2, p. 94-101, 2008.

DISCUSION GENERAL

Colocar el inóculo en la superficie abaxial de hojas viejas de 20 días en condiciones oscuras a una concentración de 1×10^5 conidios mL^{-1} del aislamiento Gro suspendido en monolaurato de polioxietileno-20-sorbitán al 0,1%, utilizando un brocha suave para no causar Cualquier herida, fue la mejor opción integrada para reproducir de manera consistente los síntomas de resultados similares fueron reportados por Gutiérrez-Alonso et al. (2001), que caracterizó cepas de *C. gloeosporioides* de varias regiones productoras de mango en México a través de estudios de morfología, morfometría, tasa de germinación, crecimiento, esporulación y patogenicidad. La condición que permitió la estimulación de la germinación con mayor eficacia fue la oscuridad, similar a lo reportado por, Nelson et al. (2014) y Moral et al. (2009) encontraron que la incubación en la oscuridad a 25 °C favoreció la infección exitosa y la presencia de síntomas en frutos de mango inoculados con *Colletotrichum* spp. Incluir un surfactante-dispersante fue clave en el experimento y se encontró a polioxietileno-20-sorbitán como la mejor opción para los objetivos planteados, a su vez Gutiérrez-Alonso et al. (2001) y Jayasankar et al. (1999) encontraron que el monolaurato de polioxietileno-20-sorbitán en suspensiones de conos de *C. gloeosporioides* para inocular frutos de mango resultó en la tasa de germinación más alta. La mejor concentración de conidios para tener un balance entre factibilidad de obtención de inóculo y reproducción de síntomas fue 1×10^5 conidios/ mL^{-1} , concordante con lo encontrado Alemu et al. (2014) quienes obtuvieron síntomas típicos cuando inocularon frutos de mango con la misma densidad de *C. gloeosporioides* conidia mL^{-1} para evaluar la actividad antifúngica de los extractos. El método de inoculación de hojas desprendidas fue útil para evaluar la virulencia de los aislados experimentales de mango, análogo al uso satisfactoriamente para clasificar la alta virulencia de cepas de *C. gloeosporioides* mango (Rojas-Martínez et al., 2008) y *C. lindemuthianum* (Tu, 1986) a través de un método de hojas desprendidas.

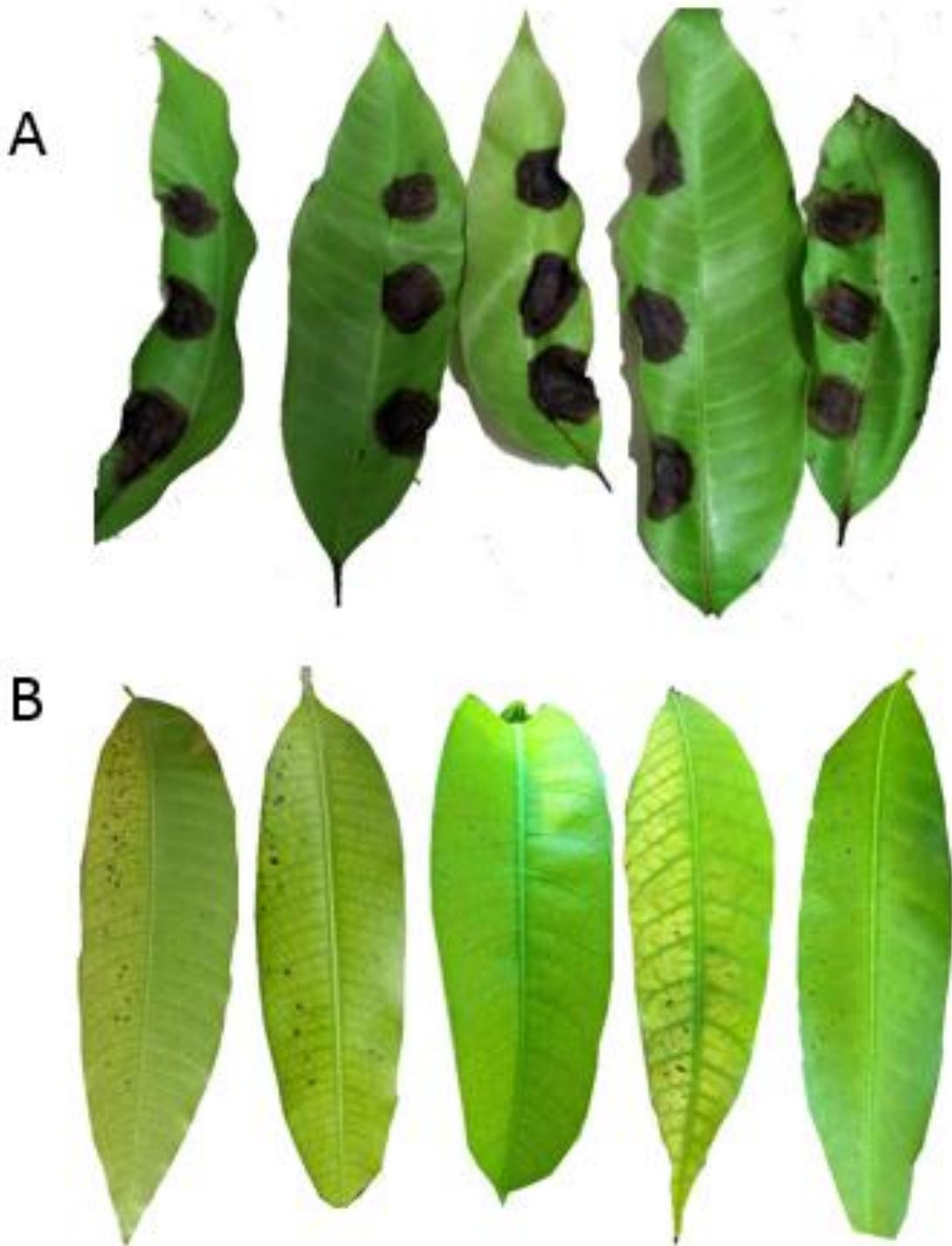
Los cultivares Alphonse y Neelum mostraron los valores más bajos de severidad e incidencia y el período de incubación más prolongado, según los resultados observados en las técnicas de hojas sueltas (DLT) y anexas (ALT) que los clasificó como baja susceptibilidad a la antracnosis. En contraste, los cultivares de Nam Doc Mai, Rosygold y Cotaxtla muestran la mayor incidencia y severidad, con el corto período de incubación, siendo altamente susceptible a la antracnosis. Fairchild, Ataúlfo Diamante, Ataúlfo Zafiro y Mallika en el rango medio; Kesar (DLT) y Marfil (ALT) fueron de baja susceptibilidad a la antracnosis. Se ha documentado que los frutos de cultivares comerciales son susceptibles a la antracnosis (Nishijima, 1993, Paez, 1997, Pernezny y Ploetz, 2000). Se observó que todos los cultivares evaluados fueron afectados por la antracnosis, pero Alphonse, Neelum, Kesar y Marfil mostraron la mayor tolerancia resultados fueron similares a los reportados por Lei et al. (2006) y Chanana et al. (2005), quienes observaron resistencia moderada en el cultivar Mallika, pero contrastaron con Nishijima (1993) y Haggag (2010), quienes reportaron que Neelum y Alphonse eran muy susceptibles y clasificaron a Fairchild como resistente. En este estudio se utilizó el software GIMP 2.0 para Windows™ que resultó efectivo para evaluar la severidad de la antracnosis foliar inducida artificialmente en cultivares de mango, un método similar fue utilizado por Saucedo-Acosta et al. (2015) para evaluar la severidad de la roya del trigo de la hoja causada por *Puccinia triticina* con el software Image J 1.0 para Windows™ y Wijekoon et al. (2008) para cuantificar con exactitud la severidad de las lesiones foliares causadas en diferentes huéspedes por *C. destructivum*, *C. dematium* y *Oidium* sp., Con Scion Image®. Independientemente de la técnica de inoculación utilizada (DLT o ALT), los períodos de incubación más largos se correlacionaron con la severidad más baja e incidencia, en contraste, la incidencia se correlacionó positivamente con la severidad, resultados similares a los de Chala et al. (2010), que informaron una correlación significativa entre la incidencia y severidad de antracnosis en hojas de *Sorghum vulgare* inoculadas con *C. sublineolum*. Ambas técnicas son útiles para evaluar la enfermedad con precisión y precisión y deben implementarse en programas de

mejoramiento que consideren el cribado temprano de genotipos para antracnosis en tejido vegetativo cuando no es posible realizarlo en inflorescencias y frutos, este enfoque es particularmente útil cuando se introducen nuevos cultivares de interés comercial en el mercado de exportación y se prioriza la caracterización sanitaria de los materiales para estimar el potencial impacto epidémico y la demanda de tecnología de gestión sanitaria para su cultivo. Las ventajas de DLT han sido documentadas por Tu (1986), quienes concluyeron que la técnica de hojas divididas fue eficiente para evaluar la patogenicidad, virulencia y resistencia de cultivares de frijol a *C. lindemuthianum* o múltiples patógenos utilizando una única planta y evitando situaciones indeseables como ausencia de inóculo y condiciones ambientales adversas.

CONCLUSIONES FINALES

- Existe una correlación negativa de los períodos de incubación con la incidencia y la severidad, y positiva entre la incidencia y la severidad.
- Ambas técnicas fueron altamente efectivas para la inducción de síntomas de antracnosis en hojas.
- Las técnicas de hojas desprendidas y unidas son útiles para inducir la antracnosis y estimar la expresión de virulencia de *C. gloeosporioides*, sin embargo, la técnica de hojas desprendidas promueve los valores más altos de la enfermedad y aumenta la eficiencia del trabajo experimental.
- Los cultivares de mango Alphonse, Neelum, Kesar y Ivory son los más tolerantes a la antracnosis vegetativa.
- El procesamiento digital de imágenes es una herramienta útil para la evaluación precisa de la antracnosis vegetativa del mango y puede ser incorporado en la evaluación de diferentes interacciones parasitarias.

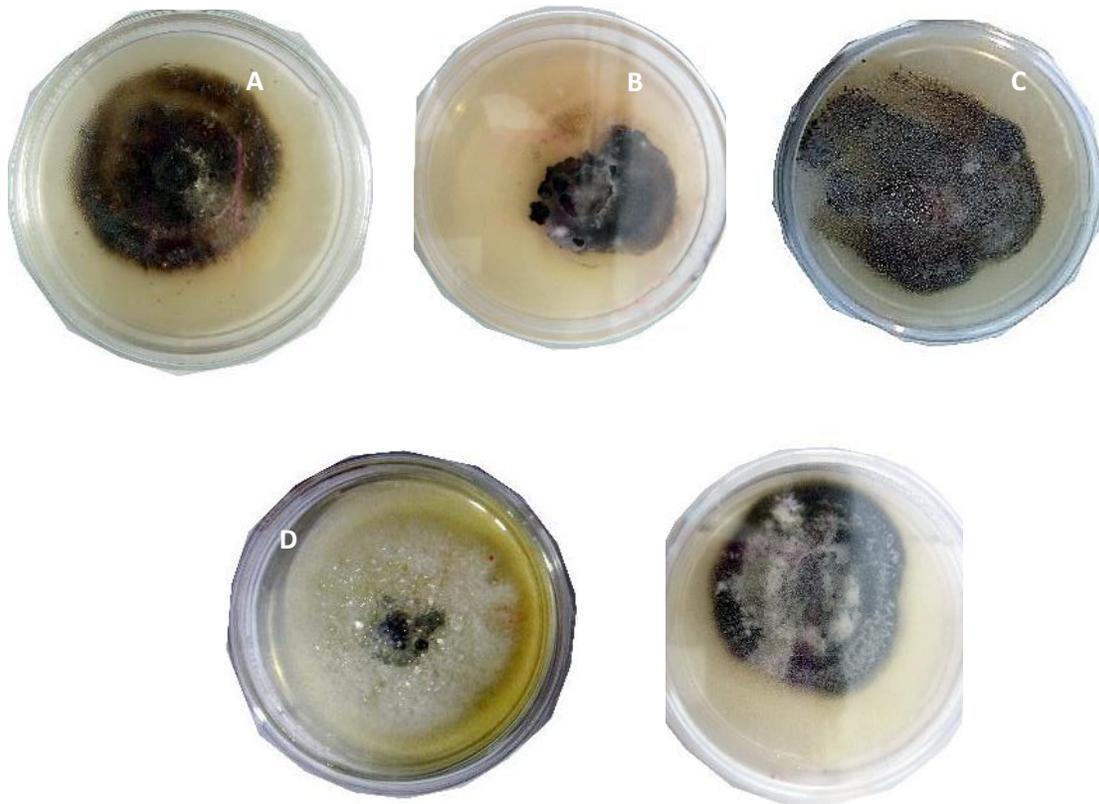
APÉNDICE



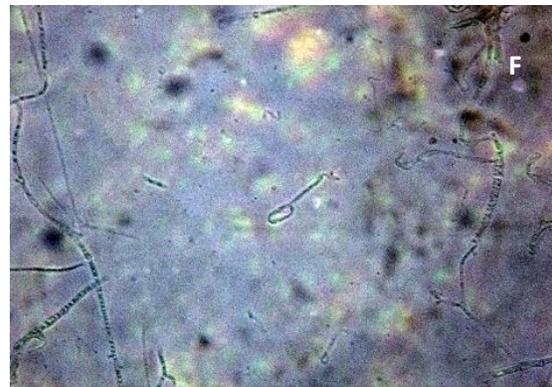
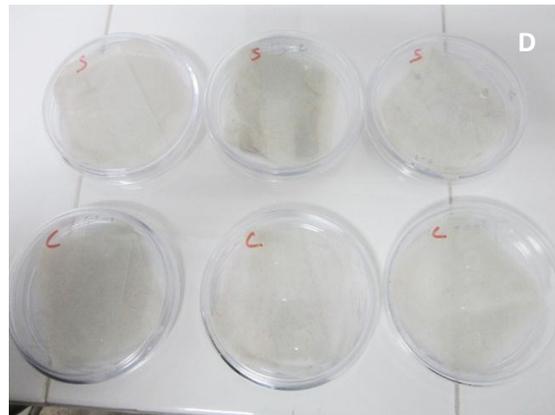
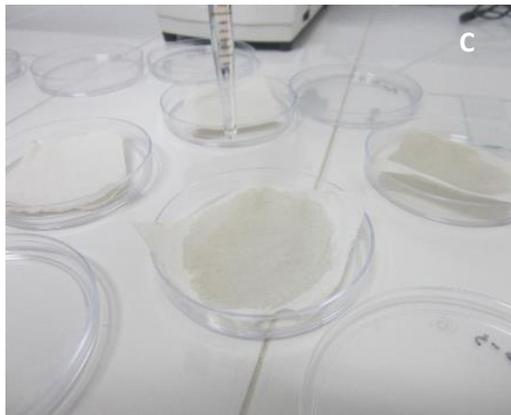
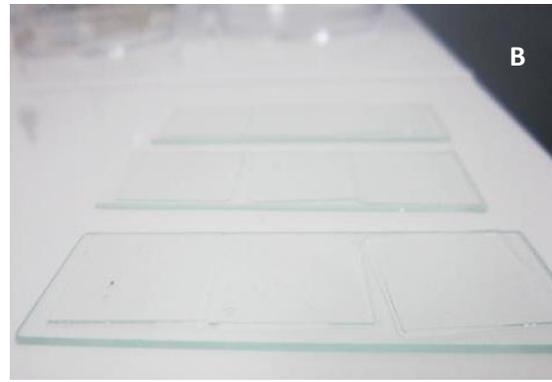
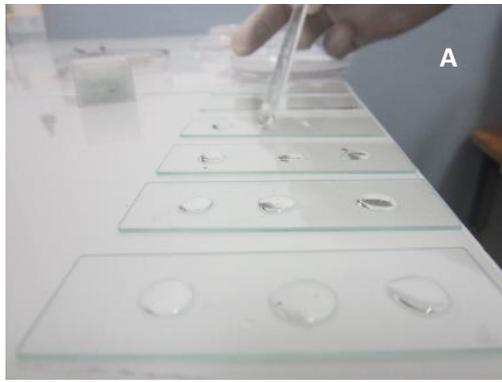
Anexo 1. Síntomas de antracnosis (*C. gloeosporioides*) inducidos por A (Técnica de hoja desprendida y B (método de hoja adherida).



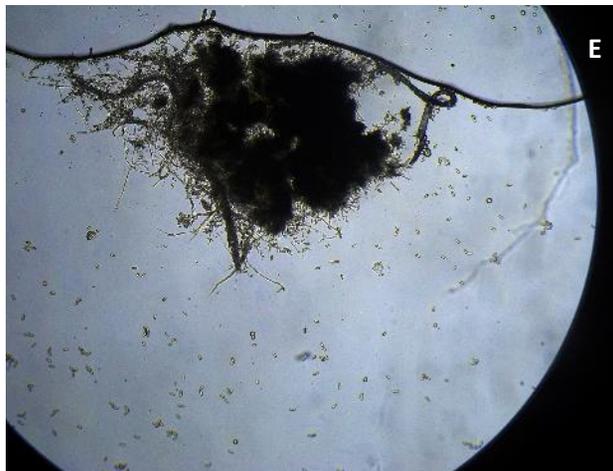
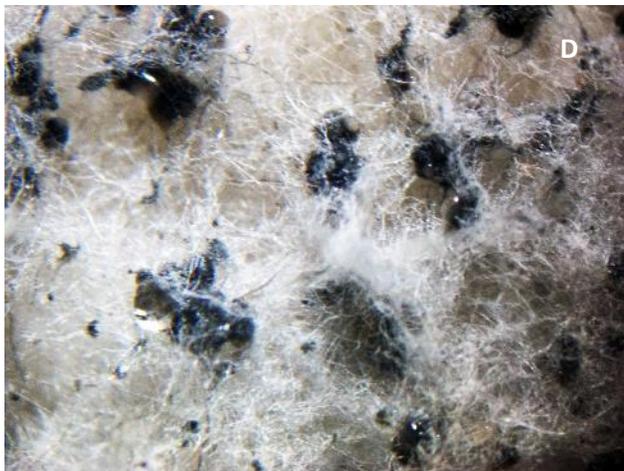
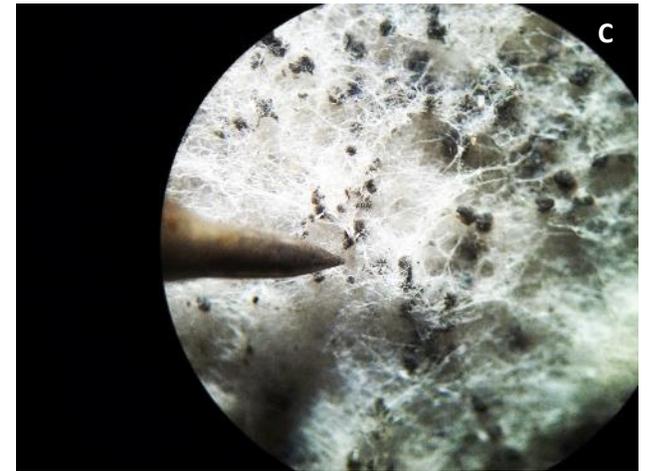
Anexo 2. Croquis del sitio en el huerto comercial de mango (*Mangifera indica*) "Las Tunas", Técpan de Galeana, Gro. cv. Manila. Ciclo productivo 2010-2011.



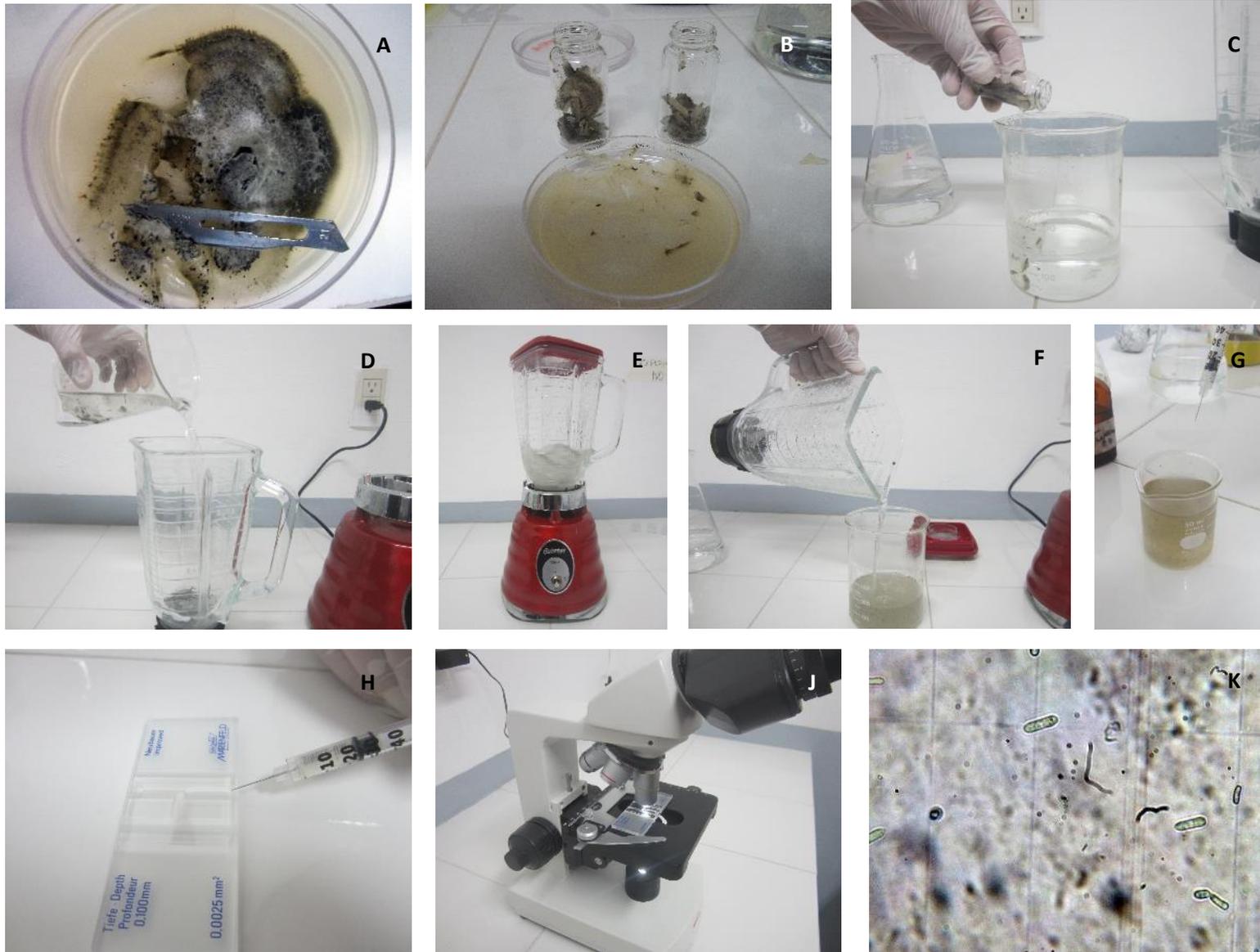
Anexo 3. Aislamientos de *C. gloeosporioides* (A=*Tux* B=*Oax*, C=*Gro*, D=*Col*, E=*Sin*) utilizados en el experimento.



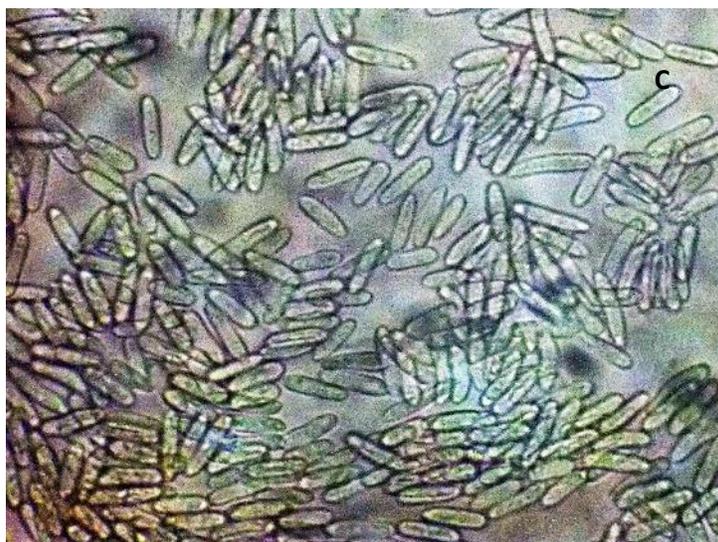
Anexo 4. A= deposición de inóculo, B= Superposición de cubre objeto, C= humedecimiento de cajas Petri con agua destilada estéril, D= Formación de cámara húmeda, E-F= conteo de germinación por microscopia de luz.



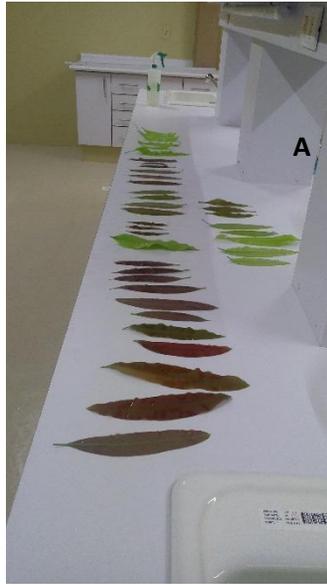
Anexo 5. Obtención de inculo: A=obtención de la cepa, B= desprendimiento de cuerpo micelial, C-D= formación de acérvulos miceliales, E= Acérvulo micelial, F= desprendimiento de conidios.



Anexo 6. Obtención de inoculo: A=obtención de la cepa, B= desprendimiento de cuerpo micelial, C= preparación de suspensión conidial, D-F desprendimiento de acérvulos y conidios, G= Suspensión conidial, H-K= conteo de conidios en Citómetro.



Anexo 7. A-C= contabilización de conidios de *Colletotrichum* sp.



Anexo 8. Técnica de inoculación de hoja desprendida, A= selección del material, B=desinfestación del material, B=establecimiento de unidades experimentales, D= deposición de inoculo experimental, E= Establecimiento de cajas húmedas .



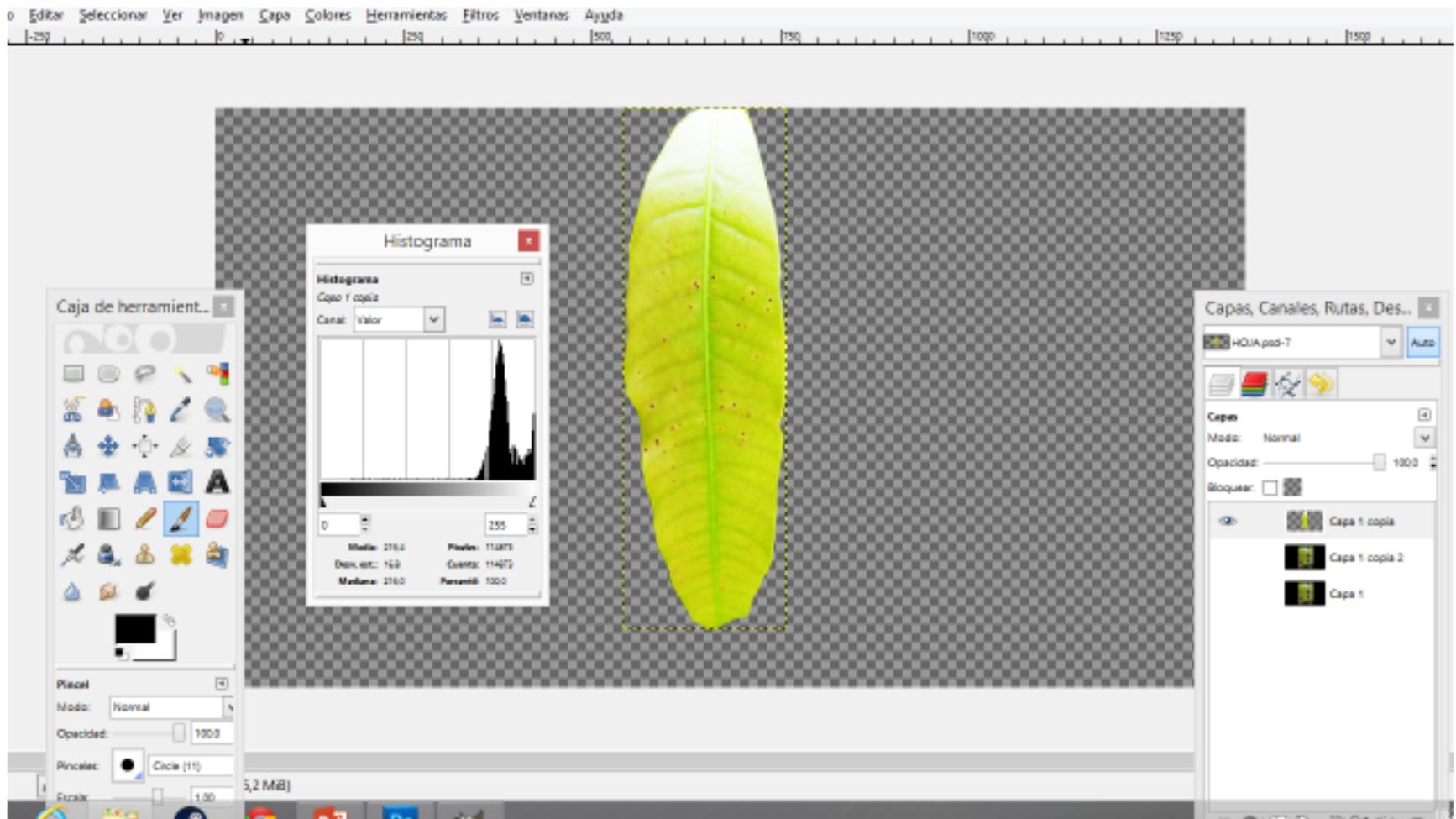
Anexo 7. Métodos de inoculación in vivo. A= pulverización manual, B= contacto con un hisopo de algodón, C= contacto directo con el micelio, D= contacto con un brocha suave (pelo de camello), E= contacto con un paño de algodón.



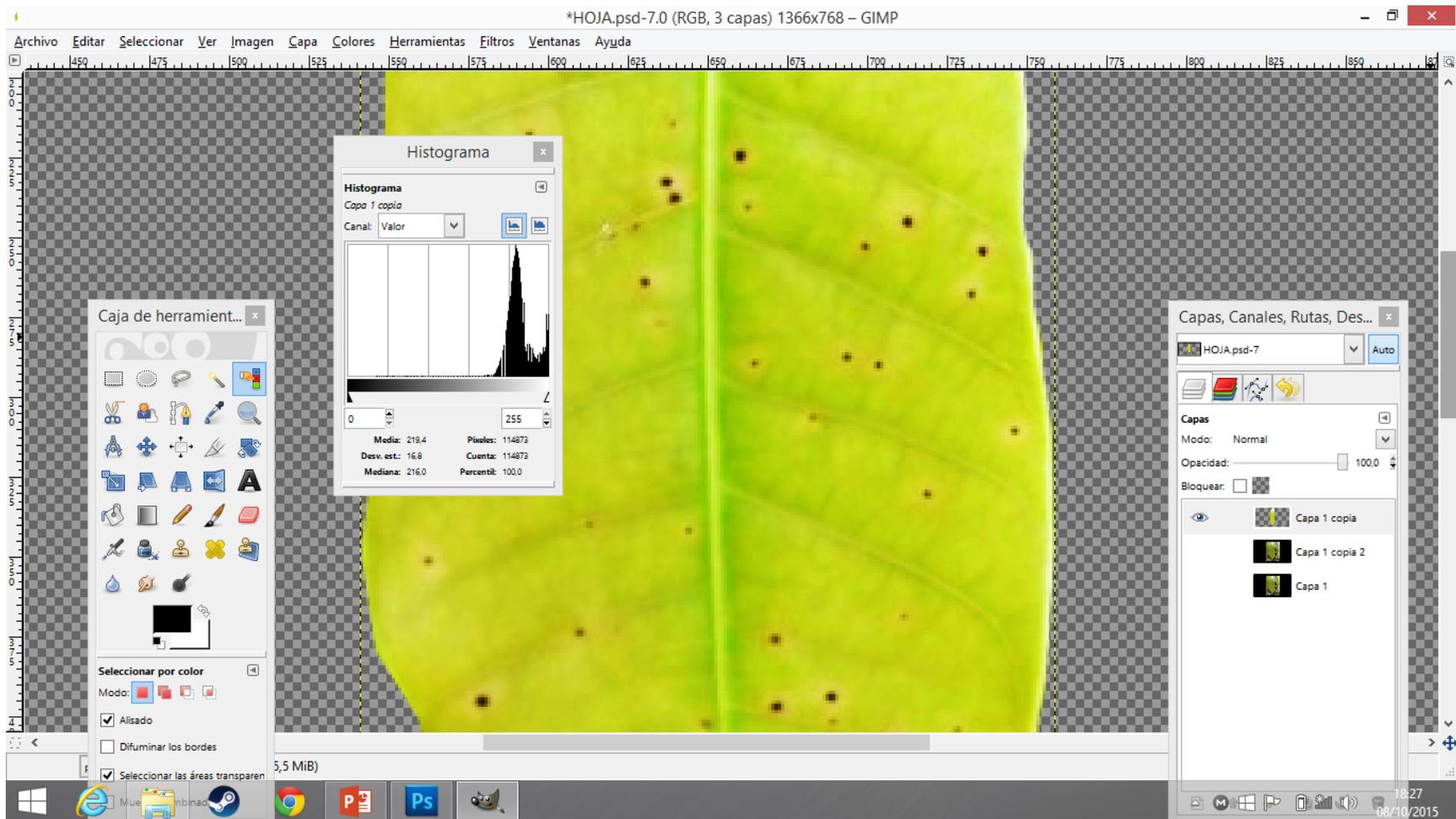
Anexo 7. Síntomas de antracnosis. A= pulverización manual, B= contacto con un hisopo de algodón, C= contacto directo con el micelio, D= contacto con un brocha suave (pelo de camello), E= contacto con un paño de algodón.



Anexo 6. Obtención de aislamientos de *Colletotrichum* sp. A= hojas con síntomas típicos de antracnosis, B-D= recorte y desinfección de material sintomático, F-H= siembra en medio de cultivo.



Anexo 7. Procesamiento de imágenes digitales de hojas con síntomas de antracnosis (*Colletotrichum sp.*) inducidos por la técnica de hoja adherida inoculadas con el aislamiento *Gro* (*Colletotrichum sp.*) suspendido en polisorbato 20 (0,1%) a densidad 1×10^5 conidios mL^{-1} en hojas de mango cv. "Ataúlfo" 20 días en condiciones de vivero utilizando el software GIMP 2.0.



Anexo 8. Cálculo de severidad de imágenes digitales de hojas con síntomas de antracnosis (*C. gloeosporioides*) inducidos por la técnica de hoja adherida inoculadas con el aislamiento *Gro* (*Colletotrichum* sp) suspendido en polisorbato 20 (0,1%) a densidad 1×10^5 conidios mL⁻¹ en hojas de mango cv. "Ataúlfo" 20 días en condiciones de vivero utilizando el software GIMP 2.0 por medio de imágenes digitales utilizando el software GIMP 2.0.