Desarrollo de *Monilinia* spp. en melocotones y nectarinas durante su conservación en frío

Maria Bernat, Rosario Torres, Neus Teixidó, Elena Costa y Josep Usall (IRTA, XaRTA-Postcollita, Parc Científic i Tecnològic Agroalimentari de Lleida. Parc de Gardeny. Lleida).

La podredumbre parda causada por *Monilinia* spp. es la enfermedad más importante de la fruta de hueso. En nuestra zona la mayoría de infecciones se producen en el campo, alrededor de la época de la recolección de los frutos, pero es durante el periodo de postcosecha cuando se desarrolla mayoritariamente la enfermedad. En el presente estudio se observó que, cuando la fruta con infecciones recientes fue conservada en cámaras de refrigeración, la enfermedad se desarrolla tanto si es conservada a 0 como 4ºC, pero que a 0ºC la severidad de la enfermedad es menor, existiendo grandes diferencias entre el ratio de crecimiento y el tiempo en aparecer los primeros síntomas de la podredumbre entre la conservación a 0 y 4ºC. *M. laxa* mostró estar mejor adaptada a las bajas temperaturas, ya que desarrolló podredumbre y micelio más rápidamente que *M. fructicola* y además fue capaz de producir esporodoquios. *M. fructicola*, en cambio, aunque desarrolló podredumbre no desarrolló micelio a 0ºC ni esporodoquios a 0 y 4ºC. Estos resultados nos indican que en una cámara de refrigeración, *M. laxa* es más agresiva y puede producir inoculaciones secundarias tanto por contacto como por liberación de conidias en el ambiente; en cambio, *M. fructicola* puede producir inoculaciones secundarias solo por contacto fruto-fruto.

INTRODUCCIÓN

La podredumbre parda causada por varias especies del genero *Monilinia* spp. es la enfermedad más común en la fruta de hueso y puede llegar a producir graves pérdidas económicas en melocotones y nectarinas. Las principales especies del patógeno que afecta a estos frutos en nuestra zona son *M. fructicola* y *M. laxa*. Aunque *M. fructicola* llegó más recientemente (De Cal y col., 2009), en los campos donde ambas especies se encuentran coexisten en la misma frecuencia (Villarino y col., 2013).

La infección de *Monilinia* spp. se atribuye al campo durante el periodo de crecimiento y tanto los frutos maduros como inmaduros pueden ser infectados, aunque la enfermedad puede permanecer asintomática hasta que las condiciones se vuelven favorables (Luo and Michailides, 2003). La temperatura y la humedad han sido considerados los factores abióticos más importantes para la germinación de las conidias (Casals y col., 2010), la infección del fruto (Biggs and Northover 1988) y el desarrollo de la infección y esporulación del hongo (Gell y col., 2008).

En general, en los campos se suele apreciar frutos con síntomas de la podredumbre parda, pero las mayores pérdidas se producen durante el periodo de postcosecha, desde que la fruta es recogida en campo y llega a la central frutícola hasta que es consumida en los hogares. En una central frutícola, el objetivo es mantener la calidad del fruto así como alargar al máximo la vida útil de estos (Brown and Considine, 1982). La fruta que llega del campo a la central puede alcanzar altas temperaturas, lo cual causa un rápido deterioro del producto y por tanto reducir la temperatura de los frutos lo más rápido posible es el primer proceso a realizar en una central frutícola (Dennis, 1984).

En el presente trabajo se estudiaron dos temperaturas de conservación (0 y 4 ºC) y se evaluó su influencia en el desarrollo de la podredumbre parda en frutos con infecciones recientes, tanto de *M. fructicola* como de *M. laxa*, así como el desarrollo del área de la podredumbre, el área de micelio y se determinó si eran capaces de producir esporodoquios (estructura reproductiva asexual del genero *Monilinia* spp.).

Metodología y resultados

Influencia de la temperatura postcosecha en inoculaciones recientes

Melocotones de la variedad 'Crimson Lady' fueron inoculados mediante una herida previa, con *M. laxa* 48, 24 y 2 horas antes de ser conservados durante 3 días a 0 y 4ºC. Las inoculaciones se realizaron en estos tres momentos para simular infecciones recientes, procedentes de campo, pero en diferentes momentos de desarrollo y los frutos se dejaron a 20ºC durante este periodo, antes de ser conservados en frío. Después de la conservación a bajas temperaturas durante 3 días, todos los frutos fueron conservados a 0ºC durante 8 días a 85% HR y 5 días a 20ºC y 85% HR, simulando periodos de vida útil de los frutos. Después de estos periodos de conservación se miró la severidad y la incidencia de la podredumbre parda.

De los resultados obtenidos cabe destacar que, una vez los frutos han sido inoculados (simulan-

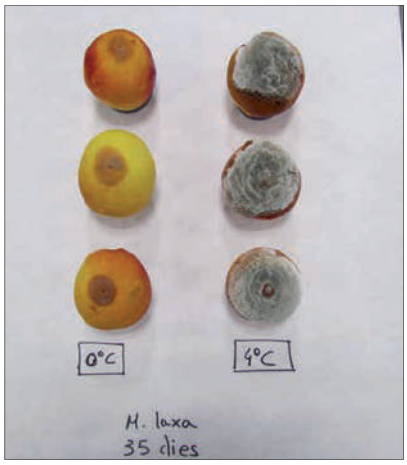

Foto 1. Diferencia entre el diámetro de podredumbre y esporulación de *M. laxa* en nectarinas conservada a 0 o 4ºC durante 35 días.

Foto 2. Diferencia entre el diámetro de podredumbre y esporulación de *M. fructicola* en nectarinas conservada a 0 o 4ºC durante 35 días.

Foto 3.Diferencia entre el diámetro de podredumbre y esporulación de *M. laxa* y *M. fructicola* conservada a 0ºC durante 35 días.

do infecciones en campo), la conservación en frío tanto a 0 como a 4ºC no redujo en ningún caso la incidencia de la enfermedad, llegando en ambas temperaturas a niveles superiores al 90%. Tampoco se observó una reducción de la severidad de la enfermedad (diámetro de la podredumbre) diferente en ambas temperaturas en infecciones producidas a las 48 y 24 horas antes de ser conservadas en frío. Sin embargo, cuando la inoculación se produjo 2 horas antes de conservarse en frío, la severidad de la enfermedad fue reducida a los 0ºC respecto a los 4ºC (Tabla 1) de 6 a 5 cm de diámetro.

Influencia de la temperatura en el desarrollo de la podredumbre y del micelio y en la producción de esporodoquios

Melocotones de la variedad 'Baby Gold 6' y nectarinas de la variedad 'Diamond Ray' fueron inoculados individualmente mediante una herida, realizada previamente, con *M. fructicola* o *M. laxa*

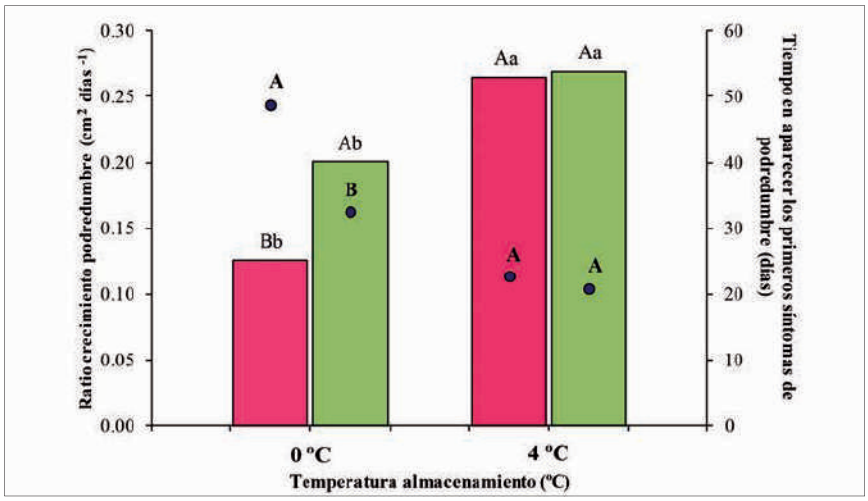

Figura 1. Ratio de crecimiento (barras) y tiempo en aparecer los primeros síntomas (puntos) de podredumbre en melocotones 'Baby Gold 6' y nectarinas 'Diamond Ray' inoculados con *M. fructicola* (■) y *M. laxa* (■) y conservados a temperatura constante de 0 y 4 ºC. Letras con la misma letra mayúscula para cada especie de *Monilinia* spp. o minúsculas para cada temperatura no son significativamente diferentes (P<0.05).

Temperatura almacenamiento	Severidad podredumbre (cm)			Incidencia podredumbre (%)		
	48h[1]	24h[1]	2h[1]	48h	24h	2h
0 ºC	7.42 a	6.74 a	5.18 b	91.4 a	95 a	95 a
4 ºC	7.65 a	7.24 a	6.22 a	94.4 a	97.5 a	100 a

[1] Inoculación antes del almacenamiento

* Cada valor representa la media de 40 frutos

Tabla 1. Incidencia y severidad de la podredumbre parda en melocotones 'Crimson Lady' inoculados con *M. laxa* 48, 24 y 2 horas antes de ser conservados durante 3 días a 0 y 4ºC. Después de 3 días de almacenamiento, los frutos fueron incubados a 0ºC durante 8 días a 85% HR y 5 días a 20ºC y 85% HR. Medias con la misma letra para cada temperatura no son estadísticamente diferentes (P<0.05).

y fueron conservados directamente a temperatura constante de 0 y 4ºC. Periódicamente, se midió en cada fruto el área de podredumbre, el área de micelio y si este micelio tenía presencia o no de esporodoquios.

Desarrollo de la podredumbre

El cálculo del ratio de desarrollo de la podredumbre y el tiempo necesario para que aparezcan los primeros síntomas en los frutos se muestran en la Figura 1.

A 4ºC no se encontraron diferencias entre ambas especies de *Monilinia* spp. respecto al desarrollo de la podredumbre y al tiempo en aparecer los primeros síntomas (alrededor de 20 días). Sin embargo, cuando la fruta se ha conservado a 0ºC se aprecian diferencias significativas entre ambas especies del patógeno. Se puede observar que *M. fructicola* tuvo un ratio de desarrollo de 0.12 cm^2 $día^{-1}$ y un tiempo alrededor de 50 días para mostrar los primeros síntomas. En cambio, *M. laxa* desarrolló más rápidamente la podredumbre con un ratio de desarrollo de 0.2 cm^2 $día^{-1}$ y con un menor tiempo de 33 días.

Si nos fijamos solamente en la temperatura de conservación, sin tener en cuenta el tipo de hongo, se observan diferencias significativas respecto al ratio de crecimiento de la podredumbre y el tiempo necesario para mostrar los primeros síntomas, siendo a 0ºC el ratio de desarrollo menor y necesitando mayores tiempos para mostrar los primeros síntomas.

Desarrollo del micelio

El cálculo del ratio de desarrollo del micelio y el tiempo necesario para que aparezcan los primeros síntomas de micelio en los frutos se muestran en la Figura 2. El desarrollo del micelio fue diferente dependiendo si *M. fructicola* y *M. laxa* fue inoculado en melocotones o nectarinas.

A 4ºC no se observaron diferencias entre los melocotones y nectarinas inoculados con *M. fructicola* o *M. laxa* y los tiempos estimados en aparecer el micelio fueron similares para todos los casos (alrededor de los 20-25 días) a excepción de *M. fructicola* inoculada en nectarina, cuyo tiempo necesario para mostrar los primeros síntomas fue mayor (30 días aproximadamente) para alcanzar el mismo ratio de desarrollo de micelio de 0.25-0.27 cm^2 $día^{-1}$.

Cuando la fruta fue conservada a 0ºC, cabe destacar que *M. fructicola* no fue capaz de producir micelio durante los 50 días que duró la conservación, a diferencia de *M. laxa*, que sí fue capaz, existiendo diferencias entre melocotones y nectarinas. En el caso de nectarinas inoculadas con *M. laxa* se observó un mayor ratio de crecimiento del micelio (0.25 cm^2 $día^{-1}$) que en melocotones inoculados con *M. laxa* (0.11 cm^2 $día^{-1}$), tardando en ambos casos alrededor de 35-38 días en aparecer los primeros síntomas.

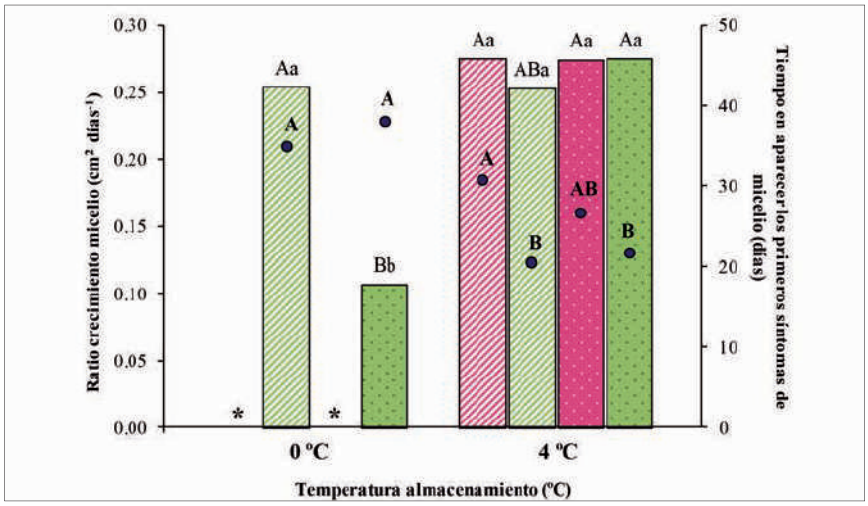

Figura 2. Ratio de crecimiento (barras) y tiempo en aparecer los primeros síntomas (puntos) de podredumbre nectarinas 'Diamond Ray' inoculados con *M. laxa* ( ) o *M. fructicola* ( ) y en melocotones 'Baby Gold 6' inoculados con *M. laxa* ( ) o *M. fructicola* ( ) o y conservados a temperatura constante de 0 y 4ºC. Letras con la misma letra mayúscula para cada especie de *Monilinia* spp. o minúsculas para cada temperatura no son significativamente diferentes (P<0.05).

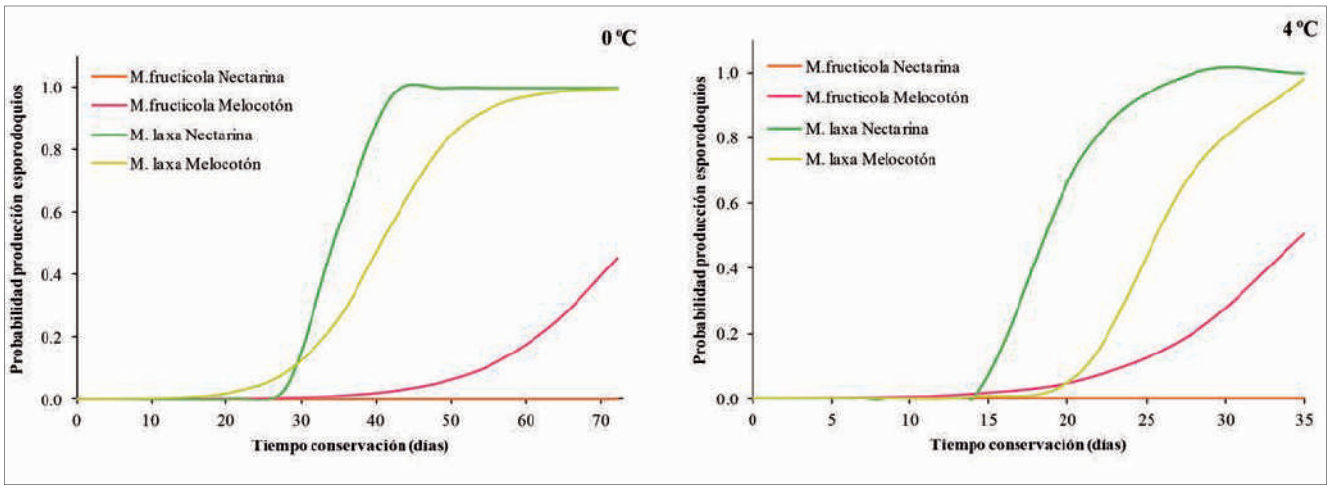

Figura 3. Probabilidad estimada de la producción de esporodoquios a lo largo del tiempo de conservación para *M. fructicola* y *M. laxa* inoculada en melocotones y nectarinas a 0 y 4ºC.

Producción de esporodoquios

La probabilidad de que los frutos con podredumbre y micelio produzcan las estructuras asexuales llamadas esporodoquios está representada en la Figura 3.

La especie *M. laxa* es capaz de producir esporodoquios a 0ºC con la máxima probabilidad, tanto en melocotones como en nectarinas, después de 50 días de conservación. En cambio, la especie *M. fructicola* no fue capaz de generar esporodoquios en nectarinas y la probabilidad de producirlos en melocotones fue baja, necesitando más de 70 días para que esta fuera de 0,4.

Cuando la fruta fue conservada a la temperatura de 4ºC, se observó una tendencia similar, pero con un tiempo mucho menor, ya que en el caso de *M. laxa* a los 30 días ya casi se observó el máximo de probabilidad tanto en nectarinas como en melocotones. En *M. fructicola* a los 35 días la probabilidad ya era del 0,4, aunque al igual que a 0ºC, tampoco se produjeron esporodoquios en las nectarinas conservadas el mismo periodo de tiempo.

Foto 4. Presencia de esporodoquios en una nectarina infectada por *M. laxa* conservada 50 días a 0ºC.

Conclusiones

Los frutos que han sido infectados recientemente en campo desarrollan la podredumbre independientemente si son conservados a 0 ó 4ºC, aunque si la infección es muy reciente (es el caso de la inoculación a las 2 horas antes de ser conservados en frío) la conservación a 0ºC puede disminuir la severidad así como retrasar la aparición de la podredumbre parda cuando es comparado con la conservación a 4ºC. Si los primeros síntomas de podredumbre tardaron alrededor de 20 días en aparecer a los 4ºC, a los 0ºC tardaron más de 30 días para los frutos con infecciones de *M. laxa* y más de 48 días para las infecciones de *M. fructicola*.

A 0ºC se observaron diferencias significativas entre ambas especies de *Monilinia* spp. *M. laxa* parece estar mejor adaptada a las bajas temperaturas que *M. fructicola*, ya que desarrolló podredumbre y micelio más rápidamente y además es capaz de producir esporodoquios. Destacar el comportamiento de *M. fructicola* a 0ºC, ya que después de 50 días de conservación no produce micelio, ni esporodoquios y por tanto no podrá producir esporas que le permitan realizar infecciones secundarias. A 4ºC, es totalmente diferente y *M. fructicola* si es capaz a de producir micelio y esporodoquios en menos de 30 días, un periodo que puede ser habitual para algunas variedades. Esto contrasta con los resultados de *M. laxa*, que fue capaz de producir micelio y esporodoquios tanto a 0ºC como a 4ºC, indicando que en la conservación en frío durante la postcosecha es más agresiva que *M. fructicola,* ya que además de poder producir infecciones secundarias por contacto directo también podría producir infecciones secundarias por la liberación de conidias procedentes de los esporodoquios dentro de una cámara frigorífica.

Agradecimientos: Los autores agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad la financiación recibida en el proyecto AGL2011-30472-C02-01 y la beca concedida BES-2012-059949. Los autores también agradecen el apoyo al programa CERCA (Generalitat de Catalunya).

BIBLIOGRAFÍA

Biggs, A.R., Northover , J., 1988. Influence of temperature and wetness duration on infection on peach and sweet cherry fruits by *Monilinia fructicola*. Phytopathology 78, 1352-1356.

Brown, K., Considine, J., 1982. Physical aspects of fruit growth: stress distribution around lenticles. Plant Physiology 69, 585-590.

Casals, C., Vinas, I., Torres, R., Griera, C., Usall, J., 2010. Effect of temperature and water activity on in vitro germination of *Monilinia* spp. Journal of Applied Microbiology 108, 47-54.

De Cal, A., Gell, I., Usall, J., Viñas, I., Melgarejo, P., 2009. First report of brown rot caused by *Monilinia fructicola* in peach orchards in Ebro Valley, Spain. Plant Disease 93, 763.

Dennis, C., 1984. Effect of storage and distribution conditions on the quality of vegetables. Acta Hort 163, 85-104.

Gell, I., De Cal, A., Torres, R., Usall, J., Melgarejo, P., 2008. Relationship between the incidence of latent infections caused by *Monilinia* spp. and the incidence of brown rot of peach fruit: factors affecting latent infection. European Journal of Plant Pathology 121, 487-498.

Luo, Y., Michailides, T.J., 2003. Threshold conditions that lead latent infection to prune fruit rot caused by *Monilinia fructicola*. Phytopathology 93, 102-111.

Villarino, M., Eguen, B., Lamarca, N., Segarra, J., Usall, J., Melgarejo, P., De Cal, A., 2013. Occurrence of *Monilinia laxa* and *M. fructigena* after introduction of *M. fructicola* in peach orchards in Spain. European Journal of Plant Pathology 137, 835-845.