



Foto 1 Podredumbre causada por *Monilinia*.

## Perfil de resistencia a fungicidas de una población de aislados de *Monilinia fructicola* en huertos comerciales de melocotón y nectarina del Valle del Ebro

Rosario Torres<sup>1</sup>,  
Inmaculada Larena<sup>2</sup>,  
María Gómez<sup>1</sup>,  
Paloma Melgarejo<sup>2</sup>,  
Neus Teixidó<sup>1</sup>,  
Antonieta De Cal<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>IRTA, Programa Postcosecha, Edificio Fruitcentre, Parc Agrobiotech Lleida.

<sup>2</sup>INIA-CSIC, Departamento de Protección Vegetal, Madrid.

\*cal@inia.csic.es

El control de la podredumbre parda en España depende fundamentalmente de la aplicación de fungicidas, para lo cual se requiere un diseño racional de uso y un buen conocimiento de la resistencia a los fungicidas en las poblaciones del patógeno en campo. En 2021 se realizó, en el Valle del Ebro, un seguimiento de la población de *Monilinia fructicola*, una de las especies causantes de la podredumbre parda en fruta de hueso. Se obtuvieron 77 aislados monospóricos, de los que se estudió su sensibilidad a cinco fungicidas: ciprodinil, fenpirazamina, fludioxonil, fluopiram y piraclostrobin. Para cada fungicida y aislado se comprobó el efecto de la dosis efectiva 50 (DE50) (concentración a la cual se inhibe el 50% del crecimiento en medio de cultivo). El 75% de la población de *M. fructicola* en el Valle del Ebro mostró ser sensible o muy sensible a todos los fungicidas, mientras que el 25% mostró tolerancia o resistencia a fluopiram, piraclostrobin, y sólo un aislado a ciprodinil. Este estudio podría ayudar a racionalizar el uso de fungicidas para el control de la podredumbre parda en fruta de hueso.



# transferencia tecnológica

| frutales |

La podredumbre parda es una de las enfermedades más importantes del melocotón en el Valle del Ebro (Foto 1), siendo los principales agentes causales *Monilinia laxa*, *M. fructicola* y *M. fructigena*, especies con riesgo medio de desarrollar resistencia a fungicidas (FRAC, 2019). Hasta el momento, en el Valle del Ebro se han descrito ciertas resistencias y/o tolerancias a metiltiofanato e iprodiona, respectivamente (Egüen y col., 2015). Además, estos aislados resistentes a fungicidas mostraron alta aptitud parasitaria en frutos y flores de melocotón y una alta competitividad con los aislados sensibles (Egüen y col., 2015). En los últimos años se han registrado en España nuevos productos con modos de acción distintos a los estudiados para el control de la podredumbre parda. Ejemplos de nuevos compuestos son ciprodinil, fenbuconazol, fenhexamida, fenpirazamina, fludioxonil, fluopiram y piraclostrobin. FRAC ha clasificado a piraclostrobin como fungicida de alto riesgo de desarrollar resistencia (Fishel y Dewdney, 2006); a fluopiram, como de alto a medio riesgo; ciprodinil e inhibidores de la demetilación (DMIs), en riesgo medio; y fenpirazamina y fludioxonil, como riesgo bajo a medio de desarrollar resistencia (Fishel y Dewdney, 2006). Se han encontrado aislados de *M. fructicola* resistentes a piraclostrobin en EE. UU. (Amiri y col., 2010) y Serbia (Hrustić y col., 2018), donde también se han encontrado aislados de *M. fructicola* resistentes a fluopiram Hrustić y col., 2018).

En el presente estudio, el objetivo principal fue caracterizar la resistencia y/o susceptibilidad de una población de *M. fructicola* aislada en 2021 en el Valle del Ebro, a cinco fungicidas utilizados actualmente contra la podredumbre parda del melocotón en España. Este estudio podría ayudar a racionalizar el uso de fungicidas en el Valle del Ebro mediante el diseño de nuevas estrategias de control de la podredumbre parda para prevenir la aparición de resistencia a los fungicidas.

## Materiales y métodos

Se obtuvieron aislados de *Monilinia fructicola* a partir de fruta de hueso (melocotón, nectarina y paraguay) con síntomas visibles de podredumbre, a lo largo de 2021. Toda la fruta se recogió tanto en el campo antes de la cosecha, como en centrales, ubicadas en tres áreas de las más importantes en la producción de fruta de hueso del Valle del Ebro: Bajo Cinca (Huesca), Bajo Segriá y Alto Segriá (Lleida).

Se utilizaron las sustancias activas técnicas de los siguientes fungicidas: ciprodinil (CGA219417G, Syngenta Crop Protection AG, Suiza), fenpirazamina (C161201G, Sumitomo Chemical, Japón), fludioxonil (CGA173506A, Syngenta Crop Protection AG, Suiza) y piraclostrobin (LS 304428), BASF SE, Alemania). Como no se pudo obtener el producto técnico de fluopiram, en los ensayos se utilizó el fungicida comercial Luna Privilege (SC500, suspensión concentrada (SC) con 50%

de fluopiram, Bayer AG, Alemania). Para cada uno de los fungicidas se determinó la DE50 (concentración a la que se observa un 50% de inhibición del crecimiento micelial) en la población de *M. fructicola*. Los ensayos se llevaron a cabo utilizando placas de Petri con tres compartimentos para probar la resistencia a los fungicidas. Cada compartimento contenía medio PDA (agar patata dextrosa) modificado con la DE50 de cada fungicida y medio PDA sin modificar, utilizado como control. Para cada fungicida y aislado, se utilizaron conidias del borde de las colonias en crecimiento de cada aislado (Foto 2) y se colocaron en placas de PDA modificadas con fungicida. Posteriormente, estas placas se incubaron durante siete días a 22 °C en la oscuridad (Foto 3). Se utilizaron cinco placas para cada concentración, fungicida y aislado. La sensibilidad de la población se clasificó en cuatro categorías significativas, según los valores de crecimiento relativo tras el análisis de varianza ANOVA:

- Altamente sensible (HS), si hubo menos del 50% de crecimiento significativo en placas de PDA modificadas con fungicida DE50.
- Sensible (S), si hubo un 50-60% de crecimiento significativo en placas de PDA modificadas con fungicida DE50.
- Tolerante (T), si hubo entre un 60 y un 80% de crecimiento significativo en placas de PDA modificadas con fungicida DE50.

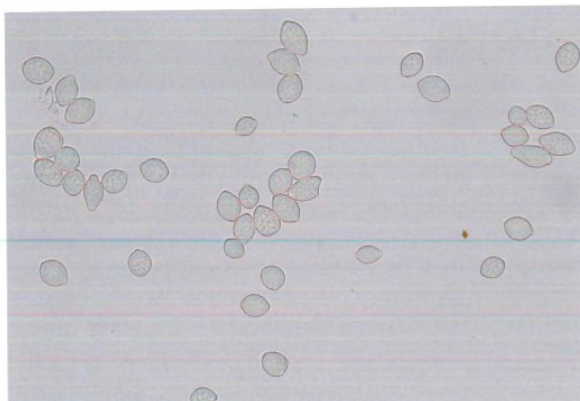


Foto 2. Conidias de *Monilinia fructicola*.

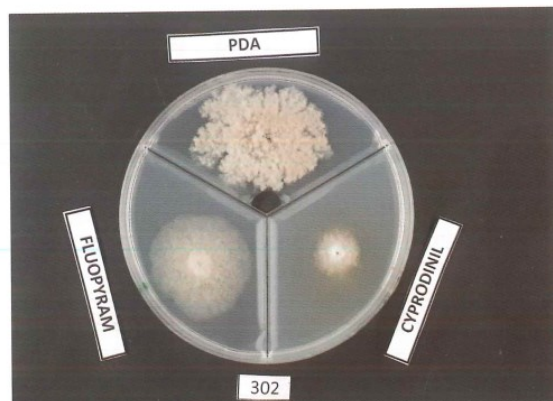


Foto 3. Sensibilidad de *M. fructicola* a DE50 de fluopiram y ciprodinil.

iv. Resistente (R), si hubo más del 80% de crecimiento significativo en placas de PDA modificadas con fungicida DE50.

## Resultados y discusión

Los setenta y siete cultivos mono-spóricos, obtenidos del total de muestras procesadas e identificadas como *M. fructicola*, se utilizaron para las pruebas de sensibilidad. Se obtuvieron 19 aislados en el Bajo Cinca (Huesca), 45 aislados en el Bajo Segriá (Lleida) y 13 aislados en el Alto Segriá (Lleida).

Se identificaron 15 fenotipos diferentes dentro de la población de *M. fructicola* según su sensibilidad a los fungicidas. El 100% de la población resultó ser altamente sensible (HS) a la DE50 de fludioxonil, mientras que el 88% era sensible (S) a la DE50 de fenpirazamina, 80% sensible a la DE50 de piraclostrobin, 78% sensible a la DE50 de Luna Privilege (fluopiram 50%) y el 64% sensible a la DE50 de ciprodinil (Figura 1).

El 18% de la población mostró tolerancia (T) a la DE50 de Luna Privilege (fluopiram 50%), mientras que el 4% resultó tolerante a la DE50 de piraclostrobin y el 1% a la a la DE50 de ciprodinil (Figura 1). Sólo el 4% de la población es resistente (R) a la DE50 de Luna Privilege (fluopiram 50%), mientras que el 1% resultó resistente a la DE50 de piraclostrobin (Figura 1). Sólo un aislado mostró doble resistencia a Luna Privilege (fluopiram 50%) y piraclostrobin, mientras que dos aislados mostraron doble tolerancia a ambos productos.

Las respuestas de HS, S y T a fenpirazamina, ciprodinil y fludioxonil

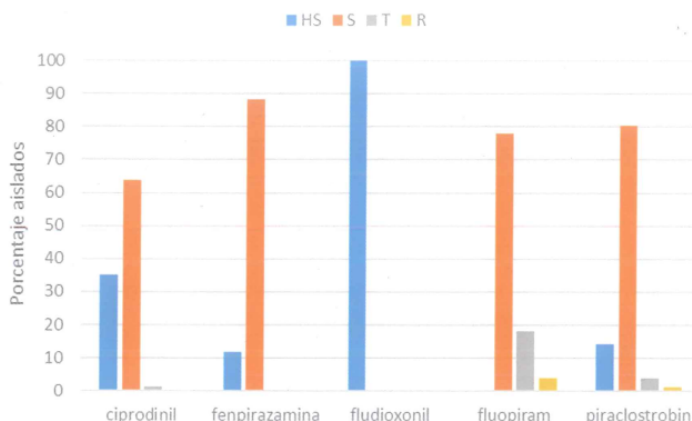


Fig. 1. Porcentajes de aislados de la población de *Monilia fructicola* en el Valle del Ebro: altamente sensible (HS), sensible (S), tolerante (T) y resistente (R) a los fungicidas.

por área de muestreo se representaron en la Figura 2.

La Figura 3 muestra la distribución y ubicación de los aislados de *M. fructicola* evaluados en este estudio y su nivel de resistencia a piraclostrobin y Luna Privilege (fluopiram 50%). Aunque la mayoría de los aislados mostraron sensibilidad a Luna Privilege (fluopiram 50%), 'Bajo Cinca' tuvo aproximadamente un 10% (dos aislados) y un 5% (un aislado) que mostraron tolerancia o resistencia, respectivamente, a este fungicida. 'Bajo Segriá' presentó el mayor porcentaje de resistencia a este fungicida, mostrando un 25% (once aislados) y un 4% (dos aislados) tolerancia o resistencia, respectivamente. Por el contrario, sólo un aislado (alrededor del 7%) mostró tolerancia a Luna Privilege (fluopiram 50%) en el Alto Segriá.

En cuanto a la respuesta a piraclostrobin, todos los aislados del Bajo Cinca mostraron respuesta de sensibilidad (casi 80%) y cinco

aislamientos tuvieron respuesta de alta sensibilidad (13%) al fungicida, mientras que dos aislados mostraron respuesta de tolerancia (5%) y sólo un aislado fue resistente (2%) a piraclostrobin en el Bajo Segriá. Sin embargo, el Alto Segriá mostró once aislados con respuesta de sensibilidad (alrededor del 84%), uno con alta sensibilidad (8%) y uno con resistencia (8%).

El desarrollo de resistencia a los SDHI en *M. fructicola* es un serio problema para los productores comerciales de melocotón (FRAC, 2022). Estudios de seguimiento de la resistencia al SDHI en oidio de cucurbitáceas en España mostraron que casi la mitad de los aislados analizados en campos comerciales tenían una sensibilidad reducida al fluopiram (Vielba-Fernandez y col., 2021). Sin embargo, no se observaron patrones de resistencia cruzada entre fluopiram y otros SDHI (Vielba-Fernandez y col., 2021). Los fungicidas que combinan piraclostrobin y boscalida se utilizan en Es-

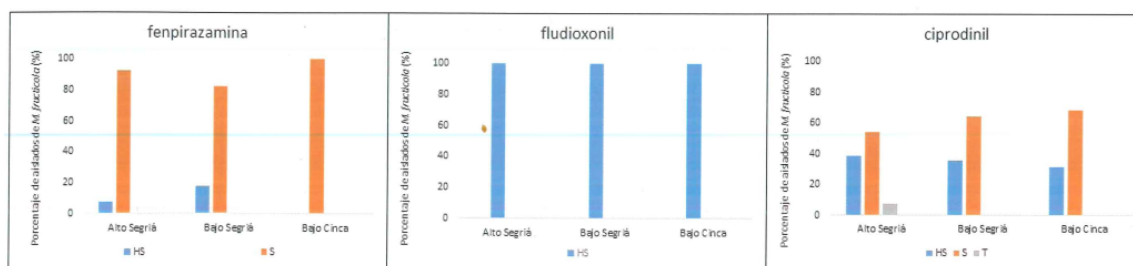


Fig. 2. Porcentaje de aislados en cada zona de muestreo (Bajo Cinca, Bajo Segriá y Alto Segriá) clasificados como altamente sensible (HS), sensible (S), y tolerante (T) para fenpirazamina, fludioxonil y ciprodinil.



# transferencia tecnológica

## | frutales |

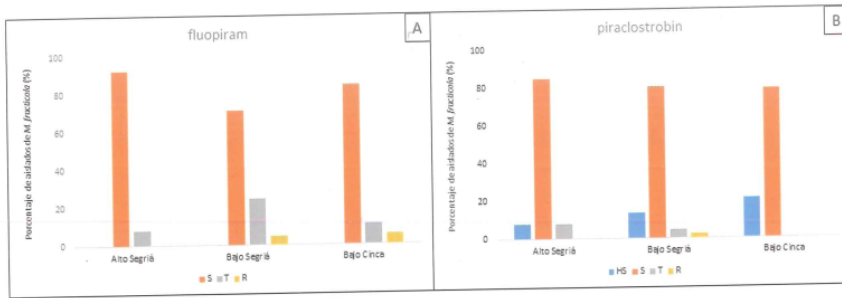


Fig. 3. Porcentaje de aislados en cada zona de muestreo (Bajo Cinca, Bajo Segriá y Alto Segriá) clasificados como altamente sensible (HS), sensible (S), tolerante (T) y resistente (R) para Luna Privilege (fluopiram 50 %) (A) y pyraclostrobin (B).

pañña contra la podredumbre parda desde 2007, al igual que en otras zonas del mundo productoras de melocotón (Leroux y col., 2010). Se considera que ambos ingredientes activos tienen un alto riesgo de desarrollar resistencia (Fernández-Ortuño y col., 2012).

Los parámetros de aptitud biológica desempeñan un papel crucial en la determinación del desarrollo y la propagación de una población de hongos patógenos resistentes a los fungicidas en el campo (Karaglanidis y col., 2011; Durak y col., 2021). En el Valle del Ebro, en estudios previos, aislados resistentes a metiltiofanato, iprodiona y ciproconazol (Egüen y col., 2015) han mostrado una alta aptitud parasitaria en

frutas y flores, y una alta competitividad, por lo que se postulaba la posibilidad de niveles de resistencia cambiasen de bajos a moderados (Egüen y col., 2015; Vega y Megan, 2014). Serán esenciales estudios adicionales para investigar: i) la inestabilidad de la sensibilidad después de sucesivas transferencias de aislados en ausencia de fungicida, y ii) las diferencias en las capacidades competitivas y la aptitud entre aislados resistentes y sensibles, entre otros, para respaldar nuevas estrategias contra la resistencia y el uso de fungicidas en beneficio de los productores de melocotón y otras frutas de hueso.

**Las estrategias efectivas de manejo de la podredumbre parda, tanto an-**

**tes como después de la cosecha, dependerán del uso de mezclas y alternancia de fungicidas con diferentes modos de acción, siempre que sean necesarias aplicaciones repetidas de fungicidas durante la temporada de crecimiento. Estas estrategias están diseñadas para prevenir o ralentizar el desarrollo de resistencia y mantener la eficacia de los fungicidas en el control de la enfermedad.** Un nuevo estudio sobre *Monilinia laxa*, la segunda especie en importancia causante de la podredumbre parda en fruta de hueso en el Valle del Ebro, se está llevando a cabo para completar la caracterización de la población del patógeno en cuanto a su sensibilidad a fungicidas en esta zona.

## Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo técnico de Yolanda Herranz y a la Dra. Pilar Plaza y Dra. Elena Costa del Servicio Técnico de Postcosecha (STP) del IRTA, por su inestimable colaboración en los muestreos. Este estudio surge de la iniciativa de FRAC España y está financiado por éste a través de AEPLA mediante dos contratos de soporte tecnológico: CON21-189 con el CSIC, State Agency for scientific research and technological development, y el segundo contrato (nº12331) con el IRTA.

## Bibliografía

- Amiri, A., Brannen, P.M., & Schnabel, G. (2010). Reduced sensitivity in *Monilinia fructicola* field isolates from South Carolina and Georgia to respiration inhibitor fungicides. *Plant Disease*, 94, 737-743. doi:10.1094/ PDIS-94-6-0737
- Egüen, B., Melgarejo, P., & De Cal, A. (2015). Sensitivity of *Monilinia fructicola* from Spanish peach orchards to thiophanate-methyl, iprodione, and cyproconazole: fitness analysis and competitiveness. *European Journal of Plant Pathology* 141, 789-801. DOI 10.1007/s10658-014-0579-2
- Fernandez-Ortuño, D., Chen, F., & Schnabel, G. (2012). Resistance to pyraclostrobin and boscalid in *Botrytis cinerea* isolates from strawberry fields in the Carolinas. *Plant Diseases* 96, 1198-1203. <http://dx.doi.org/10.1094/ PDIS-12-11-1049-RE>
- FRAC Pathogen Risk List© (2019). Fungicide Resistance Action Committee. FRAC Code List. <http://www.frac.info>. [Last accessed 16th February 2023].
- FRAC. (2022). Fungal Control Agents Sorted by Cross Resistance Pattern and Mode of Action (Including FRAC Code Numbering). <https://www.frac.info/>. [Last accessed 16th February 2023].
- Hrustić, J., Mihajlović, M., Grahovac, M., Delibašić, G., & Tanović, B. (2018). Fungicide sensitivity, growth rate, aggressiveness and frost hardiness of *Monilinia fructicola* and *Monilinia laxa* isolates. *European Journal of Plant Pathology*, 151, 389-400. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1380-9>
- Vielba-Fernandez, A., Polonio, A., Ruiz-Jiménez, L., de Vicente, A., Pérez-García, A., & Fernandez-Ortuño, D. (2021). Resistance to the SDHI fungicides boscalid and fluopyram in *Podosphaera xanthii* populations from commercial cucurbit fields in Spain. *Journal of Fungi*, 7, 733. <https://doi.org/10.3390/jof7090733>